

RESOLUÇÃO N.º 05/2023 - CONCEAVI

Aprova o Manual de Boas Práticas do Laboratório Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos e do Laboratório de Ecotoxicologia, do Departamento de Engenharia Civil, do Centro de Educação Superior do Alto Vale do Itajaí – CEAVI.

O Presidente do Conselho de Centro do Centro de Educação Superior do Alto Vale do Itajaí – CONCEAVI, no uso de suas atribuições e competências, constantes do Estatuto da UDESC, aprovado pelo Decreto n.º 4.184, de 06 de abril de 2006 e do Regimento Geral da UDESC, aprovado pela Resolução n.º 044/2007 – CONSUNI, de 01 de junho de 2007, considerando a deliberação do Plenário relativa ao Processo UDESC 00026371/2023, tomada na sessão ordinária de 28/07/2023:

RESOLVE:

Art. 1º - Aprovar o Manual de Boas Práticas do Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos e o Laboratório de Ecotoxicologia, vinculados ao Departamento de Engenharia Civil, do Centro de Educação Superior do Alto Vale do Itajaí, da Fundação Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, conforme o Anexo Único que acompanha esta Resolução;

Art. 2º - Esta Resolução entra em vigor nesta data, revogando-se as disposições em contrário;

Art. 3º - Publique-se para conhecimento.

Ibirama (SC), 07 de agosto de 2023.

Marino Luiz Eyerkauf
Presidente do CONCEAVI
UDESC Alto Vale

**Documento assinado digitalmente pelo SGP-e*



Assinaturas do documento



Código para verificação: **737VSKD2**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



MARINO LUIZ EYERKAUFER (CPF: 001.XXX.659-XX) em 07/08/2023 às 18:10:53

Emitido por: "AC SOLUTI Multipla v5", emitido em 13/04/2022 - 15:54:00 e válido até 13/04/2025 - 15:54:00.

(Assinatura ICP-Brasil)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFU0NfMTIwMjJfMDAwMjYzNzFfMjYzOTRfMjAyM183MzdWU0tEMg==> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **UDESC 00026371/2023** e o código **737VSKD2** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
UDESC / IBIRAMA
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO ALTO VALE DO ITAJAÍ – CEAVI
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL**

**MANUAL DE BOAS PRÁTICAS DE SEGURANÇA E MANUAL
OPERACIONAL DO LABORATÓRIO DE TRATAMENTO
BIOLÓGICO DE RESÍDUOS E DO LABORATÓRIO DE
ECOTOXICOLOGIA**

**Coordenadora: Profa. Dra. Priscila Natasha Kinas
E-mail de contato: lab.tbr.ceavi@udesc.br**

**MANUAL DE BOAS PRÁTICAS DE SEGURANÇA E MANUAL
OPERACIONAL DO LABORATÓRIO DE TRATAMENTO
BIOLÓGICO DE RESÍDUOS E DO LABORATÓRIO DE
ECOTOXICOLOGIA**

APRESENTAÇÃO

O Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos e o Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade do Estado de Santa Catarina – Centro de Educação Superior do Alto Vale do Itajaí (Udesc – CEAVI) tem por missão proporcionar para usuários de diversas áreas do conhecimento uma infraestrutura em técnicas analíticas de tratamento biológico de resíduos. Com o objetivo de viabilizar, aprimorar e promover pesquisas científicas e tecnológicas.

Para gerar resultados confiáveis e reproduutíveis, é necessária a padronização das atividades realizadas do laboratório. Assim, aplica-se o programa de Boas Práticas de Laboratório (BPL), onde possui um sistema de qualidade composto por um conjunto de critérios que diz respeito à organização e às condições sob as quais os estudos em laboratório podem ser planejados, realizados, monitorados, registrados, relatados e arquivados. Esse programa tem como objetivo promover a qualidade e a validação dos resultados laboratoriais, incluindo a elaboração de procedimentos que descrevem as atividades.

O Manual de Boas Práticas Laboratoriais comprehende as informações sobre conduta pessoal dentro do laboratório, manipulação e descarte de reagentes e amostras, identificação e armazenagem adequada de reagentes, registros de resultados, procedimento para uso e limpeza dos equipamentos do laboratório e o Procedimento Operacional Padrão (POP) onde estão descritas as execuções técnicas laboratoriais.

O objetivo deste presente manual é estabelecer as normas de Boas Práticas Laboratoriais para assegurar que os envolvidos nas análises possam conhecer e entender, para então possibilitar a proteção contra riscos accidentais e para também garantir a obtenção de resultados corretos e confiáveis, evitando erros, retrabalhos e com isso, garantir a segurança dos usuários e a qualidade das informações obtidas. Portanto este manual está dividido em três partes sendo CAP I – Regimento do Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos e Laboratório de Ecotoxicologia , CAP II - Procedimentos operacionais que garantem as condicionantes deste regimento ou seja procedimentos operacionais vinculados as atividades desenvolvidas no Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos e Laboratório de Ecotoxicologia e CAP III – Anexos contemplando informações sobre equipamentos, formulários necessários para execução dos procedimentos descritos.

Sumário

CAPÍTULO I REGIME DO LABORATÓRIO

1. ESCOPO GERAL	17
1.1. CAPÍTULO 1 – DA NATUREZA	17
1.2. CAPÍTULO II – DA ESTRUTURA.....	17
1.3. CAPÍTULO III – DOS OBJETIVO.....	18
1.4. CAPÍTULO IV – DOS USUÁRIOS E SUAS COMPETÊNCIAS	18
1.5. CAPÍTULO V – DA ORGANIZAÇÃO E FUNCIONAMENTO	22
1.6. CAPÍTULO VI - DA SEGURANÇA.....	24
1.7. CAPÍTULO VIII - PENALIDADES	25

CAPÍTULO II - NORMAS E PROCEDIMENTOS

2. NORMAS DE SEGURANÇA	27
2.1. PRINCÍPIO	27
2.2. PRINCIPAIS NORMAS DE SEGURANÇA EM LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS.....	27
3. MAPA DE RISCO	29
4. LIMPEZA DO LABORATÓRIO	30
4.1. PRINCÍPIO	30
4.2. MATERIAIS.....	30
4.3. PROCEDIMENTO	30
4.3.1. Bancada	30
4.3.2. Piso	30
4.3.3. Usuários do laboratório	30
4.3.4. Lâmpadas	30
4.3.5. Limpeza de vidrarias e materiais utilizados.....	31
5. USO E LIMPEZA DA AUTOCLAVE VERTICAL CS	31
5.1. OBJETIVO	31

5.2.	MATERIAIS	31
5.3.	PROCEDIMENTO	31
5.3.1.	Utilização da autoclave.....	31
5.3.2.	Controle da temperatura	32
5.3.3.	Limpeza	33
6.	USO E LIMPEZA DA CAPELA DE FLUXO LAMINAR	34
6.1.	OBJETIVO	34
6.2.	MATERIAIS	34
6.3.	PROCEDIMENTO	34
6.3.1.	Utilização da capela de fluxo laminar.....	34
6.3.2.	Limpeza	34
7.	USO E LIMPEZA DAS BALANÇAS ELETRÔNICAS	35
7.1.	OBJETIVO	35
7.2.	MATERIAIS	35
7.3.	PROCEDIMENTO	35
7.3.1.	Descrição dos componentes.....	35
7.3.2.	Instalação das balanças	35
7.3.3.	Utilização das balanças	36
7.3.4.	Limpeza	36
8.	USO E LIMPEZA DAS GELADEIRAS	37
8.1.	OBJETIVO	37
8.2.	MATERIAIS	37
8.3.	PROCEDIMENTO	37
8.3.1.	Finalidades	37
8.3.2.	Utilização das geladeiras	37
8.3.3.	Limpeza	37
9.	USO E LIMPEZA DO AGITADOR DE TUBOS	38

9.1.	OBJETIVO	38
9.2.	MATERIAIS.....	38
9.3.	PROCEDIMENTOS	38
9.3.1.	Utilização do agitador de tubos	38
9.3.2.	Limpeza	38
10.	USO E LIMPEZA DO CONTADOR DE COLÔNIAS	38
10.1.	OBJETIVO.....	38
10.2.	MATERIAIS	38
10.3.	PROCEDIMENTO.....	39
10.3.1.	Utilização do contador de colônias	39
10.3.2.	Limpeza.....	39
11.	USO E LIMPEZA DO BANHO MARIA	39
11.1.	OBJETIVO.....	39
11.2.	MATERIAIS	39
11.3.	PROCEDIMENTO.....	39
11.3.1.	Descrição dos componentes	39
11.3.2.	Características.....	40
11.3.3.	Utilização do banho maria	40
11.3.4.	Controle de temperatura	40
11.3.5.	Limpeza.....	40
12.	USO E LIMPEZA DAS ESTUFAS BACTERIOLÓGICAS.....	41
12.1.	OBJETIVO.....	41
12.2.	MATERIAIS	41
12.3.	PROCEDIMENTO.....	41
12.3.1.	Descrição dos componentes	41
12.3.2.	Utilização das estufas bacteriológicas	41
12.3.3.	Acondicionamento do material analítico	42

12.3.4.	Limpeza.....	42
13.	USO E LIMPEZA DAS ESTUFAS DE ESTERILIZAÇÃO E SECAGEM	42
13.1.	OBJETIVO.....	42
13.2.	MATERIAIS	42
13.3.	PROCEDIMENTO.....	43
13.3.1.	Descrição dos componentes	43
13.3.2.	Utilização das estufas de esterilização e secagem.....	43
13.3.3.	Preparação do material esterilizado	43
13.3.4.	Controle de temperatura.....	44
13.3.5.	Limpeza.....	44
14.	USO E LIMPEZA DA INCUBADORA PARA BOLORES E LEVEDURAS	44
14.1.	OBJETIVO.....	44
14.2.	MATERIAIS	44
14.3.	PROCEDIMENTO.....	44
14.3.1.	Utilização da incubadora para bolores e leveduras	44
14.3.2.	Limpeza.....	45
15.	USO E LIMPEZA DA INCUBADORA BOD	45
15.1.	OBJETIVO.....	45
15.2.	MATERIAIS	45
15.3.	PROCEDIMENTO.....	46
15.3.1.	Descrição dos Componentes.....	46
15.3.2.	Utilização da incubadora BOD	46
15.3.3.	Limpeza.....	47
16.	USO E LIMPEZA DO FORNO MUFLA	47
16.1.	OBJETIVO.....	47
16.2.	PROCEDIMENTO.....	47
16.2.1.	Instruções iniciais.....	47

16.2.2.	Utilização do forno mufla.....	48
16.2.3.	Limpeza.....	48
17.	USO E LIMPEZA DOS MICROSCÓPIOS.....	48
17.1.	OBJETIVO.....	48
17.2.	MATERIAIS	48
17.3.	PROCEDIMENTOS	49
17.3.1.	Descrição dos componentes	49
17.3.2.	Instruções iniciais.....	49
17.3.3.	Utilização dos microscópios	50
17.3.4.	Limpeza.....	51
18.	DESCARTE DE MATERIAL DE AMOSTRAS.....	51
18.1.	OBJETIVO.....	51
18.2.	MATERIAIS	51
18.3.	PROCEDIMENTO.....	51
18.3.1.	Descarte de amostras	51
18.3.2.	Descarte de materiais não reutilizáveis.....	52
18.3.3.	Descarte de materiais tóxicos e perfuro – cortantes	52
18.3.4.	Descarte de vidrarias danificadas	52
19.	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA AMOSTRAGEM DE RESÍDUOS.....	52
19.1.	OBJETIVO.....	52
19.2.	REQUISITOS GERAIS	52
19.2.1.	Preparação para amostragem.....	52
19.2.2.	Objetivo da amostragem	52
19.2.3.	Pré-caracterização de um resíduo	53
19.2.4.	Plano de amostragem.....	53
19.2.5.	Seleção do amostrador.....	53

19.2.6.	Seleção do recipiente da amostra	54
19.2.7.	Precauções na utilização de recipientes e amostradores	54
19.2.8.	Ponto de amostragem	54
19.2.9.	Número de amostras	54
19.2.10.	Volume de amostra	54
19.2.11.	Identificação e ficha de coleta	55
19.3.	REQUISITOS ESPECÍFICOS	55
19.3.1.	Segurança	55
19.3.2.	Procedimentos de amostragem	56
19.3.3.	Amostragem em tambpres e recipientes similares.....	56
19.3.4.	Amostragem em caminhão-tanque.....	57
19.3.5.	Amostragem em recipiente contendo pó ou resídups granulados	58
19.3.6.	Amostragem em lagoas de resíduos	58
19.3.7.	Amostragem em leitos de secagem, lagoas secas e solos contaminados ...	58
19.3.8.	Amostragem em montes ou pilhas de resíduos	59
19.3.9.	Amostragem em tanques ou contêineres de armazenagem.....	59
19.3.10.	Amostragem de resíduos sólidos heterogêneos	59
19.3.11.	Preservação e tempo de armazenagem de amostras.....	59
19.4.	ANEXO A	60
19.5.	ANEXO B	64
19.5.1.	Amostrador de resíduo líquido	64
19.5.2.	Amostrador de grãos	65
19.5.3.	Amostrador de montes e pilhas – “trier”	66
19.5.4.	Pá	67
19.5.5.	Trado.....	68
19.5.6.	Caneca com braço extensor	69
19.5.7.	Garrafa amostradora pesada.....	69

19.5.8. Garrafa amostradora de profundidades “van dorn”	70
20. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA, PRESERVAÇÃO E PREPARO DE AMOSTRAS A SEREM UTILIZADAS EM ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS	71
20.1. OBJETIVO.....	71
20.2. COLETA E PRESERVAÇÃO.....	72
20.2.1. Generalidades.....	72
20.2.2. Recipiente, modo de preservação e prazo de validade, de acordo com a amostra.....	73
20.2.3. Limpeza do material	74
20.3. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS DE COLETA	75
20.3.1. Águas.....	75
20.3.2. Efluentes	75
20.3.3. Sedimentos.....	76
20.3.4. Solos.....	76
20.3.5. Resíduos sólidos.....	77
20.3.6. Fluídios de perfuração	77
20.3.7. Óleos e derivados	77
20.4. PREPARO DE AMOSTRAS.....	77
20.4.1. Condições específicas	78
20.4.2. Produtos e substâncias químicas	81
20.4.3. Resumo do preparo de amostras	85
20.5. REFERÊNCIAS	85
21. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA DESENVOLVIMENTO, ANÁLISE CRÍTICA, ACEITAÇÃO, APLICAÇÃO E REVISÃO DOS PLANOS DE QUALIDADE.....	85
21.1. OBJETIVO.....	85
21.2. DESENVOLVIMENTO DE UM PLANO DA QUALIDADE	85

21.2.1.	Identificação da necessidade de um plano da qualidade.....	85
21.2.2.	Dados de entrada do plano da qualidade.....	86
21.2.3.	Escopo do plano da qualidade	87
21.2.4.	Preparação do plano da qualidade.....	87
21.3.	CONTEÚDO DO PLANO DA QUALIDADE	89
21.3.1.	Escopo	89
21.3.2.	Dados de entrada do plano da qualidade.....	89
21.3.3.	Objetivo da qualidade	89
21.3.4.	Responsabilidades da direção	90
21.3.5.	Controle de documentos e dados	90
21.3.6.	Controle de registros	91
21.3.7.	Recursos	91
21.3.8.	Requisitos.....	92
21.3.9.	Comunicação com o cliente	93
21.3.10.	Projeto e desenvolvimento.....	93
21.3.11.	Compras.....	94
21.3.12.	Realização de produtos e serviços	94
21.3.13.	Identificação e rastreabilidade	95
21.3.14.	Procedimento do cliente	96
21.3.15.	Preservação do produto.....	96
21.4.	ANÁLISE CRÍTICA, ACEITAÇÃO, IMPLEMENTAÇÃO E REVISÃO DO PLANO DA QUALIDADE.....	96
21.4.1.	Análise crítica e aceitação do plano da qualidade	96
21.4.2.	Implementação do plano da qualidade	97
21.4.3.	Revisão do plano da qualidade	98
21.4.4.	Realimentação e melhoria	98
22.	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA OBTENÇÃO DE ESTRARO SOLUBILIZADO DE RESÍDUOS SÓLIDOS	99

22.1.	OBJETIVO.....	99
22.2.	APARELHAGEM.....	99
22.3.	REAGENTE E MATERIAIS.....	99
22.4.	DESCRICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS.....	99
22.5.	INTERPRETAÇÃO DOS DADOS	100
22.6.	REFERÊNCIAS	101
23.	PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA ENSAIO COM DAPHNIA SPP (CRUSTACEA, CLADOCERA).....	101
23.1.	OBJETIVO.....	101
23.2.	APARELHAGEM.....	101
23.3.	DESCRICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS (CONFORME ABNT NBR 7215:2019).....	102
23.3.1.	Solução – teste	102
23.3.2.	Ensaio preliminar	103
23.3.3.	Ensaio definitivo.....	103
23.3.4.	Validação do ensaio	105
23.4.	EXPRESSÃO DOS RESULTADOS	105
23.4.1.	Análise dos dados	105
23.4.2.	Determinação da ce50.....	105
23.4.3.	Determinação do fator de toxicidade (ft)	105
23.4.4.	Determinação qualitativa	106
23.5.	ELABORAÇÃO DO RELATÓRIO FINAL DO ENSAIO.....	106
23.6.	REFERÊNCIAS	106
23.7.	ANEXOS.....	107
23.7.1.	Descrição da espécie.....	107
23.7.2.	Reagentes	107
23.7.3.	Água de cultivo e de diluição	109
23.7.4.	Condições de cultivo dos organismos	111

23.7.5.	Alimentação dos organismos.....	112
23.7.6.	Descrição da espécie.....	115
23.7.7.	Reagentes	116
23.7.8.	Água de cultivo e de diluição	117
23.7.9.	Preparo da água de cultivo	118
23.7.10.	Preparo da água de diluição	119
23.7.11.	Condições de cultivo dos organismos	119
23.7.12.	Alimentação dos organismos.....	120
24.	ANEXO DE PREPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA ..	122
24.1.	OBJETIVO.....	122
24.2.	PREPARAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA	122
24.3.	CONTROLE DE QUALIDADE, ESTERILIDADE E CRESCIMENTO.....	123
24.4.	RECOMENDAÇÕES GERAIS	123
25.	ANEXO PARA PREPARO DA SUSPENSÃO INICIAL E DILUIÇÕES DECIMAS DE AMOSTRAS	124
25.1.	OBJETIVO.....	124
25.2.	MATERIAIS	124
25.3.	PROCEDIMENTO.....	124
26.	ANEXO PARA CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM PRODUTOS COM ATIVIDADE DE ÁGUA MENOR OU IGUAL A 0,95	125
26.1.	OBJETIVO.....	125
26.2.	DOCUMENTOS COMPLEMENTARES	125
26.3.	EQUIPAMENTOS	125
26.4.	REAGENTES E MATERIAIS	125
26.5.	PROCEDIMENTO.....	126
26.5.1.	Conceitos	126
26.5.2.	Pesagem e preparo de amostras	126
26.5.3.	Inoculação em placas	126

26.5.4.	Incubação.....	127
26.5.5.	Contagem de Colônias	127
26.5.6.	Expressão dos resultados.....	127
27.	ANEXO PARA CONTAGEM TOTAL DE MICROORGANISMOS EM ÁGUA UTILIZANDO O MEIO ÁGAR NUTRIENTE.....	127
27.1.	OBJETIVO.....	127
27.2.	DOCUMENTOS COMPLEMENTARES	127
27.3.	EQUIPAMENTOS.....	127
27.4.	REAGENTES E MATERIAIS	128
27.5.	PROCEDIMENTO.....	128
27.5.1.	Pesagem e preparo de amostra	128
27.5.2.	Inoculação em placas	128
27.5.3.	Incubação.....	128
27.5.4.	Contagem das colônias	128
27.5.5.	Expressão dos resultados.....	128
28.	ANEXO PARA PESAGEM DE AMOSTRA.....	129
28.1.	OBJETIVO.....	129
28.2.	MATERIAIS	129
28.3.	PROCEDIMENTO.....	129
29.	ANEXO PARA LAVAGEM, PREPARO E ESTERILIZAÇÃO DE MATERIAIS PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	129
29.1.	OBJETIVO.....	129
29.2.	MATERIAIS	130
29.3.	PROCEDIMENTO.....	130
29.3.1.	Preparo de provetas, frascos de erlenmeyer, frascos shott e báqueres..	130
29.3.2.	Placas de petri descartáveis usadas	131
29.3.3.	Preparo de pipetas	131
29.3.4.	Preparo de tubos de durham	132

29.3.5.	Preparo de tubos de ensaio	132
29.3.6.	Preparo das pinças	133
29.3.7.	Preparo de bastões tipo hóquei.....	133
29.3.8.	Ponteiras descartáveis usadas.....	134
30.	ANEXO PARA CARACTERIZAÇÃO GRAVIMÉTRICA DE RESÍDUOS SÓLIDOS	134
30.1.	PRINCÍPIO	134
30.2.	MATERIAIS	134
30.3.	PROCEDIMENTO.....	135
30.4.	ANEXOS.....	136

CAPÍTULO III - FORMULÁRIOS E DESCRIÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

31.	FORMULÁRIO DE SOLICITAÇÃO PARA USO DO LABORATÓRIO	143
32.	DESCRIÇÃO DOS EQUIPAMENTOS	145
32.1.	AGITADOR.....	145
32.2.	AGITADOR MAGNÉTICO	145
32.3.	DETECTOR DE 4 GASES	146
32.4.	AUTOCLAVE VERTICAL CS	146
32.5.	BALANÇA.....	147
32.6.	BANHO MARIA	148
32.7.	BARRILETE.....	148
32.8.	MICROSCÓPIO	149
32.9.	CHAPA AQUECEDORA.....	150
32.10.	CHUVEIRO COM LAVA OLHO	150
32.11.	CONDUTIVIMETRO.....	151
32.12.	CONTADOR DE COLÔNIA	151
32.13.	DECIBELÍMETRO – MEDIDOR DE NÍVEL DE RUÍDO.....	152

32.14. DEIONIZADOR	152
32.15. PARAFUSADEIRA ELÉTRICA EMPUNHÁVEL	153
32.16. REFRIGERADOR	153
32.17. SELADORA.....	154
32.18. SONDA MULTIPARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA.....	154
32.19. DOSÍMETRO DIGITAL	155
32.20. FORNO MUFLA	155
32.21. GARRAFA DE VAN DON	156
32.22. INCUBADORA	156
32.23. LIQUIDIFICADOR TIPO INDUSTRIAL	157

CAPÍTULO I

REGIMENTO DO

LABORATÓRIO

1. ESCOPO GERAL

1.1. CAPÍTULO 1 – DA NATUREZA

Art. 1º. O LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLOGICO DE RESÍDUOS está administrativamente subordinada ao Departamento de Engenharia Civil do Centro de Educação Superior do Alto vale do Itajaí-CEAVI, caracterizando-se como espaço com infraestrutura adequada para o desenvolvimento de atividades de ensino, pesquisa e extensão pela comunidade acadêmica deste Centro.

Art. 2º. Podendo ser utilizado por toda comunidade acadêmica e docente desta instituição desde que previamente aprovada pelo seu coordenador.

1.2. CAPÍTULO II – DA ESTRUTURA

Art. 3º. Será considerado, o espaço físico O LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLOGICO DE RESÍDUOS Casa do Bosque, (sala 24), pertencentes a UDESC/CEAVI/CAMPUS ALTO VALE, para desenvolvimento das atividades práticas laboratoriais acadêmicas, pesquisa e extensão relacionadas ao curso de graduação (Engenharia Civil) ofertados neste Centro.

§ 1º. São utilizados como O LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA.

Art. 4º. O LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLOGICO DE RESÍDUOS destinado ao Ensino, Pesquisa e Extensão do Centro de Educação Superior do Alto Vale do Itajaí-CEAVI são compostos por:

I - Materiais de consumo e reagentes armazenados no laboratório e no depósito de produtos químicos; e/ou;

II - Materiais permanentes relacionados no controle patrimonial da UDESC/CEAVI:

- a) Mobiliário,
- b) Equipamentos, e/ou;
- c) Instrumentos.

1.3. CAPÍTULO III – DOS OBJETIVO

Art. 5º. Constituem-se objetivo do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA. CEAVI:

- I. Proporcionar, prioritariamente, a realização de atividades experimentais para o desenvolvimento das disciplinas de graduação ofertadas neste Centro;
- II. Apoiar o desenvolvimento de projetos de pesquisa e de extensão ligados aos cursos de graduação do CEAVI em conformidade com as atividades e atribuições do laboratório, atendidos os encaminhamentos previstos neste Manual de Boas Práticas;
- III. Não será permitida a utilização do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA para atividades de consultoria e prestação de serviços pessoais e empresariais, salvo em projetos de Cooperação Técnica aprovados no Departamento de Engenharia Civil e que resultem em melhorias ou aquisição de materiais e equipamentos para o LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA.

1.4. CAPÍTULO IV – DOS USUÁRIOS E SUAS COMPETÊNCIAS

Art. 6º. Define-se como usuário, todo e qualquer indivíduo que fará uso das instalações dos laboratórios, com a finalidade de desenvolver atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão em conformidade com as atribuições do laboratório.

Art. 7º. São potenciais usuários do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA a atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão do CEAVI:

- I - Servidores Técnicos Especializados, lotados no Núcleo de Apoio Técnico Específico do CEAVI;
- II - Servidores Docentes dos cursos de Engenharia Civil, lotados no CEAVI;
- III - Estudantes de graduação e pós-graduação, regularmente matriculados nos cursos de engenharia Civil do CEAVI.

Parágrafo Único: Os discentes poderão fazer uso do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA CEAVI no desenvolvimento de atividades curriculares e extracurriculares de ensino, pesquisa e extensão, acompanhado pelo docente orientador ou devidamente autorizado por este, por meio de formulário próprio (anexo 31) encaminhado ao Coordenador do LABORATÓRIO DE

TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA.

Art.8º. Ao Servidor Técnico Especializado, monitores e bolsistas compete:

- I - Zelar pelo funcionamento e pela organização dos Laboratórios;
- II - Supervisionar e orientar o uso correto de equipamentos de segurança;
- III - Zelar pela conservação e pelo uso adequado do patrimônio dos laboratórios;
- IV - Fiscalizar e controlar o uso de materiais de consumo com preenchimento das planilhas de entrada e saída;
- V - Administrar as reservas de horário para atividades nos Laboratórios;
- VI - Efetuar, quando necessário, testes prévios em experimentos a serem desenvolvidos pelos discentes observando os riscos e toxicidade dos materiais de consumo;
- VII - Acompanhar as atividades desenvolvidas por estagiários de graduação e proceder o treinamento adequado para a realização das atividades;
- VIII - Permitir a operação de equipamentos por usuários após verificar a sua capacitação técnica com o devido acompanhamento;
- IX - Registrar em livro específico a ocorrência de normalidades observadas durante o período de funcionamento do laboratório.
- X - Proceder o descarte correto de reagentes utilizados nos experimentos em bombonas adequadas ao grupo de risco e toxicidade e proceder a notificação e identificação de equipamentos avariados e vidrarias quebradas.

Art. 9º. Ao Servidor Docente compete:

- I - Definir, encaminhar, orientar e acompanhar as atividades de ensino, pesquisa e extensão desenvolvidas no **LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA**;
- II - Utilizar os Laboratórios para as aulas práticas, observando o Planejamento Acadêmico e Plano de Ensino aprovado pelo NDE do curso de Engenharia Civil e Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs);
- III - Requisitar, por meio do formulário de Protocolo de Experimento (anexo 04), a preparação das aulas práticas, com a antecedência mínima de 05 (cinco) dias úteis para o coordenador do laboratório por e-mail;
- IV – Informar, por meio do e-mail: lab.trs.ceavi@udesc.br, qualquer alteração no cronograma semestral de aulas práticas, com antecedência mínima de 05 (cinco) dias úteis;

V- Informar imediatamente, pelo e-mail: lab.trs.ceavi@udesc.br, qualquer cancelamento ou substituição de usuários, sob sua orientação;

VI - Orientar o descarte dos resíduos produzidos durante a realização da aula prática, não permitindo a liberação de substâncias agressivas ao meio ambiente (pisos e ralos) para locais inadequados;

VII - Encaminhar para catalogação e acondicionamento os resíduos produzidos durante a realização da aula prática, de acordo com normas técnicas;

VIII - Utilizar e exigir dos estudantes o uso de Equipamentos de Proteção Individual – EPI's e dos Equipamentos de Proteção Coletiva – EPC's, atendendo as normas de segurança adotadas pelo LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA;

IX - Responsabilizar-se pelo zelo e integridade dos equipamentos durante a realização das atividades acadêmicas e de pesquisa nos Laboratórios;

X - Encaminhar ao monitor do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA no prazo estipulado neste Manual de Boas Práticas, a lista detalhada de materiais a serem adquiridos para as aulas práticas;

XI - Comunicar ao Monitor do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA eventuais irregularidades por meio de formulário de não conformidade

§1º. Para os casos não previstos no Planejamento Acadêmico do Centro será necessário reserva antecipada do Laboratório, por meio do sistema de reserva de espaço físico (a ser definido pela direção administrativa), com antecedência mínima de 07 (sete) dias úteis.

§2º. Em caso de não funcionamento do sistema de reserva do espaço físico, o usuário deverá enviar o formulário constante no anexo 31 deste Manual de Boas Práticas para o e-mail do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA: lab.trs.ceavi@udesc.br , com antecedência mínima de 07 (sete) dias úteis.

XII - Verificar a demanda de equipamentos, reagentes, materiais e soluções químicas para aquisição via processo licitatório e orientar os bolsistas e usuários destinado a projetos de pesquisa e extensão sobre o uso dos mesmos e responsabilidades nas atividades a serem desempenhadas no LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA;

XIII - Solicitar a manutenção preventiva, preditiva e corretiva de equipamentos e mobiliários para aquisição via processo licitatório.

Art. 10º. Ao estudante autorizado compete:

- I - Zelar pelo patrimônio dos laboratórios;
- II - Ater-se ao espaço designado a realização dos experimentos, não interferindo na integridade ou funcionamento de equipamentos ou instalações alheias aos interesses específicos;
- III - Utilizar os equipamentos de proteção individual – EPI's e coletiva – EPC's, atendendo para as normas de segurança adotadas pelo LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA;
- IV - Comunicar formalmente eventuais irregularidades ao Docente Orientador;
- V - Não descartar substâncias agressivas ao meio ambiente junto à rede de esgotos, tubulações de água ou em locais inadequados;
- VI - Responsabilizar-se pela limpeza e organização do material utilizado na atividade.

Parágrafo único: Os estudantes deverão:

- a) Organizar um cronograma de atividades para uso do Laboratório, juntamente com o professor orientador e com o Servidor Técnico Especializado responsável pelo laboratório;
- b) Informar o Servidor Técnico Especializado/monitor, responsável pelos Laboratórios, a conclusão do estágio/pesquisa/extensão, fazendo a devida devolução de possíveis materiais individuais utilizados que devem ser protocolados com autorização do coordenado do laboratório de junto ao Chefe de Patrimônio designado pelo Diretor Administrativo via sistema SGPE (Sistema de Gestão de Processos Eletrônicos) via UDESC;
- c) Realizar as atividades no LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA conforme as regras de segurança disposto no ANEXO (anexo 2) do presente Manual de Boas Práticas empregando luvas, máscaras, óculos de segurança, jalecos de manga comprida e quando necessário protetor facial e distanciamento social;
- d) Mochilas deverão ser armazenadas em armário que se encontra na entrada/saída do laboratório.

Art. 11º. A Udesc / Ceavi deverá formalizar seguro para todos os discentes e docentes, técnicos que utilizar o LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA.

Art.12º. O usuário deverá comunicar imediatamente o Servidor Técnico Especializado/monitor, qualquer anormalidade constatada durante a utilização de equipamentos e inserir a informação na planilha de registro do laboratório com identificação do nome/data/horário.

Art. 13º. Não é permitido ao usuário:

I - Alterar configuração e/ou calibração de equipamentos sem a prévia consulta ao Servidor Técnico Especializado/Setor de Patrimônio/monitor responsável pelo laboratório;

II - Retirar equipamentos e material de consumo das dependências do laboratório sem a autorização do Servidor Técnico Especializado/monitor responsável;

III - Remover equipamentos do local de utilização, dentro do próprio laboratório, sem prévia autorização do Servidor Técnico Especializado responsável. Os equipamentos devem ser autorizados pelo coordenador LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA.

1.5. CAPÍTULO V – DA ORGANIZAÇÃO E FUNCIONAMENTO

Art. 14º. As chaves do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA para as atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão devem ficar disponíveis aos usuários desde que devidamente autorizados na portaria do Centro (guarda), devendo os mesmos verificarem após o término das atividades responsáveis pela verificação dos registros de gás, água tomadas elétricas e proceder a devolução das chaves após o uso.

Art. 15º. O horário regular de funcionamento do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA obedecerá, prioritariamente, o horário de funcionamento do Núcleo de Apoio Técnico Específico do respectivo Centro de Ensino não sendo permitida a permanência em hipótese alguma no horário compreendido entre às 22:00 e 06:00 do dia seguinte.

Parágrafo único: Na ausência de atividades no LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA, o mesmo deverá ser mantido fechado.

Art. 16º. Todas as atividades desenvolvidas no LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA devem ser

previamente agendadas, obedecendo aos encaminhamentos previstos neste Manual de Boas Práticas.

Art. 17º. O empréstimo ou a transferência de equipamentos e de materiais, dentro ou fora do espaço físico do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA deverá ser enviado mediante solicitação em formulário específico (anexo xxx), com 05 dias úteis de antecedência, sujeito à aprovação pela coordenação do laboratório.

Art. 18º. Os usuários são responsáveis por deixar o laboratório devidamente organizado ao final da atividade: as bancadas limpas e secas, o material utilizado cuidadosamente lavado e guardado nos respectivos locais; os armários fechados, o resíduo colocado em recipientes adequados. (Conforme anexo Limpeza do Laboratório).

Art. 19º. Resíduos químicos gerados por atividades experimentais provenientes de projetos de pesquisa, extensão ou atividades que não sejam relacionadas ao uso previsto no presente Manual de Boas Práticas não serão de responsabilidade do usuário, devendo providenciar embalagem adequada para a coleta do resíduo químico e transferência para o laboratório/setor de origem.

Art. 20º. Disposições gerais, o que não fora previsto neste manual deverá ser analisado pelo coordenador do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA.

Art. 21º. LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA do curso de Engenharia Civil será supervisionado pelo Coordenador docente vinculado ao (s) curso (s) de Engenharia Civil com portaria interna de credenciamento a partir da data de publicação pelo Diretor Geral. A substituição temporária da coordenação por motivo de afastamento (capacitação docente, licença prêmio, férias ou outra previsto nos regimentos da UDESC) deverá ocorrer mediante aprovação em reunião departamental do curso de Engenharia Civil.

Art. 22º. Compete ao Docente no uso do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA planejar, organizar, dirigir, coordenar, acompanhar as atividades desenvolvidas nos laboratórios.

Art. 23º. São atribuições do Docente responsável pelas atividades no LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA:

I - Zelar pelo cumprimento das finalidades do laboratório;

II - Acompanhar e supervisionar as atividades desenvolvidas nos Laboratórios, responsabilizando-se pelo uso adequado e pela conservação dos bens patrimoniais destinados as suas atividades;

III - Fornecer parecer sobre a viabilidade de execução de projetos e atividades de pesquisa, ensino e extensão no laboratório;

IV - Acompanhar a ocupação e a verificação do uso de EPI's e EPC's nas dependências do Laboratório;

V - Representar os Laboratórios, quando solicitado;

VI - Elaborar todos os relatórios pertinentes à utilização dos laboratórios e encaminhá-los aos órgãos competentes;

VII - Analisar as solicitações de empréstimo ou transferência de equipamentos e materiais;

VIII - Disponibilizar, sempre que solicitado, o inventário de reagentes e equipamentos pertencentes ao laboratório;

IX - Sistematizar, encaminhar e acompanhar as solicitações de compras de equipamentos e materiais dos laboratórios;

X - Solicitar afastamento de alunos, bolsistas, professores, que não cumpram rigorosamente o uso das EPI's e EPC's durante as atividades experimentais e, se for o caso proceder o cancelamento da atividade;

XI - Cumprir e fazer cumprir do presente Manual de Boas Práticas.

1.6. CAPÍTULO VI - DA SEGURANÇA

Art. 24º. Todos os usuários dos laboratórios devem seguir as normas e procedimentos de segurança adotados pelo) e, quando necessário, as orientações de utilização de materiais e LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA equipamentos, respeitando as determinações contidas no POP (Procedimento Operacional Padrão) específicos.

Art. 25º. Está vedado o fornecimento de cópias de chave para alunos de graduação, pesquisa e extensão, sob pena de responsabilidade administrativa Conforme Art. 25º §1 com notificação pelo Coordenador do LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS e LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA e encaminhada a Direção Administrativa do Centro e Chefia de Departamento do Curso de Engenharia Civil.

1.7. CAPÍTULO VIII - PENALIDADES

Art. 26º. O usuário que descumprir as normas poderá incorrer em penalidades conforme Estatuto e regimento Geral UDESC.

CAPÍTULO II

NORMAS E PROCEDIMENTOS

2. NORMAS DE SEGURANÇA

2.1. PRINCÍPIO

As práticas de segurança adotadas em laboratórios se baseiam na necessidade de proteger os colaboradores, o meio ambiente e a comunidade da exposição a agentes presentes nestes locais e que representam possíveis riscos. Por isso, os profissionais que atuam nessa área necessitam receber treinamento adequado e atualizações constantes sobre as técnicas que devem ser adotadas para manter o ambiente seguro.

2.2. PRINCIPAIS NORMAS DE SEGURANÇA EM LABORATÓRIO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS

1. Refrigeradores, Micro-ondas e estufas não são apropriados para aquecer ou conservar alimentos a serem consumidos;
2. Não comer, beber ou fumar dentro do laboratório;
3. O uso do avental de algodão é obrigatório;
4. As mesas ou bancadas de trabalho devem ter superfície lisa, de fácil limpeza e de desinfecção;
5. Quando da manipulação de material tóxico ou infectante, usar luvas de proteção;
6. As pipetas usadas devem ser colocadas horizontalmente em solução desinfetante imediatamente após o uso, antes de se proceder a sua limpeza e esterilização;
7. Não colocar materiais contaminados sobre a bancada. Esses materiais devem ser colocados em recipientes apropriados e esterilizados em autoclave;
8. Cuidado ao acender o bico de gás (bico de Bunsen). Verificar se não existem substâncias inflamáveis por perto;
9. Flambar alças, agulhas e pinças antes e após o uso;
10. Todo o material deve ser identificado. As etiquetas devem ser autoadesivas;
11. No caso de derramamento de algum material infeccioso, cobrir imediatamente a área com um desinfetante adequado e deixar de 15 a 30 minutos antes da limpeza;
12. Devem ser registrados os acidentes como o derrame de cultura, ferimentos etc. Os ferimentos devem ser desinfetados e cobertos com esparadrapo;
13. Os tubos com cultura devem ser conservados sempre em suas respectivas estantes;
14. As culturas de fungos, quando esporuladas, apresentam riscos de infecção respiratória ou de reação alérgica, mesmo sem formar aerossóis. Estas culturas devem ser manipuladas rapidamente e sem movimento brusco;
15. Não cheirar os meios de cultura inoculados;

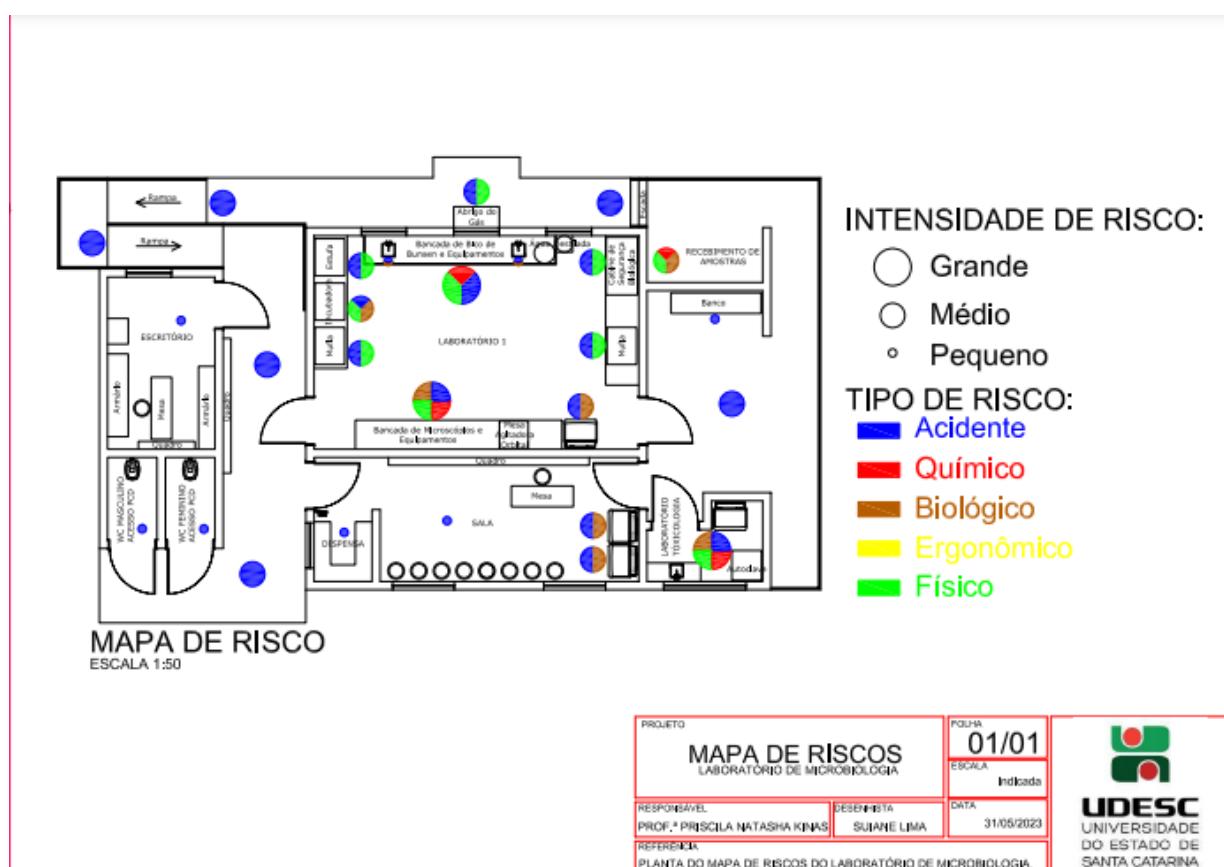
- 16.** As placas de contagem de bactérias, preparadas com meios inócuos como ágar nutritivo, não podem ser consideradas inofensivas;
- 17.** Lâminas e lamínulas utilizadas devem ser colocadas em recipiente com desinfetante;
- 18.** Lavar e desinfectar as mãos antes de iniciar uma atividade laboratorial. Repetir o mesmo procedimento ao final da análise;
- 19.** Limpar a mesa de trabalho, antes e depois de cada sessão de trabalho, usando desinfetante;
- 20.** Desinfectar a bancada de trabalho no início e término de cada atividade;
- 21.** Retirar os materiais, amostras e reagentes, bem como equipamentos e aparelhos, da bancada de trabalho tão logo terminar a tarefa;
- 22.** Papéis e resíduos utilizados só devem ser colocados no recipiente de coleta de lixo comum quando não apresentarem risco de contaminação;
- 23.** É indispensável a presença de extintores de incêndio, estrategicamente posicionados no ambiente laboratorial. Os extintores devem ser do tipo pó químico pressurizado (tipo BC), podendo ser utilizados em casos de acidentes elétricos ou em materiais inflamáveis;
- 24.** Desenvolver o hábito da limpeza e da organização;
- 25.** Não permitir a entrada ou permanência de pessoas estranhas no laboratório.

3. MAPA DE RISCO

É fundamental para todos os acadêmicos, professores e servidores que utilizem um laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos, o conhecimento prévio do ambiente, bem como as técnicas de manipulação e armazenamento de reagentes e resíduos, da utilização de equipamentos, e equipamentos de proteção individuais e coletivos.

Desta forma, a elaboração de mapa de riscos pode auxiliar os usuários no sentido de garantir segurança durante as atividades exercidas.

As atividades realizadas em laboratório pelos acadêmicos basicamente são a preparação de reagentes em diferentes concentrações, a organização de vidrarias e laboratório para a realização das aulas, ensaios e procedimentos descritos neste manual , o armazenamento de reagentes e resíduos. Com base nessas atividades fora desenvolvido o mapa de risco representado na figura abaixo.



4. LIMPEZA DO LABORATÓRIO

4.1. PRINCÍPIO

A limpeza e organização são essenciais em um laboratório. Neste ambiente, onde estão reunidos diversos tipos de materiais, equipamentos e vidrarias, os processos de higienização, esterilização e assepsia devem seguir cuidados especiais. O rigor e a minúcia destes procedimentos são fundamentais para prevenir acidentes e evitar a contaminação dos espécimes e amostras analisadas.

4.2. MATERIAIS

- Luvas de borracha;
- Álcool 70%;
- Hipoclorito de sódio.

4.3. PROCEDIMENTO

4.3.1. Bancada

Bancadas, na superfície das quais são realizadas as análises, devem ser limpas com álcool 70% antes de iniciar a análise e ao término da mesma.

4.3.2. Piso

O piso do laboratório é limpo e desinfetado diariamente com 5 mL de solução de hipoclorito de sódio a 2%, em um litro de água.

4.3.3. Usuários do laboratório

Os usuários do laboratório usam jaleco e touca durante os procedimentos. Ao iniciar o trabalho no laboratório é obrigatório a lavagem das mãos e antebraço com detergente apropriado, completando-se a desinfecção com a aplicação de álcool 70%.

4.3.4. Lâmpadas

As lâmpadas do laboratório são limpas a seco, semestralmente. Eventualmente lâmpadas são substituídas, quando necessário.

4.3.5. Limpeza de vidrarias e materiais utilizados

Os frascos utilizados para amostragem de águas são colocados de molho em solução de hipoclorito de sódio e sabão líquido por no mínimo 24 horas. Lavados com água corrente, detergente e esponja, retirando todos os resíduos do seu interior.

5. USO E LIMPEZA DA AUTOCLAVE VERTICAL CS

5.1.OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza da autoclave. A autoclave é um aparelho utilizado nos processos de esterilização a vapor e pressão, sendo empregada para materiais destinados a análises, meios de cultura e materiais contaminados para descarte.

5.2.MATERIAIS

- Detergente neutro;
- Esponja;
- Jarra;
- Água potável;
- Água deionizada ou destilada.

5.3.PROCEDIMENTO

5.3.1. Utilização da autoclave

1. Abrir a tampa e colocar água na caldeira até cobrir o descanso do cesto;
2. Introduzir o material a ser esterilizado;
3. Fechar a tampa, apertando bem e por igual, os manípulos;
4. Abrir o registro de pressão e ligar a chave elétrica no calor máximo;
5. Aguardar o começo da saída do jato contínuo de vapor d'água e, então, fechar o orifício de escapamento;
6. Atingida a pressão de trabalho, regular a chave elétrica para o médio, a fim de manter a pressão;
7. Verificar a válvula de segurança de modo que o manômetro fique estável;
8. Regular o relógio minuteiro para controlar o tempo de esterilização;
9. Terminado o tempo de esterilização, desligar a autoclave;
10. Esperar o manômetro descer a zero e abrir o registro para a saída do vapor.

Observação: O tempo para a redução da pressão é imprescindível para a eficiência da esterilização.

- Jamais se deve forçar um abaixamento da pressão para abrir a autoclave, pois todo o procedimento será comprometido;
- Abrir a tampa e retirar o material sempre utilizando luvas de amianto;
- Em cada esterilização verificar o nível de água;
- Para troca de água e limpeza da autoclave utilizar o registro inferior;
- Materiais limpos e materiais contaminados são autoclavados em ciclos separados;
- O material limpo é esterilizado em autoclave à temperatura de 121 °C, com tolerância de 1 °C, por 15 minutos.
- A esterilização em excesso de meios de cultura pode alterar características bioquímicas, propriedades nutritivas e deteriorar a qualidade do meio;
- Esterilização insuficiente pode não destruir as bactérias presentes;
- A eficiência da esterilização pode ser observada através do controle da temperatura ou da eficiência biológica.

Para melhor eficiência da autoclave é recomendável:

- Não empacotar objetos totalmente fechados;
- Garantir o perfeito vedamento da tampa antes de ligar o vapor;
- Retirar todo o excesso de ar, trocando-o por vapor;
- Aguardar o equilíbrio de pressão antes de reabrir a autoclave;
- Observar continuamente as marcações do manômetro e do termômetro;
- Para abrir a tampa da câmara de autoclave, deve-se observar se todo o vapor foi evacuado e se o manômetro está marcando zero;
- Para retirada de material recém autoclavado, deve-se utilizar luvas de amianto de cano longo;
- A água utilizada na autoclave deve ser destilada ou deionizada.

5.3.2. Controle da temperatura

- OPÇÃO 1

- a) Utilizar, a cada ciclo, fitas para autoclave que são esterilizadas junto com o material.
- b) Findo o período de esterilização, verificar a cor desenvolvida na fita.

- c) O desenvolvimento de listras mais escuras na fita indica a temperatura de esterilização atingida.
- d) Utilizar juntamente com as fitas para autoclave, termômetro de máxima com trava e, no fim da esterilização, verificar a temperatura máxima.
- e) Não atingida a temperatura de esterilização, recomeçar todo o processo.
- f) Caso a temperatura de esterilização ultrapassar a temperatura recomendada, descartar o material autoclavado.
- g) Os dados obtidos são anotados em relatório de controle.

- **OPÇÃO 2**

- a) Pode-se avaliar a eficiência das esterilizações através do controle de eficiência biológica.
- b) Utilizar esporos de *Bacillus stearothermophilus*. Devido à termorresistência dos esporos, estes somente são destruídos a uma temperatura de 120+/-1 °C, por 15 minutos, com 1 atm de pressão. Em temperaturas mais baixas ou períodos mais curtos não há destruição dos esporos.
- c) As ampolas são colocadas junto com o material a esterilizar, acondicionadas em tubo de ensaio para evitar que, no caso de rompimento de uma ampola haja contaminação.
- d) Após o tratamento em autoclave é controlado o resultado através da incubação das ampolas em estufa, a 55 °C, por 24/48 horas.
- e) Incubar junto uma ampola que não tenha sido esterilizada como prova de controle.
- f) Sendo a esterilização eficiente não há crescimento de *Bacillus stearothermophilus* e a coloração violeta da ampola permanece inalterada.
- g) Em caso de esterilização ineficiente, o crescimento dos bacilos é observado pela turvação do caldo e acidificação por fermentação dos açúcares e sua cor muda de violeta para amarelo.
- h) A ampola controle também muda de coloração passando de violeta para amarelo

5.3.3. Limpeza

- AUTOCLAVES DE ESTERILIZAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA E VIDRARIA
 - A limpeza é feita semanalmente com água e detergente neutro.
- AUTOCLAVES DE ESTERILIZAÇÃO DE MATERIAL CONTAMINADO
 - A limpeza é feita após cada ciclo com água e detergente neutro.

6. USO E LIMPEZA DA CAPELA DE FLUXO LAMINAR

6.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza da capela de fluxo laminar. O equipamento é destinado ao procedimento de inoculação das amostras.

6.2. MATERIAIS

- Lâmpada UV;
- Detergente neutro;
- Ácido peracético 0,2 % ou álcool 70%.

6.3. PROCEDIMENTO

6.3.1. Utilização da capela de fluxo laminar

1. Antes de iniciar os trabalhos, fazer a desinfecção com álcool 70%, de toda a parte interna do fluxo;
2. Ligar o aparelho;
3. Ligar a lâmpada germicida e esperar 15 minutos, no mínimo, para desligá-la;
4. Colocar todo o material necessário para o procedimento evitando o afastamento do fluxo laminar;
5. Manipular rapidamente as amostras, mas com segurança para evitar erros e desperdícios;
6. O descarte de pipetas e outros materiais deve ser feito em utensílio próprio que permanece próximo à cabine do fluxo laminar.

6.3.2. Limpeza

- A limpeza é feita diariamente: antes do início dos procedimentos analíticos e ao final destes;
- Passar um pano umedecido com álcool 70%; caso houver necessidade, limpar com detergente neutro;
- Remover todo o vestígio de espuma e, novamente proceder a desinfecção;
- Quando usar álcool para a desinfecção, cuidar para não passar nas áreas em acrílico, pois ficarão irreversivelmente foscas.

7. USO E LIMPEZA DAS BALANÇAS ELETRÔNICAS

7.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza das balanças. A balança é um equipamento utilizado para a pesagem de alíquotas de amostras e para o preparo de soluções nutritivas necessárias para os procedimentos analíticos.

7.2. MATERIAIS

- Detergente neutro;
- Álcool 70%;
- Esponjas e panos de limpeza adequados.

7.3. PROCEDIMENTO

7.3.1. Descrição dos componentes

- Prato da balança;
- Entrada da fonte de alimentação;
- Pés niveladores;
- Tecla liga/desliga;
- Tecla calibração/ pesagem;
- Nível da balança;
- Tecla tara;
- Display.

7.3.2. Instalação das balanças

1. Retirar a balança da embalagem;
2. Retirar totalmente a trava de segurança para transporte, localizada na parte inferior da balança, girando-a no sentido anti-horário;
3. Girar a tampa protetora até fechar o orifício;
4. Guardar o dispositivo de travamento para ser usado em eventuais transportes, ou quando a balança for enviada à assistência técnica;
5. Colocá-la sobre a mesa de trabalho em local adequado, isento de radiação de calor, trepidações, correntes de ar e umidade;

6. Encaixar corretamente o prato na balança;
7. Encaixar o conector da fonte de alimentação no plugue existente na parte traseira da balança;
8. Nivelar a balança pelos pés niveladores até centralizar a bolha de nível.

Importante: O aperto na colocação do dispositivo deve ser efetuado com a mão, sem usar ferramentas auxiliares, tais como alicate, ou outros instrumentos.

Nunca ligar a fonte à rede, sem antes tê-la conectada à balança.

7.3.3. Utilização das balanças

1. Ao ligar à rede elétrica o display mostrará DESLIGADO;
2. Aguardar 30 minutos de pré-aquecimento;
3. Se a fonte for desligada ou faltar energia, aguardar novo pré-aquecimento;
4. Pressionar L/D;
5. Durante três segundos aparecerão todos os pontos do display;
6. A seguir, o display mostrará a versão da balança e logo após: 0.00 g (ou 0,0 g conforme o modelo da balança).
7. O sinal “ ~ “ indica leitura não estabilizada, e o sinal “ = “ indica leitura estabilizada;
8. Se, ao ligar a balança aparecer: Erro: plat. C/P (erro, plataforma com peso), basta remover o peso ou o vasilhame do prato;
9. Ao desligar a balança pela tecla L/D, o display mostrará: DESLIGADO, contudo, a balança continuará energizada para ser mantida em equilíbrio térmico;
10. Zerar a balança antes de efetuar as pesagens, pressionando T. Se for necessário o uso de vasilhame, colocá-lo sobre o prato da balança e pressionar T para travá-lo;
11. Realizar a pesagem pretendida;
12. Retirar o vasilhame;
13. Ao iniciar nova pesagem ter o cuidado de verificar se a balança está zerada.

7.3.4. Limpeza

- A limpeza é realizada no final da rotina de trabalho.
- Antes de iniciar a limpeza, desconectar a balança da rede de corrente elétrica.
- Passar um pano umedecido com água e detergente neutro.
- Não utilizar detergentes agressivos (solventes ou similares).
- Cuidar para que não escorra líquido para o interior da balança. Para evitar que isto aconteça, passar um pano seco e macio, logo após a limpeza com o pano úmido.

-Se houver alguma sujeira no prato entre uma pesagem e outra, remover com algodão ou perfex® umedecido em álcool 70%.

8. USO E LIMPEZA DAS GELADEIRAS

8.1. OBJETIVO

Descrever os procedimentos para limpeza e uso das geladeiras de acordo com a finalidade a que se destinam. As geladeiras são utilizadas para manutenção de amostras refrigeradas aguardando processamento e de meios de cultura.

8.2. MATERIAIS

- Termômetro;
- Detergente neutro;
- Álcool 70%;

8.3. PROCEDIMENTO

8.3.1. Finalidades

- As geladeiras apresentam duas finalidades:
 - I) As geladeiras 1 e 2 são utilizadas para estocagem de material de laboratório tais como meios de cultura, reagentes e outros materiais pertinentes às análises.
 - II) A geladeira 3, é utilizada para armazenamento de material contaminado e cepas.

8.3.2. Utilização das geladeiras

1. Regular o termostato para a temperatura programada;
2. Ligar a geladeira na rede.

8.3.3. Limpeza

- A limpeza é feita mensalmente com água e detergente neutro.
- Após a limpeza, é feita a desinfecção com álcool 70%.

9. USO E LIMPEZA DO AGITADOR DE TUBOS

9.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza do agitador de tubos de ensaio. O agitador de tubos de ensaio é um aparelho importante no processo de análises microbiológicas, já que homogeneíza o conteúdo dos tubos de ensaio através de agitação circular.

9.2. MATERIAIS

- Álcool 70%;
- Algodão.

9.3. PROCEDIMENTOS

9.3.1. Utilização do agitador de tubos

1. O aparelho deve ser ligado na corrente elétrica;
2. A chave liga/desliga deve ser posicionada na opção LIGA;
3. Deve-se selecionar a agitação desejada (contínua ou não);
4. Para agitar o tubo, basta, segurando firme, posicioná-lo sobre o suporte, na parte superior do aparelho e pressionar para que seu funcionamento inicie;
5. Agitar o conteúdo durante alguns segundos, e prosseguir a análise.

9.3.2. Limpeza

-Antes e depois do uso, o agitador deve ser limpo com algodão embebido em álcool 70%.4

10. USO E LIMPEZA DO CONTADOR DE COLÔNIAS

10.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza do contador de colônias. O contador de colônias é um utensílio que auxilia na contagem das colônias de microorganismos cultivadas nas placas de petri, através de sua observação na lupa, e com iluminação.

10.2. MATERIAIS

- Placa de petri com cultura e caneta para retroprojetor;
- Álcool 70%;
- Algodão.

10.3. PROCEDIMENTO

10.3.1. Utilização do contador de colônias

1. Ligar o aparelho na corrente elétrica;
2. Ligá-lo no botão liga/desliga – este procedimento acenderá a lâmpada;
3. Colocar a placa com a cultura sobre a base quadriculada;
4. Contar as colônias existentes;
5. Caso o número de colônias seja muito elevado, pode-se contar um quadrante e multiplicar por 20. Esta será uma contagem estimada do número de colônias da placa.

10.3.2. Limpeza

-Depois do uso, o agitador deve ser limpo com algodão embebido em álcool 70%.

11. USO E LIMPEZA DO BANHO MARIA

11.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza do banho-maria. O banho-maria é um equipamento utilizado para manter uma solução ou qualquer outro material a uma temperatura constante. É utilizado também, para preparação de meios de cultura e para incubação de micro-organismos. Em casos de incubações exigentes à temperatura, utilizar o banho maria com circulação de água.

11.2. MATERIAIS

- Termômetro;
- Água destilada;
- Sabão neutro;
- Álcool 70%;
- Esponja e panos adequados.

11.3. PROCEDIMENTO

11.3.1. Descrição dos componentes

- **Termostato automático:** de 20 °C a 120 °C;

- **Lâmpada piloto:** quando acesa indica que o banho maria está ligado; ao atingir a temperatura desejada, a luz se apagará;
- **Chave liga-desliga:** com chave reversível, que seleciona a voltagem 110 ou 220 volts.

11.3.2. Características

O banho-maria é um equipamento constituído em chapa de aço inox, com paredes duplas e isoladas com lã de vidro. A tampa e as estantes são de aço inoxidável. Deve-se optar pelos banhos-maria que apresentam tampa em cunha, que evitam gotejamento da água evaporada, fazendo com que esta corra para as extremidades da mesma.

11.3.3. Utilização do banho maria

1. Abrir a tampa e colocar água até que a solução a ser preparada fique submersa;
2. No caso de incubação de tubos inoculados, estes devem permanecer mergulhados na água, até uma altura superior à superfície do meio de cultura;
3. Introduzir o material a ser incubado;
4. Regular o termostato para a temperatura adequada;
5. Ligar a chave elétrica;
6. Atingida a temperatura requerida, a lâmpada-piloto se apaga;
7. Utilizar termômetro para a verificação da temperatura;
8. O tempo de incubação e a temperatura variam de acordo com o meio e o indicado pelo fabricante;
9. No caso de manutenção de meios com ágar, no estado líquido, recomenda-se a temperatura máxima de 45 °C, para não comprometer nutrientes presentes no meio;
10. A temperatura para a cultura de micro-organismos obedece a metodologia utilizada.

11.3.4. Controle de temperatura

- Para controlar a temperatura máxima atingida utilizar termômetro de máxima com trava.
-Registrar apropriadamente os dados pertinentes ao controle de temperatura.

11.3.5. Limpeza

- A limpeza é feita semanalmente com água e detergente neutro.
-Após a limpeza, é feita a desinfecção com álcool 70%.

12. USO E LIMPEZA DAS ESTUFAS BACTERIOLÓGICAS

12.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza de estufas bacteriológicas. A estufa de incubação ou bacteriológica é um equipamento utilizado para os procedimentos analíticos, ou seja, para a cultura de microrganismos que possa estar presente nas amostras processadas, em uma temperatura pré-determinada.

12.2. MATERIAIS

- Termômetro de máxima e mínima;
- Detergente neutro;
- Álcool 70%;
- Esponjas e panos de limpeza adequados.

12.3. PROCEDIMENTO

12.3.1. Descrição dos componentes

- **Respiro:** serve para expelir o excesso de calor e manter a uniformidade da temperatura. Antes de ligar é necessário remover a tampa plástica.
- **Lâmpada piloto:** quando acesa indica que a estufa está ligada, ao atingir a temperatura desejada a luz se apagará.
- **Chave liga-desliga:** além de permitir ligar ou desligar o aparelho, é através dela que se altera a tensão da eletricidade.
- **Controlador eletrônico:** regulável da temperatura ambiente até 240 °C. Controle programável manualmente.
- **Termômetro de máxima e mínima:** serve para acompanhamento das oscilações de temperatura.

12.3.2. Utilização das estufas bacteriológicas

1. Regular o termostato para a temperatura programada. Ligando a estufa na rede, o interruptor é acionado e a lâmpada piloto acende.
2. Ao atingir a temperatura programada, a lâmpada piloto apaga.
3. Colocar o termômetro no orifício localizado acima da estufa ou no seu interior.

A TEMPERATURA DEPENDE DO MATERIAL INCUBADO. O LIMITE DE TOLERÂNCIA FICA EM ± 1 °C.

12.3.3. Acondicionamento do material analítico

- Placas que se destinam à cultura de bactérias são incubadas invertidas.
- Não sobrepor mais que cinco placas para garantir uma uniformidade de distribuição de temperatura.
- Os tubos devem ser levados em estantes apropriadas e com garantia de que o calor possa permear entre eles.
- É rigorosamente necessário que todo o material que vai para a estufa esteja identificado.
- Saquetas e erlenmeyers utilizados em pré-enriquecimentos de algumas análises devem estar identificados e separados de tal forma que o ar quente consiga circular entre eles.

12.3.4. Limpeza

- A limpeza é feita semanalmente.
- Passar um pano umedecido com álcool 70%.
- Se houver alguma sujeira, como pingos de amostras incubadas, passar esponja com detergente neutro.
- Retirar toda a espuma com um pano enxaguado várias vezes em água limpa.
- Após a limpeza passar um pano umedecido com álcool 70%.

13. USO E LIMPEZA DAS ESTUFAS DE ESTERILIZAÇÃO E SECAGEM

13.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza das estufas de esterilização e secagem de materiais. A estufa de esterilização e secagem destina-se à esterilização de vidrarias necessárias para procedimentos analíticos, bem como para a secagem de material.

13.2. MATERIAIS

- Termômetro de máxima com trava;
- Papel de embrulho;
- *Bacillus subtilis*;
- Fita adesiva;

- Detergente neutro;
- Álcool 70%;
- Esponja e panos de limpeza adequados.

13.3. PROCEDIMENTO

13.3.1. Descrição dos componentes

- **Respiro:** serve para expelir o excesso de calor e manter a uniformidade da temperatura. Antes de ligar é necessário remover a tampa plástica.
- **Lâmpada piloto:** quando acesa indica que a estufa está ligada, ao atingir a temperatura desejada a luz se apagará.
- **Chave liga-desliga:** além de permitir ligar ou desligar o aparelho, é através dela que se altera a tensão da eletricidade.
- **Controlador eletrônico:** regulável da temperatura ambiente até 240 °C. Controle programável manualmente.
- **Termômetro de máxima e mínima:** serve para acompanhamento das oscilações de temperatura.

13.3.2. Utilização das estufas de esterilização e secagem

1. Antes de ligar, verificar se a estufa e a rede elétrica são da mesma tensão elétrica.
2. Para trocar a tensão, soltar o parafuso que prende a capa da chave, girar com a alavanca no ponto central.
3. Verificar a marcação existente no painel e fazer a ligação de acordo com a rede elétrica no local, reapertar o parafuso que prende a capa da chave.
4. Regular o termostato para a temperatura programada.
5. Ligar a estufa na rede, o interruptor é acionado e a lâmpada piloto acende.
6. Ao atingir a temperatura programada, a lâmpada piloto apaga.
7. Colocar o termômetro de máxima no orifício localizado acima da estufa.

13.3.3. Preparação do material esterilizado

- Proteger as placas de Petri e pipetas graduadas com papel de embrulho.
- A temperatura de esterilização é no mínimo 170 °C.
- O tempo necessário para esterilização é no mínimo 2 horas.

-O papel que protege o material adquire cor parda, não devendo escurecer em demasia e nem se tornar quebradiço.

13.3.4. Controle de temperatura

- Para controlar a temperatura máxima atingida durante a esterilização, utilizar termômetro de máxima com trava.
- Opcionalmente pode ser utilizado *Bacillus subtilis* para a verificação da eficiência do processo de esterilização.
- Verificar a temperatura atingida pelo termômetro. Não atingida a temperatura de esterilização, retornar o material para a estufa e esterilizar novamente.
- Abrir o forno Pasteur somente depois que este estiver atingido equilíbrio com a temperatura ambiente, pois o contato do ar frio com o vidro superaquecido irá provocar quebra e estilhaços, podendo atingir o operador.

13.3.5. Limpeza

- A limpeza é feita semanalmente com água e detergente neutro.
- Após a limpeza, é feita a desinfecção com álcool 70%.

14. USO E LIMPEZA DA INCUBADORA PARA BOLORES E LEVEDURAS

14.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza da incubadora para fungos. A incubadora para fungos é um equipamento utilizado para a cultura de amostras submetidas a pesquisa de bolores e leveduras.

14.2. MATERIAIS

- Termostato;
- Detergente neutro;
- Álcool 70%.

14.3. PROCEDIMENTO

-A incubadora de fungos é utilizada exclusivamente para o cultivo de bolores e leveduras.

14.3.1. Utilização da incubadora para bolores e leveduras

1. Acionar o interruptor geral e deixar os componentes eletrônicos estabilizarem por 5 minutos, lembrando sempre que o mesmo não pode ser ligado e desligado em intervalos inferiores a 3 minutos;
2. Selecionar a temperatura desejada;
3. A lâmpada piloto ao apagar, indica que a temperatura de termostatização foi atingida e, após isto, iniciam-se os ciclos de liga-desliga, para manutenção da temperatura desejada;
4. Aguardar a estabilização da temperatura +/- 30 minutos;
5. Em caso de necessidade de movimentação do aparelho, esperar 30 minutos antes de religá-lo;
6. Não abrir a porta frequentemente para evitar a condensação dentro da câmara interna;
7. Para evitar problemas com a estabilização da temperatura, manter o interruptor ligado constantemente.

Observação: A temperatura depende da metodologia empregada. O limite de tolerância fica em $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

14.3.2. Limpeza

- A limpeza é realizada semanalmente.
- Limpar com uma esponja, água e detergente neutro.
- Retirar todo o resíduo de espuma com um pano enxaguado em água limpa.
- Para a desinfecção, passar um pano umedecido em álcool 70%

15. USO E LIMPEZA DA INCUBADORA BOD

15.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de uso e limpeza da Incubadora BOD. As incubadoras BOD (DBO) servem para manter o cultivo e crescimento de bactérias em condições ambientais controladas.

15.2. MATERIAIS

- Detergente neutro;
- Panos de limpeza adequados.

15.3. PROCEDIMENTO

15.3.1. Descrição dos Componentes

- **Relógio Fotoperíodo:** Serve para controlar as horas de “sol” diárias necessárias para que a planta ou animal se desenvolva.

15.3.2. Utilização da incubadora BOD

1. Antes de ligar, verifique se o equipamento e a rede elétrica possuem a mesma tensão elétrica.
2. Ligue na tomada e depois ligue a chave geral que se encontra no painel de controle frontal ou lateral, na posição 1. Aguarde aproximadamente 10 segundos e o display mostrará a temperatura interna (PV) do BOD.
3. Ajuste a temperatura programada utilizando os botões de Incremento (\blacktriangle) e Decremento (\blacktriangledown).
4. Ajuste o relógio fotoperíodo, se for um relógio analógico, com o auxílio de um celular para sincronizar a hora do relógio analógico com a sua hora local, gire levemente o relógio externo em rotação horária, até chegar na sua hora atual.

Caso seja necessário a utilização do fotoperíodo constante, posicione a trava de contato de saída em “1” ou “ON”, essa ação faz com que a luz se acenda.

Para desligar o fotoperíodo, use a posição 0 no controlador. Caso o controlador não possua a posição 0, queira colocar todos os cavaletes na posição “para dentro”.

ATENÇÃO: Nunca gire o relógio no sentido anti-horário, isso irá danificar o relógio, caso na hora de sincronizar o relógio o ponteiro ultrapasse, dê uma volta de 360° no sentido horário para reajustar a hora.

Se o seu relógio for o digital siga os passos abaixo para regulagem da semana, hora e minuto:

1. Para regular o dia da semana, mantenha a tecla com o símbolo de relógio pressionada e simultaneamente pressione e solte sucessivamente a tecla (D) até chegar ao dia desejado;
2. Para regular a hora, mantenha a tecla com o símbolo de relógio pressionada e simultaneamente pressione e solte sucessivamente a tecla (H) até chegar a hora desejada;
3. Para acertar os minutos, mantenha a tecla com o símbolo de relógio pressionada e simultaneamente pressione e solte sucessivamente a tecla (Min) até chegar ao minuto desejado.

Para configurar a programação do relé, pressione e solta a tecla (Prog.) para acessar o modo de programação. E siga os passos abaixo:

1. Pressione e solta sucessivamente a tecla (D) para selecionar os dias em que o relé de saída atuará.
2. Pressione e solte sucessivamente a tecla (H) para programar a hora em que o relé irá atuar.
3. Pressione e solte sucessivamente a tecla (Min) para programar o minuto em que o relé irá atuar.
4. Pressione e solte a tecla (Prog.) para finalizar o programa e continuar no modo de programação.
5. Pressione e solte a tecla com o símbolo de relógio para finalizar a programação e retornar ao relógio.

15.3.3. Limpeza

-Sempre que for necessário efetuar a limpeza do equipamento, limpe com um pano de limpeza adequado umedecido com água e detergente neutro.

OBS: NUNCA FAZER A LIMPEZA COM O EQUIPAMENTO LIGADO.

16. USO E LIMPEZA DO FORNO MUFLA

16.1. OBJETIVO

- Termômetro de máxima e mínima;
- Detergente neutro;
- Álcool 70%;
- Esponjas e panos de limpeza adequados.

16.2. PROCEDIMENTO

16.2.1. Instruções iniciais

- Não deixe materiais no interior do equipamento desligado;
- Se o equipamento já estiver ligado, não altere a temperatura sem autorização;
- Evite permanecer com a porta aberta por longos períodos de tempo, isso pode causar grandes variações de temperatura. **Quanto maior a temperatura de operação, mais rapidamente acontece essa variação.**

16.2.2. Utilização do forno mufla

1. Antes de ligar, verifique se o equipamento e a rede elétrica possuem a mesma tensão elétrica de 220V.
2. Ligar o equipamento diretamente no disjuntor e acionar a chave ON/OFF.
3. Pressionar a tecla de menu no painel, aparecerá SP (Set-Point) no visor.
4. Pressionar novamente a tecla menu, o display irá piscar.
5. Ajustar a temperatura nas teclas de seta para cima e para baixo no painel, e confirmar pressionando a tecla menu.
6. Em caso de utilização do tempo, pressione a tecla de seta para baixo, aparecerá TIME no display.
7. Apertar a tecla menu, o display piscará continuamente.
8. Ajustar o tempo nas teclas de seta para cima e para baixo no painel, e confirmar pressionando a tecla menu.
9. Após isso aguarde 15 segundos e aparecerá a temperatura.
10. Apertar a tecla START/PAUSE e o processo se iniciará.
11. Ao final do tempo ajustado o equipamento deixará de aquecer.

A TEMPERATURA DEPENDE DO MATERIAL INCUBADO. O LIMITE DE TOLERÂNCIA FICA EM $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

16.2.3. Limpeza

- A limpeza é feita a cada uso.
- Passar um pano umedecido com água e detergente neutro.
- Para higienização após a limpeza, passar um pano umedecido com álcool 70%.

17. USO E LIMPEZA DOS MICROSCÓPIOS

17.1. OBJETIVO

Descrever os procedimentos para uso e limpeza dos microscópios. Os microscópios permitem observar os objetos que não são visíveis à olho nu.

17.2. MATERIAIS

- Papel macio de óptica;
- Solução limpante.

17.3. PROCEDIMENTOS

17.3.1. Descrição dos componentes

- **Oculares:** Ampliam a imagem formada pela objetiva.
- **Revólver:** Disco adaptado à zona inferior do tubo, suporta quatro objetivas de diferentes ampliações. A troca rápida das objetivas é possível pela rotação.
- **Objetivas:** Além de fornecer uma imagem ampliada de um objeto qualquer, procuram corrigir também os defeitos cromáticos dos raios luminosos e de “esfericidade”.
- **Platina:** Peça quadrada, paralela à base, onde se coloca a amostra a ser observada, possui no centro um orifício circular que possibilita a passagem dos raios luminosos concentrados pelo condensador.
- **Comando de Charriot:** Movimenta a lâmina de um lado para o outro, permitindo uma análise da lâmina por um todo.
- **Garras:** Garante uma maior fixação da lâmina na platibanda.
- **Condensador:** Concentra os raios luminosos e permite ao usuário obter uma iluminação desejável para cada uso.
- **Dispositivos macro e micrométrico:** Peça deslizante em sentido vertical, acionada por dois tipos de “botões”, os “macrométricos” e os “micrométricos”. Com o mecanismo macrométrico, é possível obter a focalização ótica grosseira do objeto a ser examinado, enquanto com o dispositivo micrométrico, é possível deslocar o tubo de dois milésimos de milímetro ou menos ainda, dando uma nitidez à imagem.
- **Diafragma:** Regula a quantidade de luz que entra no condensador.
- **Fonte de luz:** Local onde a lâmpada está localizada.
- **Botão Liga/Desliga:** Botão que liga e desliga a fonte de luz.

17.3.2. Instruções iniciais

- Não utilizar quantidades exageradas de óleo de imersão sob as lentes. Na maioria dos casos, uma gota de aproximadamente 5,0mm de diâmetro é suficiente;
- Evite afrouxar o parafuso do condensador;
- Evite o contato direto com as objetivas, utilizar o revólver para a troca de posição;
- O óleo de imersão deve estar em contato somente com a objetiva 100x;
- O macrométrico deve ser usado com as objetivas de 40x e 100x;
- Não deixar o microscópio com a objetiva de maior aumento encaixada.

17.3.3. Utilização dos microscópios

1. Colocar a lâmina com o objeto a ser visualizado sobre a platina e travar a pinça;
2. Começar a visualizar com a objetiva de menor aumento;
3. Realização do enfoque;
4. Aproximar o máximo possível a lente do objeto a ser visualizado através do ajuste macrométrico. **Esse deve ser feito sem olhar diretamente pela ocular, para evitar possíveis danos ao objeto ou a própria lente.**
5. Olhando através da ocular, comece a aproximar a amostra da objetiva até que consiga ter uma visualização nítida, com o ajuste micrométrico realizar o enfoque fino;
6. Mude para objetiva seguinte. A imagem deve estar quase focada, se necessário gire o micrométrico para melhorar o enfoque fino. Se ao trocar de objetiva o objeto sumir completamente, é preferível voltar a objetiva anterior e refazer os passos do item 3. A objetiva de 40X enfoca muito próximo da amostra e com isso pode vir a causar acidentes: como contaminar a lente com a amostra em análise se negligenciado as precauções anteriores ou manchar a lente com o óleo de imersão se a objetiva de 100X já foi utilizada.
7. Utilizar a objetiva com óleo de imersão;
8. Baixe totalmente a platina;
9. Suba totalmente o condensador para visualizar o círculo de luz que indica a zona que irá visualizar e onde irá colocar o óleo de imersão;
10. Gire o revólver até a objetiva de imersão deixando entre a objetiva de 40X e 100X;
11. Coloque uma gota de óleo de imersão sobre o círculo de luz;
12. Termine de girar o revólver, suavemente, até a objetiva de imersão (100X);
13. Olhando diretamente na objetiva, suba a platina lentamente até que a gota de óleo toque a lente. Neste momento é possível notar a gota cobrindo a lente;
14. Com auxílio do ajuste micrométrico, enfocar a amostra cuidadosamente. A distância de trabalho entre a objetiva e a lâmina é mínimo, menor que a distância da objetiva de 40X, por isso o risco de acidente é muito grande;
15. Uma vez colocado o óleo de imersão sobre a amostra, não pode retornar a objetiva de 40X, pois a lente pode vir a ficar manchada. Por tanto, se deseja focar outra área é necessário baixar a platina e repetir o processo desde o passo 3;
16. Uma vez finalizada a visualização da amostra deve-se baixar a platina e colocar o revólver com na posição da menor objetiva. Neste momento já pode retirar a lâmina da platina. Nunca retire a lâmina com a objetiva de imersão em posição de observação;
17. Limpar a objetiva com cuidado e fazendo uso de um papel especial para limpeza óptica.

17.3.4. Limpeza

- Manter a platina do microscópio limpa e seca. Se houver algum resíduo de óleo de imersão, limpar com um papel macio de óptica umedecido com solução limpante (fornecidos pelo responsável do laboratório);
- Caso haja poeira na superfície do equipamento, limpar com um papel macio de óptica seco. Não utilizar água, álcool, acetona ou qualquer outra substância;
- Para limpar a área externa das oculares e lentes, utilize papel macio de óptica com movimento circulares;
- Nunca tocar as lentes com as mãos. Se estiverem sujas, limpar suavemente com um papel macio de óptica;
- Após utilizar a objetiva com o óleo de imersão, limpá-la com papel macio de óptica especiais para lentes, passando o papel suavemente somente em movimentos circulares e em um sentido. Caso o óleo de imersão seque na objetiva, limpar com álcool-cetona (7:3) ou xilol, previamente disponibilizado pelo responsável do laboratório;
- Não utilizar solventes excessivamente, pois podem danificar o equipamento.

18. DESCARTE DE MATERIAL DE AMOSTRAS

18.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de descarte de material utilizado e das amostras processadas no laboratório de tratamento biológico de resíduos.

18.2. MATERIAIS

- Autoclave;
- Caixa coletora para vidraria danificada;
- Saco para esterilização;
- Saco de lixo comum;
- Caixa coletora para material tóxico;
- Perfuro-cortantes.

18.3. PROCEDIMENTO

18.3.1. Descarte de amostras

-As amostras são descartadas quando do término da análise.

- As amostras processadas são armazenadas em sacos adequados e destinados à esterilização em autoclave a 121 +/- 1°C por 20 min. Posteriormente o material é encaminhado ao destino estabelecido para lixo orgânico na Instituição.
- As alíquotas de amostras utilizadas para as diluições nos processos analíticos são autoclavadas da mesma forma e também encaminhadas ao lixo orgânico da Instituição.

18.3.2. Descarte de materiais não reutilizáveis

Placas de Petri e ponteiras são autoclavadas após a realização de análises e descartadas conforme determinado na Instituição, ou seja, destinados ao lixo orgânico.

18.3.3. Descarte de materiais tóxicos e perfuro – cortantes

Estes materiais são acondicionados em caixa coletora própria, sendo seu recolhimento efetuado quando atingida a capacidade da mesma.

18.3.4. Descarte de vidrarias danificadas

Estas vidrarias são armazenadas em caixa coletores próprios e destinadas a usina de reciclagem. As vidrarias quebradas com meio de cultura são autoclavadas antes do descarte, acondicionadas em recipientes apropriados (Becker de 1000 mL, potes plásticos).

19. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA AMOSTRAGEM DE RESÍDUOS

19.1. OBJETIVO

Este documento tem como objetivo estabelecer o Procedimento Operacional Padrão – POP, para amostragem de resíduos.

19.2. REQUISITOS GERAIS

19.2.1. Preparação para amostragem

Esta subseção estabelece as linhas básicas que devem ser observadas, antes de se retirar qualquer amostra, com o objetivo de definir o plano de amostragem (objetivo da amostragem, número e tipo de amostras, amostradores, local de amostragem, frascos e preservação da amostra).

19.2.2. Objetivo da amostragem

O objetivo da amostragem é a coleta de uma quantidade representativa de resíduo, visando determinar suas características quanto à classificação, métodos de tratamento etc.

19.2.3. Pré-caracterização de um resíduo

A pré-caracterização de um resíduo é feita através de levantamento do (s) processo (s) que lhe deu (ram) origem. As informações assim obtidas (volume aproximado, estado físico, constituintes principais, temperatura, etc.) permitem a definição do tipo de amostrador mais adequado, dos parâmetros que serão estudados ou analisados, do número de amostras e do seu volume, do tipo de frasco de coleta e do (s) método (s) de preservação que deve (m) ser utilizado (s).

19.2.4. Plano de amostragem

O plano de amostragem deve ser estabelecido antes de se coletar qualquer amostra, ser consistente com o objetivo da amostragem e com a pré-caracterização do resíduo, e deve incluir: avaliação do local, forma de armazenamento, pontos de amostragem, tipos de amostradores, número de amostras a serem coletadas, seus volumes, seus tipos (simples ou compostos), número e tipo dos frascos de coleta, métodos de preservação e tempo de armazenagem, assim como os tipos de equipamentos de proteção a serem utilizados durante a coleta. As tabelas A.1 e A.2 apresentam os métodos de preservação e armazenagem das amostras sólidas e líquidas, respectivamente. Este plano deve também estabelecer a data e a hora de chegada das amostras ao laboratório.

19.2.5. Seleção do amostrador

Os resíduos podem ser encontrados sob várias formas, tais como: misturas, líquidos multifásicos, lodos e sólidos. As misturas líquidas e lodos podem variar em viscosidade, reatividade, corrosividade, volatilidade, inflamabilidade, etc.

Os sólidos podem variar desde pós ou grãos até grandes pedaços. Além disso, os resíduos podem estar contidos em recipientes com as mais diferentes formas e tamanhos.

Para a escolha dos materiais da confecção do amostrador, estes devem atender os princípios de não reatividade com o material a ser coletado. Caso o amostrador não seja descartável, o material da confecção deve permitir a descontaminação total do equipamento para posterior utilização.

A tabela A.3 apresenta os amostradores recomendados para cada tipo de resíduo. O anexo B descreve alguns tipos de amostradores que podem ser utilizados para a obtenção de amostras de resíduos.

19.2.6. Seleção do recipiente da amostra

Os aspectos mais importantes a serem considerados na escolha de um frasco de amostragem são compatibilidade do material do frasco e da sua tampa com os resíduos, resistência, volume e facilidade de manuseio.

NOTA Em geral, para resíduos sólidos ou pastosos, devem ser utilizados frascos de polietileno descartáveis. Quando os resíduos contiverem solventes em sua composição, devem ser utilizados frascos de vidro âmbar. Quando forem utilizados frascos rígidos para amostras sólidas ou semi-sólidas, esses frascos devem ter boca larga, ser feitos, assim como sua tampa, de material compatível com o resíduo e proporcionar uma boa vedação.

19.2.7. Precauções na utilização de recipientes e amostradores

Antes do uso, os recipientes e amostradores devem ser descontaminados conforme pré-requisitos da tecnologia a ser aplicada. Após o uso, os recipientes e amostradores utilizados para coleta devem ser descontaminados, ou destinados conforme a classe dos resíduos.

19.2.8. Ponto de amostragem

O ponto de amostragem é o local onde será coletada a amostra. A tabela A.4 apresenta os pontos de amostragem em função dos tipos e formas dos recipientes.

19.2.9. Número de amostras

Para obtenção da concentração média do resíduo, deve ser coletada uma ou mais amostras compostas.

Para obtenção da faixa de variação da concentração do resíduo, devem ser coletadas no mínimo três amostras simples.

Para resíduos heterogêneos de difícil amostragem e cuja representatividade não puder ser definida com uma única amostra, a escolha do método e número de amostras caberá aos Órgãos Estaduais ou Federais de controle da poluição e preservação ambiental.

19.2.10. Volume de amostra

É necessário, durante a fase de planejamento, estabelecer quais as análises e ensaios que serão realizados e qual o volume de amostra é necessário para cada um deles. Muitas vezes é necessário também obter volumes que permitam a realização de contraprovas.

NOTA Quando se pretende analisar diversas propriedades ou parâmetros, é frequentemente necessário dividir a amostra inicial em diversas alíquotas, pois os métodos de preservação para uma determinada análise podem ser diferentes para cada parâmetro.

19.2.11. Identificação e ficha de coleta

Toda amostra deve ser identificada imediatamente após a coleta.

NOTA Em alguns casos, a amostra deve ser selada para evitar fraude durante o tempo entre a coleta da amostra e a abertura dos frascos no laboratório.

Toda amostra deve possuir uma ficha de coleta que permita a sua identificação para realização dos ensaios pretendidos.

A ficha de coleta deve conter no mínimo os seguintes dados:

- a) nome do técnico de amostragem;
- b) data e hora da coleta;
- c) identificação da origem do resíduo;
- d) identificação de quem receberá os resultados;
- e) número da amostra;
- f) descrição do local da coleta;
- g) determinações efetuadas em campo;
- h) determinações a serem efetuadas no laboratório;
- i) observações.

Deve-se informar ao laboratório que irá realizar os ensaios analíticos os riscos potenciais da amostra.

19.3. REQUISITOS ESPECÍFICOS

19.3.1. Segurança

As precauções de segurança devem sempre ser observadas na amostragem de resíduos. O técnico responsável pela amostragem deve estar atento para as características do resíduo, tais

como: corrosividade, inflamabilidade, explosividade, toxicidade, carcinogenicidade, radioatividade, patogenicidade etc. e, ainda, para a capacidade do resíduo de liberar gases extremamente venenosos ou causar alergias. Toda informação existente sobre o resíduo é útil na decisão sobre as precauções de segurança e na definição do equipamento de proteção a ser utilizado.

Quando for detectada a possibilidade de a amostragem ser de alto risco, o técnico de amostragem deve informar ao responsável pela elaboração do plano de amostragem a necessidade da reavaliação do plano, solicitando, se necessário, a presença de entidades especializadas para a manipulação do material. Como exemplo de situações de alto risco destacam-se: materiais radioativos, espaços confinados, risco de choques elétricos, desmoronamentos, explosões etc.

As seguintes práticas e regras de segurança devem ser seguidas sempre que for realizada uma amostragem:

- a) cada amostra deve ser tratada e manuseada como se fosse extremamente perigosa e os procedimentos devem minimizar o risco de exposição do pessoal envolvido;
- b) se for necessário o manuseio específico da amostra, o laboratório deve ser alertado;
- c) equipamento de proteção deve ser utilizado durante o manuseio de substâncias para preservação de amostras.

19.3.2. Procedimentos de amostragem

Esta subseção estabelece os procedimentos a serem adotados para a coleta de amostras representativas em função do tipo de acondicionamento do resíduo. O técnico de amostragem, antes de efetuar cada amostragem, deve certificar-se do estabelecido no plano de amostragem.

19.3.3. Amostragem em tambores e recipientes similares

Estes recipientes devem ser posicionados de tal maneira que a sua tampa ou batoque fique para cima.

A homogeneização ou não da amostra deve estar condicionada ao objetivo do plano de amostragem.

NOTA 1 Caso seja necessária a obtenção de amostra com diferentes fases, o conteúdo do recipiente deve ficar descansando até que os sólidos se depositem no fundo ou as fases se estratifiquem e entrem em equilíbrio.

NOTA 2 Caso seja necessária a obtenção de uma amostra homogênea, o conteúdo do recipiente deve ser homogeneizado.

A tampa ou batoque deve ser afrouxado, vagarosamente, com uma chave própria para abertura dos recipientes, a fim de que as pressões interna e externa se equilibrem. Logo após, remover a tampa ou batoque e amostrar o conteúdo, conforme amostrador recomendado na tabela A.3.

Quando existirem recipientes com diferentes resíduos, estes recipientes devem ser identificados e separados de acordo com os resíduos. Para cada grupo de resíduos deve-se obter uma amostra composta representativa.

NOTA 3 Os resíduos desses recipientes podem estar sob pressão ou vácuo. Os recipientes estufados devem ser amostrados com extrema cautela, pois o seu conteúdo pode estar sob elevada pressão. Um recipiente severamente corroído ou enferrujado pode romper-se quando manuseado. A abertura da tampa ou batoque pode produzir faísca, a qual detonará qualquer mistura explosiva de gás que exista no recipiente.

19.3.4.Amostragem em caminhão-tanque

A tampa do tanque deve ser aberta somente pelo motorista ou pessoa responsável pela carga.

O técnico de amostragem deve estar seguro no passadiço do tanque ou na escada de acesso ao tanque.

O conteúdo do tanque deve ser amostrado com o amostrador de resíduo líquido, conforme o estabelecido nas instruções do anexo B.

Se o tanque não estiver em posição horizontal, devem ser coletadas amostras adicionais da sua parte frontal e posterior, e todas as amostras devem ser homogeneizadas em um recipiente apropriado.

Quando for necessário, a amostra de sedimento deve ser coletada cuidadosamente através da válvula de purga.

NOTA O acesso à tampa do tanque dificulta a coleta de amostras em caminhões tanques. Recomenda-se que a coleta seja feita por duas pessoas, pois enquanto uma recolhe a amostra, a outra a auxilia com os equipamentos ou em qualquer problema que surja. Como o tanque está geralmente sob pressão ou vácuo, isto é um fator adicional de risco para os técnicos de amostragem.

19.3.5. Amostragem em recipiente contendo pó ou resídups granulados

Posicionar na vertical os recipientes contendo os resíduos.

Os recipientes devem ser abertos cuidadosamente.

O conteúdo do recipiente deve ser amostrado com o amostrador recomendado na tabela A.3.

Quando existirem recipientes com diferentes resíduos, estes recipientes devem ser identificados e separados. Para cada grupo de resíduos deve-se obter uma amostra composta representativa.

NOTA Quando houver risco de rompimento dos recipientes contendo resíduos, estes não devem ser manuseados ou transportados, pois podem romper-se, devendo por isso ser amostrados na posição em que se encontram.

19.3.6. Amostragem em lagoas de resíduos

Os resíduos devem ser amostrados por meio de um amostrador de lagoas recomendado na tabela A.3.

Para se retirarem amostras em várias profundidades, deve-se utilizar uma garrafa amostradora pesada ou amostrador similar, conforme as instruções do anexo B.

19.3.7. Amostragem em leitos de secagem, lagoas secas e solos contaminados

A área onde o resíduo estiver acumulado deve ser dividida em quadrículas imaginárias, conforme recomendado na tabela A.4.

Para a retirada de amostras de até 20 cm, pode-se utilizar uma pá ou trado, conforme o estabelecido nas instruções do anexo B.

Para a retirada de amostras de profundidades superiores a 20 cm, pode-se utilizar trado ou amostrador similar, conforme as instruções do anexo B.

NOTA Quando não for conhecida a espessura da camada de resíduos e os resíduos estiverem muito pastosos, pode ser necessária a construção de pranchas ou tablados para possibilitarem a retirada de amostras mais centrais da área de secagem.

19.3.8.Amostragem em montes ou pilhas de resíduos

Os pontos de amostragem devem ser determinados conforme recomendado na tabela A.4.

Deve-se coletar uma amostra composta utilizando-se o amostrador de montes ou pilhas recomendadas na tabela A.3.

19.3.9.Amostragem em tanques ou contêineres de armazenagem

As amostras devem ser coletadas da seguinte forma: uma amostra da parte superior do tanque, uma da parte central e uma da parte inferior, utilizando-se para isto uma garrafa amostradora pesada, conforme o mencionado nas instruções do anexo B.

As amostras obtidas devem ser misturadas em um recipiente e a amostra resultante deve ser considerada como composta.

NOTA Se for utilizado amostrador que represente adequadamente o perfil do tanque numa única amostragem, não há necessidade de composição de amostra.

19.3.10. Amostragem de resíduos sólidos heterogêneos

Para resíduos heterogêneos de fácil amostragem, deve-se preparar uma amostra respeitando as proporcionalidades dos diferentes resíduos, de forma a se obter uma única amostra composta representativa.

Para resíduos heterogêneos cuja representatividade não possa ser definida com uma única amostra, para a escolha do método e número de amostras, os Órgãos Estaduais ou Federais de controle da poluição e preservação ambiental, deverão ser consultados.

19.3.11. Preservação e tempo de armazenagem de amostras

As amostras de resíduos sólidos ou pastosos devem ser preservadas e armazenadas de acordo com a tabela A.1. As amostras de resíduos líquidos devem ser preservadas e armazenadas após a coleta, conforme tabela A.2.

NOTA Caso seja necessário analisar vários componentes que possuam métodos de preservação diferentes, a amostra inicial deve ser dividida em um número suficiente de alíquotas, sendo cada uma delas preservada separadamente.

19.4. ANEXO A

Tabela A.1 – Preservação e armazenagem de amostras sólidas

Parâmetro	Método de preservação	Tempo de armazenagem
Acidez	Refrigerar 4°C	-
Alcalinidade	Refrigerar 4°C	-
Bifenilas policloradas (PCB)	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Carbono orgânico total (TOC)	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	28 dias
Cianeto total	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Cloreto	-	-
Compostos orgânicos voláteis (VOC)	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Condutividade	Refrigerar 4°C	-
Cromo VI	Refrigerar 4°C	24 h
Dioxinas e furanos	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Fluoreto	-	-
Fosfato total	Refrigerar 4°C	-
Hidrocarboneto poliaromático (PAH)	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH)	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Mercúrio total	Refrigerar 4°C	28 dias
Metais totais	-	180 dias
Nitrato	Refrigerar 4°C	48 h
Nitrito	Refrigerar 4°C	48 h
Nitrogênio amoniacal	Refrigerar 4°C	48 h
Nitrogênio orgânico	Refrigerar 4°C	48 h
Orgânicos semivoláteis totais	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Pesticidas, herbicidas e inseticidas	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Solventes halogenados	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	14 dias
Sulfato	Refrigerar 4°C	
Sulfeto reativo	Refrigerar 4°C, em ausência de luz	24 h
Toxicidade	Refrigerar 4°C	24 h
NOTA 1 Quando o resíduo tiver mais de uma fase, a homogeneização ou separação de fases vai depender do objetivo do plano de amostragem. Caso as diversas fases devam ser separadas para caracterização, a preservação de cada fase deve seguir as recomendações das tabelas A.1 e A.2.		
NOTA 2 Não havendo a necessidade de separação de fases, considerar as recomendações da tabela A.1.		

Tabela A.2 – Preservação e armazenagem de amostras líquidas

Parâmetro	Método de preservação	Tempo de armazenagem
Acidez/alkalinidade	Refrigerar a 4°C	14 dias
Boro	Refrigerar a 4°C	180 dias
Brometo	-	28 dias
Carbono orgânico total (TOC)	Analisar imediatamente ou refrigerar e adicionar HCl, H ₃ PO ₄ ou H ₂ SO ₄ até pH < 2	28 dias
Cloreto	-	28 dias
Cianeto total	Adicionar NaOH até pH > 12, refrigerar a 4°C, em ausência de luz	14 dias; 24 h na existência de sulfeto
Cloro total/residual	-	imediatamente
Demandânia bioquímica de oxigênio (DBO)	Refrigerar a 4°C	48 h
Demandânia química de oxigênio (DQO)	Analisar assim que possível ou adicionar H ₂ SO ₄ até pH < 2; refrigerar a 4°C	28 dias
Dióxido de carbono (CO ₂)	-	24 h
Fenôis	Refrigerar a 4°C, adicionar H ₂ SO ₄ até pH < 2	7 dias
Fluoreto	-	28 dias
Fósforo total	adicionar H ₂ SO ₄ até pH < 2, refrigerar a 4°C	7 dias
Mercúrio	Adicionar HNO ₃ até pH < 2, refrigerar	28 dias
Metais	Adicionar HNO ₃ até pH < 2	180 dias
Nitrato	Refrigerar a 4°C	48 h; ou 28 dias para amostras cloradas
Nitrito	-	48 h
Nitrogênio amoniacal	Analisar assim que possível ou adicionar H ₂ SO ₄ até pH < 2; refrigerar a 4°C	28 dias
Nitrogênio orgânico (Kjeldahl)	Adicionar H ₂ SO ₄ até pH < 2, refrigerar a 4°C	28 dias
Óleos e graxas	Adicionar HCl ou H ₂ SO ₄ até pH < 2, refrigerar a 4°C	28 dias
Ortofosfato	Refrigerar a 4°C	48 h
pH	-	imediatamente
Salinidade	Analisar imediatamente ou utilizar frasco selado	180 dias
Silica	Refrigerar a 4°C	28 dias
Surfactantes analisados por azul-de-metíleno (MBAS)	Refrigerar a 4°C	24 h

Sulfato	Refrigerar a 4°C	28 dias
Sulfeto	Adicionar inicialmente quatro gotas de acetato de zinco 2N/100mL e logo após, adicionar NaOH até pH > 9 e resfriar a 4°C	7 dias
Temperatura	-	imediatamente

NOTA O parâmetro, o método de preservação e o tempo de amostragem foram extraídos da AWWA-APHA-WPCF - *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition, 1998*. Quando da elaboração desta Norma, a edição e o ano indicados eram os que se encontravam em vigor, entretanto, recomenda-se àqueles que utilizem esta Norma que verifiquem sempre a possível atualização do documento mencionado.

Tabela A.3 – Amostradores recomendados para cada tipo de resíduos

Tipo de resíduo	Amostrador recomendado	Limitações/recomendações
Líquidos ou lodos em tambores, caminhões-tanques, barris ou recipientes similares	Amostrador de resíduo líquido: - polietileno - vidro	Não usar para profundidades > 1,5 m Não usar resíduos incompatíveis com o material, tais como solventes Não usar vidro para resíduos contendo ácido fluorídrico ou soluções alcalinas concentradas
Líquidos ou lodos em tanques abertos ou lagoas	Caneca amostradora ou balde de inox	Afundar e retirar o amostrador suavemente para evitar que o tubo de duralumínio se amasse Não realizar amostragem em profundidade
	Garrafa amostradora pesada Garrafa amostradora de profundidades "Van Dorn"	A garrafa pode ser de uso problemático em líquidos muito viscosos
Sólidos em pó ou granulados em sacos, tambores, barris ou recipientes similares, montes ou pilhas de resíduos	Amostrador de grãos	Utilizar para sólidos com partículas de diâmetros < 0,6 cm
	Amostrador "trier"	Não é recomendado para materiais muito secos
Resíduos secos em tanques rasos e sobre o solo	Pá	Não usar para amostras a mais de 8 cm de profundidade
Resíduos em tanques rasos ou no solo, a mais de 20 cm de profundidade	Trado	-
Resíduos em tanques de armazenagem	Garrafa amostradora pesada Garrafa amostradora de profundidades "Van Dorn"	Pode ser de uso problemático em líquidos muito viscosos

¹⁾ Outros amostradores podem ser utilizados, desde que atendam às condições mínimas necessárias para garantir a integridade da amostra.

Tabela A.4 – Pontos de amostragem recomendados

Tipo de recipiente	Ponto de amostragem
Tambor ou contêiner com abertura na parte superior	Retirar a amostra através da abertura
Barris ou recipientes similares	Retirar as amostras pela parte superior dos barris, birmilhetas de fibras e similares Coletar as amostras de toda a seção vertical, em pontos opostos e em diagonal, passando pelo centro do recipiente (ver figura A.1)
Sacos e similares	Retirar as amostras pela parte superior, evitando fazer furos adicionais por onde o material possa vazar Coletar as amostras de toda a seção vertical, em pontos opostos e em diagonal, passando pelo centro do recipiente (ver figura A.1)
Caminhões-tanque e similares	Retirar as amostras através da abertura superior do tanque. Se for necessário, retirar a amostra de sedimentos através da válvula de purga Se o tanque for compartimentado, retirar as amostras de todos os compartimentos
Lagoas e tanques abertos	Dividir a área superficial em uma rede quadrículada imaginária. De cada quadrícula, retirar as amostras de maneira que as variações do perfil sejam representadas
Montes ou pilhas de resíduos ^{1,2)}	Retirar as amostras de pelo menos três seções (do topo, do meio e da base). Em cada seção, devem ser coletadas quatro aliquotas, equidistantes. O amostrador deve penetrar obliquamente nos montes ou pilhas (ver figura A.1)
Tanque e/ou contêiner de armazenagem	Retirar a amostra através de abertura própria. Para tanques e/ou contêiner com profundidades superiores a 1,5 m, retirar as amostras de maneira que as variações do perfil sejam representadas
Leitos de secagem, lagoas secas ou solo contaminado	Dividir a superfície em uma rede quadrículada imaginária. De cada quadrícula retirar uma amostra representativa da área contaminada

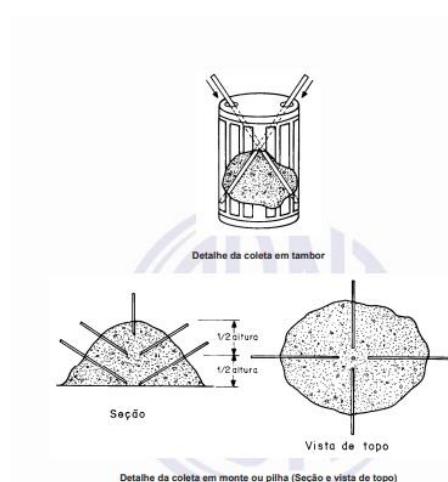


Figura A.1 - Pontos de retirada de amostras de montes ou pilhas e de sacos, barris, de resíduos ou similares.

19.5. ANEXO B

19.5.1. Amostrador de resíduo líquido

Este amostrador é constituído por um tubo e um sistema de fechamento, podendo ser feito de polietileno ou vidro. As dimensões e sistema de fechamento do amostrador de resíduo líquido são mostrados na figura B.1. O amostrador de polietileno é usado para quase todos os resíduos, com exceção de alguns solventes incompatíveis com o polietileno. O amostrador de vidro é usado para quase todos os resíduos, com exceção das soluções alcalinas fortes e soluções fortes de ácido fluorídrico.

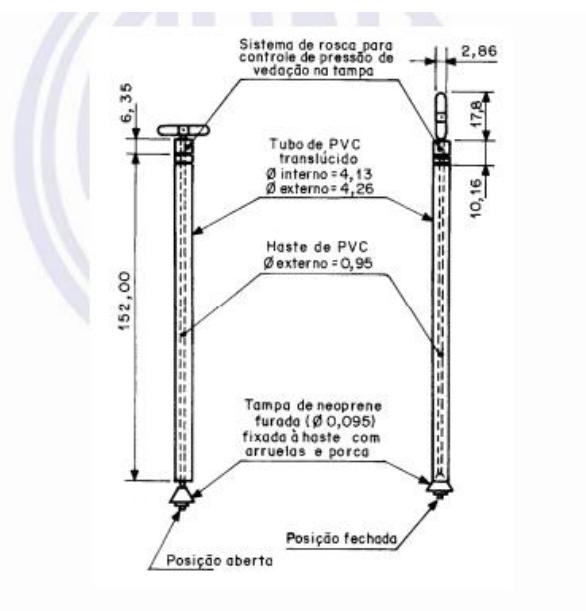


Figura B.1 – Amostrador de resíduo líquido

19.5.1.1. Procedimentos para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- escolher o amostrador de polietileno ou vidro apropriado para amostrar o resíduo líquido considerado;
- assegurar que o amostrador está descontaminado e/ou estéril;
- verificar se o amostrador está funcionando perfeitamente. Ajustar o mecanismo de fechamento para garantir uma vedação completa;
- usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- colocar o amostrador na posição aberta;
- introduzir vagarosamente o amostrador no líquido a ser amostrado;

- g) quando o amostrador atingir o fundo do recipiente, colocá-lo na posição fechada;
- h) retirar vagarosamente o amostrador do recipiente, procedendo à limpeza de sua parede externa; i) transferir cuidadosamente a amostra para um frasco de amostragem, abrindo lentamente o amostrador; j) preservar a amostra, se necessário;
- k) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- l) o amostrador de polietileno deve ser descartado e, quando for reutilizável, deve-se proceder à limpeza e descontaminação.

19.5.2. Amostrador de grãos

Este amostrador é feito com dois tubos telescópicos chanfrados, um externo e outro interno, geralmente de aço inoxidável ou material inerte descartável. O externo possui uma ponteira cônica que permite a introdução do amostrador na massa de resíduos a ser amostrada. O amostrador é aberto ou fechado pela rotação do tubo interno, possuindo as dimensões mostradas na figura B.2. Este amostrador é usado para resíduos em pó ou na forma granular com diâmetro inferior a 0,6 cm, acondicionados em sacos, tambores, barris, big bags e similares.

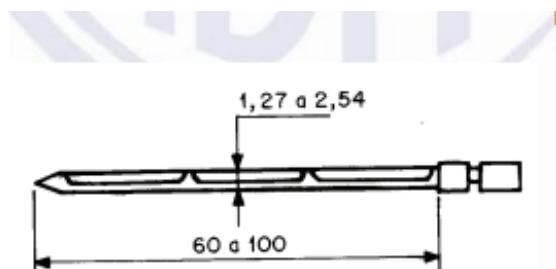


Figura B.2 – Amostrador de grãos

19.5.2.1. Procedimentos para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) verificar se o amostrador está descontaminado e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) colocar o amostrador na posição fechada e introduzi-lo no material;
- d) girar o tubo interior até posição aberta;
- e) agitar o amostrador algumas vezes para permitir que os materiais entrem pelas suas fendas;
- f) fechar o amostrador e retirá-lo do material, procedendo à limpeza da parede externa;

- g) colocar o amostrador na posição horizontal e com as aberturas para cima; h) girar e retirar o tubo interno;
- i) transferir a amostra coletada no tubo interno para um frasco de amostragem; j) preservar a amostra, se necessário;
- k) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- l) limpar o amostrador e embalá-lo em saco plástico para limpeza posterior;
- m) o amostrador de polietileno deve ser descartado e, quando for reutilizável, deve-se proceder à limpeza e descontaminação.

19.5.3. Amostrador de montes e pilhas – “trier”

Este amostrador é feito com um tubo longo de aço inox e possui uma parte chanfrada em quase todo o seu comprimento. A ponta e as bordas do chanfro são afiadas para permitir que o material a ser amostrado seja cortado quando o amostrador girar no interior da massa de resíduos. As dimensões do amostrador “trier” são mostradas na figura B.3, podendo sofrer alterações de acordo com a utilização. Este amostrador é usado de modo similar ao amostrador de grãos. Quando o pó ou material granular está úmido ou aglomerado, deve-se usar o amostrador “trier” e não o amostrador de grãos.

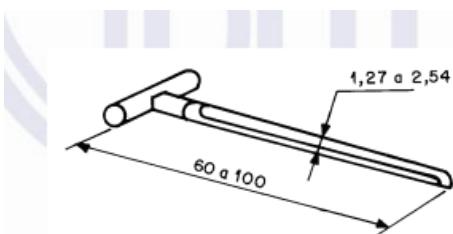


Figura B.3 – Amostrador “trier”

19.5.3.1. Procedimento para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) verificar se o amostrador está com as bordas convenientemente afiadas, descontaminado e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) introduzir o amostrador no material a ser amostrado, em um ângulo entre 0° e 45° com a horizontal;

- d) girar o amostrador uma ou duas vezes para cortar o material;
- e) retirar vagarosamente o amostrador do material, assegurando-se de que a sua abertura está para cima;
- f) transferir a amostra para um frasco de amostragem com o auxílio de uma espátula ou escova;
- g) preservar a amostra, se necessário;
- h) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- i) limpar o amostrador e embalá-lo em saco plástico para limpeza posterior;
- j) o amostrador de polietileno deve ser descartado e, quando for reutilizável, deve-se proceder à limpeza e descontaminação.

19.5.4. Pá

Este amostrador é um tipo de pá de jardineiro, com lâmina normalmente afiada. Um desenho desta pá é mostrado na figura B.4. Esta pá pode ser usada para coletar amostras de materiais granulares, amostras em recipientes rasos e amostras superficiais de solo.

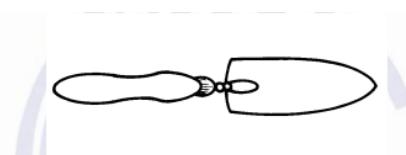


Figura B.4 – Pá

19.5.4.1. Procedimento para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) verificar se a pá está descontaminada e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) introduzir a pá no material a ser amostrado, retirando um volume de amostra suficiente;
- d) transferir a amostra para um frasco de amostragem com o auxílio de uma espátula;
- e) preservar a amostra, se necessário;
- f) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- g) limpar a pá e embalá-la em saco plástico.

19.5.5. Trado

Este amostrador é normalmente utilizado em sondagens de solo, podendo ser utilizado para amostragem de resíduos. O seu acionamento pode ser manual ou mecânico, e a preservação ou destruição do perfil do material a ser amostrado depende do tipo de broca utilizada.

O trado é particularmente útil na coleta de amostras a profundidades maiores que 20 cm. Um esquema de um trado é mostrado na figura B.5.

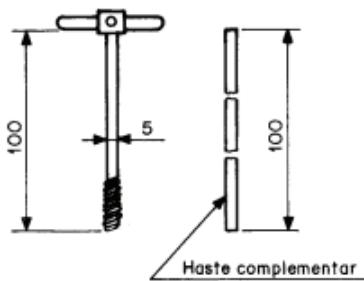


Figura B.5 – Trado

19.5.5.1. Procedimento para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) verificar se o trado está descontaminado e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) selecionar a broca adequada;
- d) colocar o trado sobre o ponto de amostragem;
- e) cravar até a profundidade de amostragem desejada;
- f) retirar o trado e transferir a amostra coletada para um frasco de amostragem; g) transferir a amostra para um frasco de amostragem com o auxílio de uma espátula; h) preservar a amostra, se necessário;
- i) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- j) limpar o trado e embalá-la em saco plástico.

19.5.6. Caneca com braço extensor

Este amostrador, utilizado para a coleta de resíduos líquidos em lagoas ou reservatórios, consiste em uma caneca suportada por uma braçadeira com um braço extensor, podendo atingir até 3,5 m. Um esquema do amostrador é mostrado na figura B.6.

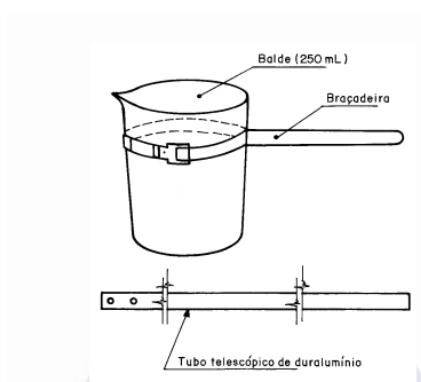


Figura B.6 – Amostrador de lagoas

19.5.6.1. Procedimentos para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) montar o amostrador e verificar se a caneca está descontaminada e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) verificar se os parafusos e porcas que prendem a braçadeira e a caneca à ponta do tubo estão convenientemente apertados;
- d) coletar as amostras da lagoa ou reservatório;
- e) transferir a amostra para um frasco de amostragem com o auxílio de uma espátula;
- f) preservar a amostra, se necessário;
- g) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- h) limpar o amostrador e embalá-lo em saco plástico.

19.5.7. Garrafa amostradora pesada

Este amostrador consiste em uma garrafa, um suporte pesado, uma rolha de material inerte e dois cabos: um para abrir a garrafa na profundidade desejada e outro para abaixar e suspender o amostrador¹⁾. Este amostrador, conforme figura B.7, é usado para amostrar líquidos em tanques de armazenagem, poços ou outros recipientes onde o uso do amostrador de resíduo

líquido não é apropriado. Não pode ser usado para coletar líquidos incompatíveis com o material do amostrador.

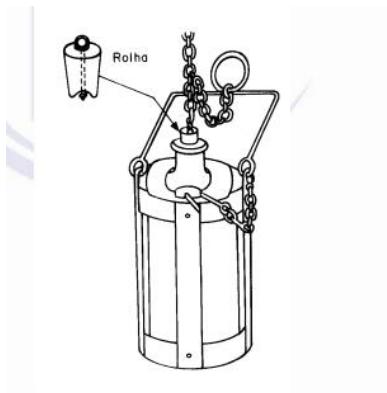


Figura B.7 – Garrafa amostradora pesada

19.5.7.1. Procedimento para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) montar o amostrador e verificar se está descontaminado e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) posicionar o amostrador na profundidade desejada e retirar a rolha da garrafa puxando o cabo de abertura;
- d) permitir que a garrafa se encha completamente, o que pode ser notado pelo desaparecimento das bolhas de ar;
- e) retirar o amostrador e transferir a amostra para um frasco de amostragem;
- f) preservar a amostra, se necessário;
- g) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- h) limpar o amostrador e embalá-lo em saco plástico.

NOTA A garrafa pode servir como frasco de amostragem.

19.5.8. Garrafa amostradora de profundidades “van dorn”

Este amostrador consiste em um cilindro aberto nas extremidades, um suporte pesado, duas rolhas de material inerte e um cabo com mensageiro. Este amostrador, conforme figura B.8, é usado para amostrar líquidos em tanques de armazenagem, lagoas ou coleções de água que

possuam grandes profundidades. Não pode ser usado para coletar líquidos incompatíveis com o material do amostrador.

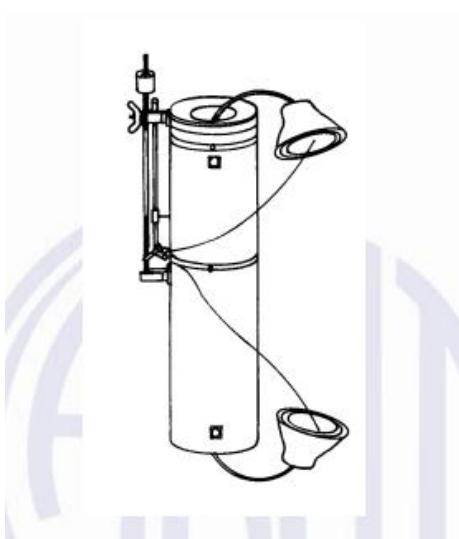


Figura B.8 – Garrafa amostradora de profundidade “Van Dorn”

19.5.8.1. Procedimentos para utilização

Proceder da seguinte maneira:

- a) montar o amostrador e verificar se está descontaminado e/ou estéril;
- b) usar os equipamentos de proteção individual adequados e executar os procedimentos de amostragem;
- c) posicionar o amostrador na profundidade desejada e soltar o mensageiro;
- d) retirar o amostrador e transferir a amostra para um frasco de amostragem;
- e) preservar a amostra, se necessário;
- f) tampar o frasco de amostragem, identificá-lo, preencher a ficha de coleta e enviar a amostra para o laboratório;
- g) limpar o amostrador e embalá-lo em saco plástico.

20. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA, PRESERVAÇÃO E PREPARO DE AMOSTRAS A SEREM UTILIZADAS EM ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

20.1. OBJETIVO

Este documento tem como objetivo estabelecer o Procedimento Operacional Padrão – POP, para coleta, preservação e preparo de amostras a serem utilizadas em ensaios ecotoxicológicos.

20.2. COLETA E PRESERVAÇÃO

20.2.1. Generalidades

Os técnicos envolvidos com o trabalho devem utilizar os equipamentos de proteção individual (EPI) adequados.

As coletas e os ensaios devem ser realizados por um técnico qualificado e/ou habilitado e/ou capacitado e/ou autorizado, conforme a legislação vigente.

No processo de obtenção da amostra, são requisitos mínimos os seguintes registros:

- a) identificação numérica ou nominal da amostra;
- b) identificação do responsável pela coleta;
- c) data e hora da coleta;
- d) natureza da amostra;
- e) localização geográfica (longitude e latitude), quando pertinente;
- f) identificação do ensaio a que se destina; e
- g) cadeia de custódia

A cadeia de custódia deve ser preenchida no momento da coleta e deve acompanhar as amostras até o laboratório. Este documento deve conter os dados que garantam a rastreabilidade da amostra desde o momento da coleta até o seu recebimento no laboratório.

A integridade da identificação da amostra deve ser mantida desde a coleta até o término do processo analítico.

Para a coleta e armazenamento da amostra, deve ser utilizado material que não interfira no resultado do ensaio.

O equipamento de amostragem deve ser cuidadosamente selecionado em função dos diferentes materiais que podem estar presentes no ambiente e também das análises a serem realizadas. Deve ser tomado o máximo de cuidado para evitar contaminação cruzada, espalhamento dos contaminantes, perda de compostos voláteis, mudança da composição devido à exposição ao ar e outras mudanças que possam ocorrer entre a amostragem e a realização dos ensaios.

As amostragens devem ser programadas junto ao laboratório responsável em função das especificidades de cada ensaio, priorizando a validade da amostra sem congelação.

A cada ponto amostrado, todo material não descartável a ser utilizado deve ser descontaminado, seguindo os procedimentos adequados em função da substância química de interesse (SQI) a ser investigada.

Para as amostras líquidas e de sedimento, os recipientes devem ser totalmente preenchidos para minimizar a presença de ar.

No caso de congelamento de amostras líquidas, se o recipiente estiver completamente preenchido, é necessário homogeneizar e desprezar uma pequena quantidade da amostra, para evitar a ruptura do recipiente.

Os recipientes plásticos utilizados para armazenar a amostra contendo contaminação orgânica, como pesticidas e óleos, devem ser descartados.

Vedar os recipientes corretamente e verificar possíveis vazamentos.

20.2.2. Recipiente, modo de preservação e prazo de validade, de acordo com a amostra

As informações sobre o recipiente, preservação e validade das amostras estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Recipiente, modo de preservação e prazo de validade com a amostra (continua)

Amostra	Recipiente	Preservação da amostra	Validade da amostra a partir da coleta	Observações
Águas	Frasco de vidro ^b ou plástico (polietileno de alta densidade, polipropileno ou outro polímero inerte)	Resfriar	12 h	Após o descongelamento, a amostra não pode ser recongelada
		Manter abaixo de 10 °C, sem congelamento	48 h	
		Congelar abaixo de -10 °C até 48 h após a coleta	60 dias	
Efluentes	Frasco de vidro ^b ou plástico (polietileno de alta densidade, polipropileno ou outro polímero inerte)	Resfriar	12 h	Após o descongelamento, a amostra não pode ser recongelada
		Manter abaixo de 10 °C, sem congelamento	36 h	
		Congelar ^a abaixo de -10 °C até 36 h após a coleta	60 dias	
Sedimentos	Frasco ou saco plástico com boca larga (polietileno de alta densidade)	Manter abaixo de 10 °C, sem congelamento	60 dias	A amostra não pode ser congelada

Tabela 1 (continuação)

Amostra	Recipiente	Preservação da amostra	Validade da amostra a partir da coleta	Observações
Solos	Frasco de vidro ou de plástico, ou saco plástico com boca larga ^b (polietileno de alta densidade)	Manter em temperatura ambiente (não exceder 25 °C)	60 dias	A amostra não pode ser congelada
Resíduos sólidos	Frasco de vidro ou de plástico, ou saco plástico com boca larga ^b (polietileno de alta densidade)	Manter entre 4 °C e 10 °C	60 dias ^c	O extrato deve ser utilizado em no máximo 24 h após o seu preparo. A amostra não pode ser congelada
Fluidos de perfuração/complementares	Frasco plástico com boca larga (polietileno de alta densidade) ou de vidro	Manter abaixo de 10 °C, sem congelamento	60 dias	Não realizar o ensaio caso a amostra apresente pontos pretos e odor de sulfeto de hidrogênio (H_2S) (indicativos de amostra degradada)
Óleos e derivados	Frasco de vidro âmbar ou incolor, ao abrigo da luz	Preservar a 20 °C ± 5 °C	Seguir as especificações do produto	Não preencher totalmente o recipiente para evitar ruptura
Óleos e derivados	Frasco de vidro âmbar ou incolor, ao abrigo da luz	Preservar a 20 °C ± 5 °C	Seguir as especificações do produto	Não preencher totalmente o recipiente para evitar ruptura
Produtos/Substâncias químicas	Frasco de vidro ou de plástico	Seguir as informações do fabricante		Na ausência de informações do fabricante, preservar em ambiente escuro, a 20 °C ± 5 °C

^a Quando não se conhece a interferência do congelamento na amostra, a opção de congelamento deve ser evitada. Os componentes de resíduos sólidos encontrados em efluentes (filtráveis e não filtráveis) se alteram com o congelamento e descongelamento (ver Referências [12], [15], [16] e [17] da Bibliografia).

^b Frascos de plástico não são apropriados para acondicionar amostras com contaminação orgânica, como pesticidas ou óleos. Deve-se evitar o uso de frascos de vidro para congelamento de amostras.

^c Mais especificações, com período de armazenamento correspondente para diferentes tipos de resíduos sólidos, podem ser consultadas na ABNT NBR 10007.

20.2.3. Limpeza do material

O material novo, exceto os descartáveis, deve ser limpo com solução de ácido nítrico 10 % ou solução de ácido clorídrico 10 %, e em seguida deve passar por limpeza com água de torneira e água processada.

A vidraria utilizada com amostras deve seguir uma sequência de limpezas sucessivas, com detergente e/ou sabão neutro não fosfatado, água de torneira, acetona, água de torneira novamente, solução de ácido nítrico 10 % ou solução de ácido clorídrico 10 %, e para o enxágue final, devem ser utilizadas água de torneira e água processada, ou máquina para limpeza de vidraria.

O material utilizado com substâncias químicas deve ser lavado com soluções adequadas.

A limpeza inadequada dos materiais pode influenciar no resultado do ensaio e na sobrevivência dos organismos.

20.3. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS DE COLETA

20.3.1. Águas

A amostragem de águas superficiais pode ser realizada por dois processos:

- a) manual: inserir o recipiente com a boca para baixo e coletar entre 15 cm e 30 cm abaixo da superfície da água. Inclinar o frasco lentamente para cima, para permitir a saída do ar e a entrada da água;
- b) equipamentos: a amostragem de água superficial pode ser realizada com balde de aço inoxidável. Garrafas do tipo Nansen, Niskin ou Van Dorn podem ser utilizadas tanto na amostragem da superfície de corpos d'água quanto em diferentes profundidades.

Em ambos os processos, o recipiente de armazenamento da amostra deve ser enxaguado com um pouco da amostra e posteriormente descartado, antes do seu preenchimento final.

No caso de amostragem conjunta de água e sedimento, a de água deve ser realizada antes da coleta do sedimento.

20.3.2. Efluentes

A amostragem de efluentes pode ser realizada manualmente ou com auxílio de equipamentos.

Em ambos os processos, o recipiente de armazenamento da amostra deve ser enxaguado com um pouco da amostra e posteriormente descartado, antes do seu preenchimento final.

A amostragem do efluente pode ser:

- a) simples: a amostra simples (pontual ou instantânea) é aquela coletada em uma única tomada de amostra, em um determinado instante, para a realização das determinações e ensaios. É recomendada quando a variação temporal da toxicidade do efluente é conhecida ou a vazão e a composição do líquido não apresentam variações qualitativas e quantitativas significativas. Dependendo da frequência, a amostragem simples, porém periódica, possibilita a identificação das variações de efeito tóxico;
- b) composta: a amostra composta é constituída por uma série de amostras simples, coletadas durante um determinado período e misturadas para constituir uma única amostra homogeneizada. É recomendada para minimizar o número de amostras a serem analisadas e, principalmente, quando há uma grande variação do volume da vazão e/ou da composição do efluente.

20.3.3. Sedimentos

A amostragem de sedimentos pode ser realizada manualmente, utilizando pás ou espátulas de material inerte, ou com auxílio de equipamentos como pegadores do tipo Ekman, Ponar, Van Veen, Petersen, Shipek, Kajak-Brinkhurst ou box corer, ou amostradores de testemunho (amostrador em tubo).

No caso de coleta com pegadores, utilizar a porção superior do sedimento (2 cm a 4 cm). Quando necessário, realizar várias pegadas para compor o volume suficiente de amostra, que deve ser homogeneizada com material inerte e armazenada.

Encher os recipientes até a capacidade total e transportá-los sob refrigeração, evitando-se o congelamento.

Armazenar o sedimento coletado em um recipiente fechado, no escuro, em temperatura abaixo de 10 °C, sem congelamento.

A secagem, o congelamento e o armazenamento sem refrigeração afetam a toxicidade da amostra.

No caso de amostragem conjunta de água e sedimento, a de água deve ser realizada antes da coleta do sedimento.

20.3.4. Solos

A amostragem do solo pode ser:

- Simples: as amostras são coletadas de um único ponto, utilizando trados manuais ou outras técnicas de amostragem similares;
- Compostas: as amostras são formadas por amostras pontuais de camadas ou frações homogêneas, podendo ser estratificadas ou agrupadas. Essas amostras são coletadas para avaliar a qualidade ou a constituição geral da área. Porções iguais de solo devem ser transferidas para um recipiente de tamanho e material adequados, onde deve ser feita a homogeneização. Posteriormente, deve-se fazer o quarteamento da amostra e transferi-la para um frasco apropriado (exceto para voláteis)

Além das técnicas de perfuração com o uso de trado, o solo superficial pode ser coletado utilizando pás ou espátulas de material inerte. Para a maioria dos tipos de solos, este método pode ser utilizado para amostragens superficiais de até 20 cm de profundidade. Não é recomendado o uso de retroescavadeira para a coleta de amostras de solo.

A amostragem com pás ou espátulas é recomendada para a coleta de solos contaminados com metais, pesticidas, bifenilos policlorados (PCB), hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP),

radionuclídeos, entre outros, não sendo aplicável à coleta de amostras com compostos orgânicos voláteis (COV).

A amostragem de solo com COV e/ou compostos orgânicos semivoláteis (COSV) deve ser realizada com amostradores tubulares de polipropileno (liner), por meio de cravação, minimizando as perdas durante a transferência da amostra para o frasco ou recipiente de coleta.

20.3.5. Resíduos sólidos

O resíduo sólido deve ser coletado utilizando amostradores de material inerte, como pás ou trados de aço inoxidável. A escolha do amostrador é condizente ao tipo de resíduo, que pode ser consultado na ABNT NBR 10007.

Para o armazenamento, utilizar frascos de polietileno de alta densidade e, preferencialmente, descartáveis. Quando os resíduos contiverem solventes em sua composição, devem ser utilizados frascos de vidro âmbar, com boca larga e tampa de material compatível com o resíduo.

20.3.6. Fluídios de perfuração

Amostras de fluídios de perfuração/complementares são coletadas com auxílio de recipiente adequado, conforme a Tabela 1.

A coleta deve ser realizada em pontos que garantam a homogeneidade da amostra, ou seja, de modo que seja garantido que os componentes do fluido estejam em suspensão.

Não é necessário o enxágue do recipiente de armazenamento com um pouco da amostra antes da coleta.

Caso o recipiente utilizado seja de plástico, recomenda-se o seu descarte após o uso.

20.3.7. Óleos e derivados

As amostras de óleos e de derivados são coletadas com auxílio de recipiente adequado, conforme a Tabela 1.

Não é necessário o enxágue do recipiente de armazenamento com um pouco da amostra antes da coleta.

20.4. PREPARO DE AMOSTRAS

A manipulação da amostra deve ser efetuada em local com temperatura ambiente entre 20 °C ± 5 °C.

Antes da manipulação da amostra, é recomendável o levantamento das suas características físicas, químicas e toxicológicas, de modo a serem observados os cuidados necessários.

Para a manipulação e o preparo da amostra, utilizar material que não interfira no resultado do ensaio.

Caso a amostra necessite de manipulação que altere as suas características originais, como, por exemplo, filtração, ajuste de pH e salinidade, realizar um ensaio em paralelo, sem ajustes.

20.4.1. Condições específicas

20.4.1.1. Águas e efluentes

Homogeneizar a amostra antes de utilizá-la no ensaio ecotoxicológico.

As amostras com materiais em suspensão podem ser submetidas à decantação em recipiente coberto. Após esse processo, utilizar o sobrenadante para o ensaio ecotoxicológico, evitando ressuspender a fração decantada.

Caso seja observada a presença de organismos predadores ou competidores que possam influenciar na resposta do organismo-teste, a amostra pode ser filtrada com malha entre 45 µm e 60 µm, para a remoção desses organismos.

20.4.1.2. Sedimento

O sedimento deve ser previamente homogeneizado antes de ser utilizado no ensaio ecotoxicológico.

20.4.1.2.1. Amostra integral

A amostra integral de sedimento é a porção da amostra que mantém as suas características físicas originais, não submetidas a tratamentos prévios.

Remover os organismos, materiais sintéticos ou naturais, como galhos e folhas, e outras partículas maiores que 1 cm, utilizando pinças ou um instrumento similar.

Não é recomendado peneirar o sedimento para esta finalidade, porque os contaminantes solúveis em água e as partículas finas de argila não sedimentadas podem ser perdidos.

Para garantir a integridade da amostra, o ensaio ecotoxicológico deve ser realizado o mais breve possível.

20.4.1.2.2. Amostra intersticial

Os métodos mais utilizados de extração da água intersticial são a centrifugação e a sucção, conforme descritas a seguir: a) centrifugação: deve ser realizada no mínimo a 2 000 g

1, durante 30 min. Repetir a centrifugação caso o sobrenadante permaneça turvo, ou seja, com material em suspensão visível. O volume do sobrenadante deve ser utilizado no ensaio ecotoxicológico, evitando ressuspender a fração decantada, b) sucção: consiste em uma seringa ou bomba acoplada a um tubo com comprimento variável que, inserido no sedimento, permite a sucção manual ou por vácuo. Uma pedra porosa, por exemplo, pode ser fixada na ponta do tubo para servir como filtro de partículas.

Esse procedimentos podem ser realizados em campo ou em laboratório.

Caso as amostras de água intersticial, obtidas após a sucção, permaneçam com materiais em suspensão, submeter à decantação em recipiente coberto ou centrifugar, no mínimo, a 2 000 g 1, durante 30 min. Repetir a centrifugação caso o sobrenadante permaneça turvo, ou seja, com material em suspensão visível. Após esse processo, utilizar o sobrenadante para o ensaio ecotoxicológico, evitando ressuspender a fração decantada. =

A extração da água intersticial deve ocorrer em até 48 h após a coleta do sedimento e ser mantida abaixo de 10 °C, sem congelamento. Caso o ensaio não seja iniciado nesse prazo, a água intersticial deve ser congelada a – 10 °C, por no máximo até 60 dias, a partir da data da coleta do sedimento.

Armazenar a água intersticial em frasco de vidro ou de plástico (polietileno de alta densidade, polipropileno ou outro polímero inerte), ao abrigo da luz.

A amostra de água intersticial só pode ser congelada após o processo de centrifugação. Após o descongelamento, a água intersticial não pode ser recongelada.

20.4.1.3. Elutriato

Os métodos mais utilizados de extração da água intersticial são a centrifugação e a sucção, conforme descritas a seguir: a) centrifugação: deve ser realizada no mínimo a 2 000 g 1, durante 30 min. Repetir a centrifugação caso o sobrenadante permaneça turvo, ou seja, com material em suspensão visível. O volume do sobrenadante deve ser utilizado no ensaio ecotoxicológico, evitando ressuspender a fração decantada; b) sucção: consiste em uma seringa ou bomba acoplada a um tubo com comprimento variável que, inserido no sedimento, permite a sucção manual ou por vácuo. Uma pedra porosa, por exemplo, pode ser fixada na ponta do tubo para servir como filtro de partículas.

Esse procedimentos podem ser realizados em campo ou em laboratório.

Caso as amostras de água intersticial, obtidas após a sucção, permaneçam com materiais em suspensão, submeter à decantação em recipiente coberto ou centrifugar, no mínimo, a 2 000 g 1, durante 30 min. Repetir a centrifugação caso o sobrenadante permaneça turvo, ou seja, com

material em suspensão visível. Após esse processo, utilizar o sobrenadante para o ensaio ecotoxicológico, evitando ressuspender a fração decantada. =

A extração da água intersticial deve ocorrer em até 48 h após a coleta do sedimento e ser mantida abaixo de 10 °C, sem congelamento. Caso o ensaio não seja iniciado nesse prazo, a água intersticial deve ser congelada a – 10 °C, por no máximo até 60 dias, a partir da data da coleta do sedimento.

Armazenar a água intersticial em frasco de vidro ou de plástico (polietileno de alta densidade, polipropileno ou outro polímero inerte), ao abrigo da luz.

A amostra de água intersticial só pode ser congelada após o processo de centrifugação. Após o descongelamento, a água intersticial não pode ser recongelada.

20.4.1.4. Solo

Remover da amostra os materiais sintéticos ou naturais, como galhos, folhas, pedras, entre outros.

20.4.1.4.1. Amostra integral

Se necessário, as amostras de solos podem ser secas em temperatura ambiente inferior a 25 °C, até que seja possível peneirar em malha ≤ 4 mm.

Dependendo do organismo-teste utilizado no ensaio ecotoxicológico, o solo pode ser defaunado. O processo de defaunação consiste em submeter a amostra a três ciclos de congelamento e descongelamento (48 h de congelamento e 48 h de descongelamento), totalizando 12 dias para o processo de defaunação.

Após este processo, o solo pode ser armazenado por um período máximo de 60 dias, à temperatura ambiente (não exceder 25 °C).

20.4.1.4.2. Elutriato

O procedimento para a obtenção do elutriato deve ser realizado à temperatura ambiente inferior a 25 °C.

O elutriato é obtido pela mistura de uma parte de solo (seco em temperatura ambiente) e quatro partes de água de diluição (1:4).

Essa mistura é submetida à agitação durante 20 h a 24 h, com velocidade de 150 r/min a 180 r/min.

Após a agitação, a mistura deve ser sedimentada por um período entre 1 h e 2 h. O sobrenadante retirado é centrifugado durante 30 min a 2 000 g. Evitar ressuspender a fração decantada.

NOTA Outras proporções sugeridas, como uma parte de solo e duas partes de água de diluição (ver ISO/TS 21268-1 [7]) e uma parte de solo e dez partes de água de diluição, podem ser testadas conforme a ISO/TS 21268-2.

Após o preparo do elutriato, este deve ser analisado imediatamente. Caso não haja a possibilidade de realizar o ensaio imediatamente, o extrato deve ser mantido em temperatura inferior a 10 °C (evitando o congelamento), não podendo ser ultrapassado o prazo de 24 h do preparo.

20.4.2. Produtos e substâncias químicas

Produtos/Substâncias solúveis podem ter as soluções-teste preparadas a partir de uma solução-estoque.

Produtos/Substâncias com baixa solubilidade podem ser dissolvidos ou dispersos utilizando ultrassom, dispersantes ou solventes, como, por exemplo, dimetilformamida, acetona, álcool isopropílico, acetonitrila, metanol, dimetilsulfoxido (DMSO), desde que a maior concentração do solvente ou dispersante utilizada no ensaio não cause efeito tóxico aos organismos-teste.

20.4.2.1. Fração acomodada em água (faa)

Definir as soluções-teste a serem utilizadas no ensaio ecotoxicológico.

Preparar cada solução-teste individualmente, pesando as quantidades especificadas da amostra e diluindo-as em água de diluição.

Manter cada solução-teste sob agitação magnética durante 30 min, com velocidade suficiente para ressuspender o material.

Decantar as soluções-teste durante 1 h e retirar, de cada uma, a fase aquosa a ser utilizada no ensaio ecotoxicológico. Evitar ressuspender a fração decantada.

20.4.2.2. Fração quimicamente dispersa (fqd)

Adicionar 500 mL de água de diluição no recipiente do agitador elétrico e, em seguida, ligar o aparelho na velocidade entre 12 000 r/min a 16 000 r/min.

Adicionar 500 µL de dispersante, mantendo a agitação durante 5 s. Retirar, imediatamente, o recipiente do agitador elétrico e colocá-lo no agitador magnético, de forma a garantir que seja mantida a agitação da solução.

Durante a retirada das alíquotas para o preparo das soluções-teste e para as análises químicas, manter a solução sob agitação lenta.

20.4.2.3. Fluídos de perfuração / complementares

Após o preparo da fração particulada suspensa (FPS), o extrato deve ser analisado imediatamente. Caso não haja a possibilidade de realizar o ensaio imediatamente, o extrato deve ser mantido em temperatura inferior a 10 °C (evitando o congelamento), não podendo ser ultrapassado o prazo de 24 h do preparo.

Para a extração da FPS, homogeneizar a amostra de fluido de perfuração/complementar na faixa de velocidade de 1 500 r/min ± 100 r/min, durante 15 min, utilizando o agitador de hélice móvel (ver Figura 1).

A FPS é obtida pela mistura de uma parte de amostra homogeneizada e nove partes de água de diluição (1:9).

Posicionar a hélice do agitador no centro do recipiente, a uma distância aproximada de 1 cm do fundo, e agitar a 150 r/min ± 10 r/min, durante 5 min.

Decantar o extrato durante 1 h e retirar o sobrenadante, evitando ressuspender a fração decantada.

Manter o extrato sob agitação lenta durante a retirada das alíquotas necessárias ao ensaio ecotoxicológico.

Quando necessário, filtrar ou centrifugar a 3 000 r/min, por 2 min.

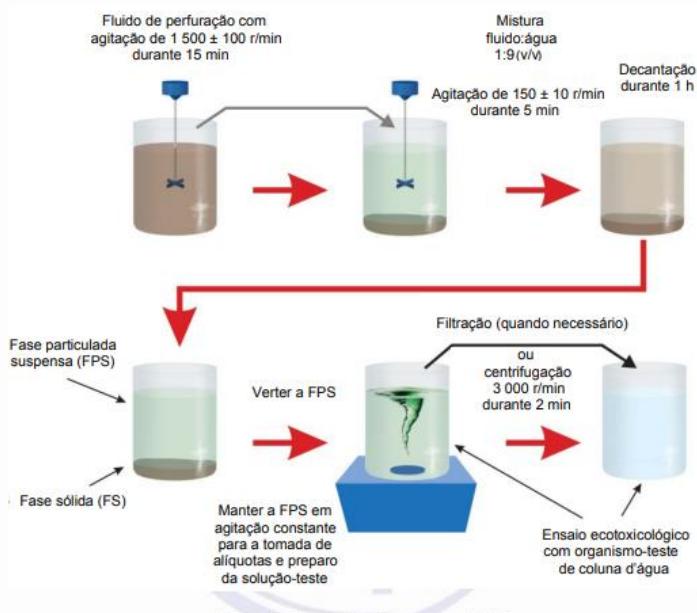


Figura 1 – Ilustração do preparo de FPS

20.4.2.4. Óleos e derivados

Para as amostras de óleo e de derivados, podem ser utilizados os seguintes métodos de extração: fração acomodada em água (FAA), fração solúvel em água (FSA), fração dispersa em água (FDA) e fração quimicamente dispersa em água (FQDA).

Após o preparo do extrato (FAA, FSA, FDA e FQDA), este deve ser ensaiado imediatamente. Caso não haja a possibilidade de realizar o ensaio imediatamente, o extrato deve ser mantido ao abrigo da luz entre as temperaturas de $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ e utilizado em no máximo 12 h após o preparo.

Para a caracterização ecotoxicológica de óleos e derivados, é imprescindível o cálculo prévio do volume do extrato que é necessário para a realização do ensaio, a determinação dos parâmetros físicos e químicos e as análises químicas do extrato.

É necessária a realização das seguintes análises químicas complementares nas frações: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) e n-alcanos.

20.4.2.5. Fração acomodada em água (faa)

Definir as soluções-teste a serem utilizadas no ensaio ecotoxicológico.

Preparar cada solução-teste individualmente, pesando as devidas quantidades da amostra e diluindo-as com água de diluição.

Manter cada solução-teste sob agitação magnética, durante 30 min, com velocidade suficiente para ressuspender o material.

Decantar as soluções-teste durante 1 h e retirar, de cada uma, a fase aquosa a ser utilizada no ensaio ecotoxicológico.

20.4.2.6. Fração solúvel em água (fsa)

A FSA é obtida pela mistura de uma parte de amostra e nove partes de água de diluição (1:9).

Adicionar ao recipiente de vidro primeiro o bastão magnético, em seguida a água e por último a amostra.

Tampar a boca do recipiente sem vedar totalmente, para garantir as trocas gasosas.

Colocar o recipiente sobre o agitador magnético e ajustar a velocidade de agitação, de forma que o vórtex formado não ultrapasse 25 % da altura da coluna de líquido (ver Figura 2).

Manter o recipiente ao abrigo da luz e em agitação durante $20\text{ h} \pm 10\text{ min}$.

Após o término da agitação, deixar em repouso durante 1 h. Em seguida, drenar somente a fase aquosa.

Manter o extrato sob agitação lenta durante a retirada das alíquotas, para ser utilizado no ensaio ecotoxicológico.

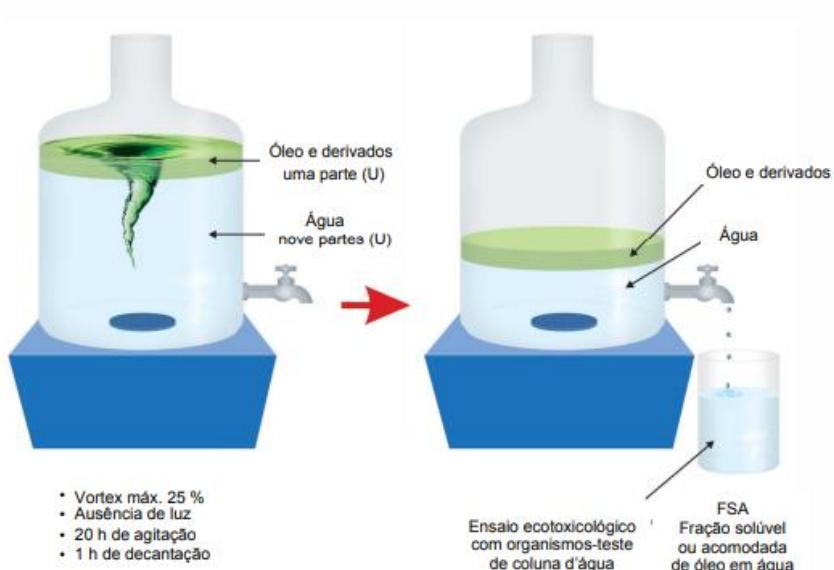


Figura 2 – Ilustração do método de Anderson et al., 1974 [18], para o preparo de FSA de óleo em água.

20.4.2.7. Fração dispersa em água (fda)

A FDA é obtida pela adição da amostra em água de diluição, a fim de obter a concentração final de 1 mL/L [19] ou outra desejada.

Com o auxílio de um agitador de hélice fixa, manter a água de diluição em agitação e adicionar a amostra, misturando durante 5 s, na velocidade entre 12 000 r/min e 16 000 r/min.

Manter o extrato sob agitação lenta durante a retirada das alíquotas, para ser utilizado no ensaio ecotoxicológico.

20.4.2.8. Fração quimicamente dispersa em água (fqda)

Colocar 550 mL de água no recipiente específico do agitador elétrico ou qualquer outro equipamento de mistura que garanta a velocidade e, em seguida, ligar o aparelho na velocidade entre 12 000 r/min a 16 000 r/min. adicionar, concomitantemente, 50 µL de dispersante e 500 µL de óleo, mantendo a agitação durante 5 s.

Retirar, imediatamente, o recipiente do agitador elétrico ou qualquer outro equipamento de mistura que garanta a velocidade, e colocar no agitador magnético, de forma que a solução seja mantida em agitação lenta. Manter o líquido no mesmo recipiente durante todo o procedimento.

Manter o extrato sob agitação lenta durante a retirada das alíquotas, para o preparo das soluções-teste e para as análises químicas.

20.4.3. Resumo do preparo de amostras

As informações sobre o procedimento de preparo adequado para diferentes amostras estão descritas, de maneira resumida, na Tabela 2.

Tabela 2 – Resumo do preparo de amostras

Natureza da amostra	Exemplo de amostra	Procedimento de preparo
Líquidos solúveis em água	Água Efluentes Produtos/substâncias químicas	Diluição direta
Sólidos solúveis em água	Produtos/substâncias químicas	Diluição direta
Líquidos com baixa miscibilidade em água	Petróleo Misturas de petróleo e dispersantes Derivados de petróleo	FAA, FSA, FDA e FQDA
	Produtos/substâncias químicas	FAA e FQDA
	Fluidos de perfuração/complementares	FPS
	Solos Sedimentos Borras Resíduos	Elutriato

20.5. REFERÊNCIAS

ABNT NBR 15469- Ecotoxicologia — Coleta, preservação e preparo de amostras.

21. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA DESENVOLVIMENTO, ANÁLISE CRÍTICA, ACEITAÇÃO, APLICAÇÃO E REVISÃO DOS PLANOS DE QUALIDADE

21.1. OBJETIVO

Este documento tem como objetivo estabelecer o Procedimento Operacional Padrão – POP, para o desenvolvimento, análise crítica, aceitação, aplicação e revisão dos planos da qualidade.

21.2. DESENVOLVIMENTO DE UM PLANO DA QUALIDADE

21.2.1. Identificação da necessidade de um plano da qualidade

Convém que as organizações identifiquem se existe a necessidade de um plano da qualidade. Existem várias situações onde os planos da qualidade podem ser úteis ou necessários, como, por exemplo, para:

- a) demonstrar como o sistema de gestão da qualidade da organização é utilizado em casos específicos;
- b) cumprir requisitos estatutários e regulamentares ou do cliente;
- c) desenvolver e validar novos produtos e processos;
- d) demonstrar, interna ou externamente, como satisfazer os requisitos da qualidade; e) organizar e gerenciar atividades para satisfazer os requisitos e alcançar os objetivos da qualidade;
- f) otimizar o uso de recursos para alcançar os objetivos da qualidade;
- g) minimizar os riscos de não cumprimento dos requisitos da qualidade;
- h) servir como base para monitorar e avaliar o cumprimento dos requisitos da qualidade; i) na ausência de um sistema de gestão da qualidade documentado.

NOTA Pode haver a necessidade de se preparar um plano da qualidade para casos específicos, ou não. Pode ser que uma organização com um sistema de gestão da qualidade seja capaz de atender às necessidades de planos da qualidade dentro de seu sistema; então, ela pode decidir que não há necessidade de preparar planos da qualidade em separado.

21.2.2. Dados de entrada do plano da qualidade

Quando a organização decidir desenvolver um plano da qualidade, convém que ela identifique os dados de entrada para preparar o plano da qualidade, como, por exemplo: a) os requisitos dos casos específicos;

- b) os requisitos do plano da qualidade, incluindo os das especificações do cliente, estatutárias, de normalização e da indústria;
- c) os requisitos do sistema de gestão da qualidade da organização;
- d) as avaliações de risco dos casos específicos;
- e) os requisitos de disponibilidade de recursos;
- f) as informações sobre as necessidades dos envolvidos nas atividades do plano da qualidade;
- g) informações sobre as necessidades de outras partes interessadas, que utilizarão o plano da qualidade;
- h) outros planos da qualidade pertinentes;
- i) outros planos pertinentes, tais como outros planos do empreendimento, planos de gestão ambiental, de saúde e segurança no trabalho, de segurança física e de informação.

21.2.3. Escopo do plano da qualidade

Convém que a organização determine o que é para ser coberto pelo plano da qualidade e o que está coberto ou é para ser coberto pelos outros documentos. Convém que seja evitada duplicação desnecessária. O escopo do plano da qualidade depende de vários fatores, incluindo:

- a) os processos e características da qualidade particulares aos casos específicos, e que, portanto, necessitaram ser incluídos;
- b) os requisitos dos clientes ou outras partes interessadas (internas ou externas) para inclusão de processos não especiais aos casos específicos, mas necessários para os clientes para terem confiança de que seus requisitos serão satisfeitos;
- c) até onde o plano da qualidade está suportado por um sistema de gestão da qualidade documentado.

Quando os procedimentos de gestão da qualidade não tiverem sido estabelecidos, eles poderão precisar ser desenvolvidos para dar suporte ao plano da qualidade.

A análise crítica do escopo do plano da qualidade junto aos clientes e outras partes interessadas pode trazer benefícios, como, por exemplo, facilitar seu uso do plano da qualidade para o monitoramento e medição.

21.2.4. Preparação do plano da qualidade

21.2.4.1. Início

Convém que a pessoa responsável pela preparação do plano da qualidade seja claramente identificada. Convém que o plano da qualidade seja preparado com a participação de pessoas envolvidas nos casos específicos, tanto de dentro da organização quanto partes externas, conforme a necessidade.

Quando for preparado um plano da qualidade, convém definir e, se necessário, documentar as atividades de gestão da qualidade que se aplicam aos casos específicos.

21.2.4.2. Documentação do plano da qualidade

Convém que o plano da qualidade contenha descrições de como realizar as atividades necessárias, ou então faça referência a procedimentos documentados apropriados ou a outros documentos (por exemplo, plano do empreendimento, instrução de trabalho, lista de análise crítica, aplicativo de computador).

Quando um requisito resultar em um desvio dos sistemas de gestão da organização, convém que esse desvio seja justificado e autorizado. Pode ser que a maior parte da

documentação genérica necessária já esteja incluída nos documentos do sistema de gestão da qualidade da organização, incluindo o manual da qualidade e procedimentos documentados.

Pode ser que esses documentos precisem ser selecionados, adaptados e/ou suplementados. Convém que o plano da qualidade mostre como são utilizados os procedimentos documentados genéricos da organização, ou outros documentos modificados ou ultrapassados pelos procedimentos do plano da qualidade. Pode ser que um plano da qualidade esteja inserido em um documento ou em vários documentos. Por exemplo, planos da qualidade de empreendimentos frequentemente fazem parte dos planos de gerenciamento do empreendimento (ver ABNT NBR ISO 10006).

21.2.4.3. Responsabilidades

Convém que, ao preparar o plano da qualidade, a organização discuta e defina os respectivos papéis, responsabilidades e obrigações, tanto dentro da organização como com o cliente, as autoridades regulamentadoras ou outras partes interessadas. Convém que aqueles que administrarem o plano da qualidade assegurem que as pessoas a que ele se refere saibam dos objetivos da qualidade e quaisquer assuntos ou controles exigidos pelo plano da qualidade.

21.2.4.4. Consistência e compatibilidade

Convém que o conteúdo e o formato do plano da qualidade sejam consistentes com o escopo do plano da qualidade, com as entradas do plano e com as necessidades dos usuários em potencial. Convém que o nível de detalhamento do plano da qualidade seja consistente com quaisquer requisitos acordados com os clientes, com o método de operação da organização e com a complexidade das atividades a serem realizadas. Convém que a necessidade de compatibilidade com outros planos seja também considerada.

21.2.4.5. Apresentação e estrutura

A apresentação do plano da qualidade pode ter várias formas, como, por exemplo, uma simples descrição em texto, uma tabela, uma matriz de documentos, um mapa de processos, um fluxograma de trabalhos ou um manual. Qualquer um destes, ou todos, podem ser apresentados em formato eletrônico ou em papel.

NOTA Exemplos de planos da qualidade são fornecidos no Anexo A.

O plano da qualidade pode ser dividido em vários documentos, cada um representando um plano para um aspecto distinto. É preciso que seja claramente definido o controle das interfaces entre diferentes documentos. Exemplos destes aspectos incluem projeto, compras, produção, controle de processos ou atividades específicas (como teste de aceitação).

No caso de uma organização desejar preparar um plano da qualidade que esteja de acordo com os requisitos da ABNT NBR ISO 9001, há no Anexo B uma matriz de referências cruzadas que serve como guia.

21.3. CONTEÚDO DO PLANO DA QUALIDADE

Convém que os exemplos e listas fornecidos nesta seção não sejam, sob hipótese alguma, considerados completos ou limitantes.

Convém que um plano da qualidade para casos específicos cubra os tópicos examinados abaixo, conforme apropriado. Pode ser que alguns tópicos deste guia não sejam aplicáveis, como, por exemplo, quando não houver projeto e desenvolvimento.

21.3.1. Escopo

Convém que o escopo esteja claramente definido no plano da qualidade. Convém que ele inclua:

- a) uma declaração simples do propósito ou resultado esperado do caso específico;
- b) os aspectos do caso específico aplicado, incluindo limitações específicas de sua aplicabilidade;
- c) as condições de sua validade (por exemplo, dimensões, amplitude de temperatura, condições de mercado, disponibilidade de recursos ou status de certificação dos sistemas de gestão da qualidade).

21.3.2. Dados de entrada do plano da qualidade

Pode ser necessário listar ou descrever os dados de entrada do plano da qualidade para facilitar, por exemplo,

- a referência a dados de entrada de documentos de usuários no plano da qualidade, — a verificação da consistência de documentos de entrada durante a manutenção do plano da qualidade, e
- a identificação de alterações nos documentos de entrada que podem levar à análise crítica do plano da qualidade.

21.3.3. Objetivo da qualidade

Convém que o plano da qualidade descreva os objetivos da qualidade para o caso específico e como alcançá-los. Os objetivos da qualidade podem ser definidos, por exemplo, em relação a

- características da qualidade para o caso específico,
- assuntos importantes para a satisfação do cliente ou de outras partes interessadas, e
- oportunidades de melhoria das práticas de trabalho. Convém que esses objetivos da qualidade sejam expressos em termos mensuráveis.

21.3.4. Responsabilidades da direção

Convém que o plano da qualidade identifique indivíduos na organização que sejam responsáveis, no caso específico, pelas seguintes tarefas:

- a) assegurar que as atividades requeridas para o sistema de gestão da qualidade ou contrato sejam implementadas e controladas e seu progresso monitorado;
- b) determinar a sequência e a interação dos processos aplicáveis ao caso específico;
- c) comunicar os requisitos a todos os departamentos e funções, clientes e subcontratados afetados, e resolver problemas que surjam nas interfaces entre esses grupos;
- d) analisar criticamente os resultados de quaisquer auditorias conduzidas; e) autorizar os pedidos de isenção de cumprimento dos requisitos do sistema de gestão da qualidade da organização;
- f) controlar ações corretivas e preventivas;
- g) analisar criticamente e autorizar alterações ou desvios do plano da qualidade.

As linhas de subordinação dos envolvidos na implementação do plano da qualidade podem ser apresentadas na forma de um fluxograma.

21.3.5. Controle de documentos e dados

Em relação aos documentos e dados aplicáveis ao caso específico, convém que o plano da qualidade descreva:

- a) como os documentos e dados serão identificados;
- b) por quem os documentos e dados serão analisados criticamente e aprovados;
- c) a quem os documentos devem ser distribuídos, ou sua disponibilidade divulgada; d) como obter acesso aos documentos e dados.

21.3.6. Controle de registros

Convém que o plano da qualidade descreva quais registros são recomendáveis e como serão mantidos. Esses registros podem incluir registros de análise crítica de projetos, registros de inspeção e testes, de medições de processo, ordens de serviço, desenhos e atas de reuniões. Entre os assuntos a serem considerados, incluem-se os seguintes: a) como, onde e por quanto tempo os registros serão mantidos;

- b) quais são os requisitos contratuais, estatutários e de regulamentação, e como serão cumpridos;
- c) em que tipo de mídia os registros serão mantidos (como d) como definir e cumprir requisitos como legibilidade, arquivamento, recuperação, disponibilidade e confidencialidade;
- e) quais métodos serão utilizados para assegurar que os registros estarão disponíveis quando necessário;
- f) que registros serão fornecidos ao cliente, quando e de que forma;
- g) quando for aplicável, em que língua os registros em texto serão fornecidos;
- h) o descarte dos registros.

21.3.7. Recursos

21.3.7.1. Provisão de recursos

Convém que o plano da qualidade defina o tipo e a quantidade de recursos necessários para que a execução do plano seja bem-sucedida. Entre estes, pode haver material, recursos humanos, infra-estrutura e ambiente de trabalho.

Quando um determinado recurso tiver um limite de disponibilidade, o plano da qualidade pode necessitar identificar como um número de produtos, empreendimentos, processos ou contratos que, ao mesmo tempo, exigem os mesmos recursos, serão satisfeitos.

21.3.7.2. Materiais

Quando existirem características específicas para materiais requeridos (matérias-primas e/ou componentes), convém que as especificações ou normas que os materiais têm que satisfazer estejam descritos ou referenciados no plano da qualidade.

21.3.7.3. Recursos humanos

Quando necessário, convém que o plano da qualidade especifique as competências particulares necessárias a cada atividade ou papel definido no caso específico. Convém que o

plano da qualidade defina a exigência de qualquer treinamento específico ou outras ações para os funcionários envolvidos.

Convém que seja incluído o seguinte:

- a) a necessidade e treinamento de novos funcionários;
- b) o treinamento de funcionários existentes em novos métodos, ou métodos revisados, operacionais.

Convém, também, que seja considerada a necessidade ou a aplicabilidade de estratégias de desenvolvimento e motivacional da equipe.

21.3.7.4. Infra-estrutura e ambiente de trabalho

Convém que o plano da qualidade defina os requisitos particulares do caso específico quanto à facilidade de fabricação ou serviço, local de trabalho, ferramentas e equipamento, informação e comunicação tecnológica, serviços de suporte e facilidades de transporte necessários para a sua realização com sucesso. Quando o ambiente de trabalho tiver um efeito direto sobre a qualidade do produto ou processo, o plano da qualidade pode necessitar especificar as características ambientais particulares como, por exemplo:

- a) o conteúdo de partículas em suspensão no ar em uma sala limpa;
- b) dispositivos de proteção eletrostática;
- c) proteção contra riscos biológicos;
- d) perfil da temperatura de um forno;
- e) luz e ventilação ambiente.

21.3.8. Requisitos

Convém que o plano da qualidade inclua ou faça referência aos requisitos a serem cumpridos no caso específico. Pode-se incluir um resumo dos requisitos para ajudar os usuários a compreender o contexto de seu trabalho, como, por exemplo, um esboço de um empreendimento. Em outros casos, pode haver necessidade de uma lista abrangente de requisitos, desenvolvida a partir de documentos de entrada.

Convém que o plano da qualidade declare quando, como e por quem os requisitos definidos para o caso específico serão analisados criticamente. Convém que o plano da qualidade também descreva como os resultados dessa análise crítica serão registrados e como os conflitos ou ambiguidades nos requisitos serão resolvidos.

21.3.9. Comunicação com o cliente

Convém que o plano da qualidade estabeleça o seguinte:

- a) quem é responsável pela comunicação com o cliente em casos específicos;
- b) os meios a serem usados para comunicar-se com o cliente;
- c) quando aplicável, formas de comunicação e pontos de contato para clientes ou funções específicas;
- d) os registros de comunicação com o cliente a serem mantidos;
- e) o processo a ser seguido no recebimento de um elogio ou reclamação por parte de um cliente.

21.3.10. Projeto e desenvolvimento

21.3.10.1. Processo de projeto e desenvolvimento

Convém que o plano da qualidade inclua ou faça referência ao(s) plano(s) para projeto e desenvolvimento. Convém que o plano da qualidade leve em conta os códigos, normas, especificações, características da qualidade e requisitos regulamentares pertinentes, quando aplicáveis, quando necessários.

Convém que ele identifique os critérios de aceitação dos dados de entrada e saída de projeto e desenvolvimento, e como, em que estágio (s) e por quem as saídas serão analisadas, verificadas e validadas.

O projeto e desenvolvimento é um processo complexo, portanto, convém buscar orientação de fontes apropriadas, incluindo os procedimentos da organização sobre projeto e desenvolvimento.

NOTA A ABNT NBR ISO 9004 fornece diretrizes gerais sobre o processo de projeto e desenvolvimento. A ABNT NBR ISO/IEC 90003 fornece diretrizes específicas para o setor de programa de computador.

21.3.10.2. Controle de alterações no projeto e desenvolvimento

Convém que o plano da qualidade estabeleça:

- a) como controlar os pedidos de alteração no projeto;
- b) quem está autorizado a colocar um pedido de alteração;
- c) como as alterações serão analisadas criticamente em termos do seu impacto;
- d) quem está autorizado a aprovar ou rejeitar as alterações;
- e) como verificar a implementação das alterações.

Em alguns casos, pode não haver requisitos de projeto e desenvolvimento. No entanto, pode também haver a necessidade de gerenciar as alterações em projetos existentes.

21.3.11. Compras

Convém que o plano da qualidade defina:

- a) as características críticas dos produtos adquiridos que afetam a qualidade do produto da organização;
- b) como essas características serão comunicadas aos fornecedores, para permitir o controle adequado em todo o ciclo de vida do produto ou serviço;
- c) os métodos de avaliação, seleção e controle dos fornecedores;
- d) requisitos e referências aos planos da qualidade dos fornecedores ou outros planos, quando apropriado;
- e) os métodos para atender aos requisitos pertinentes de garantia da qualidade, incluindo requisitos regulamentares que se aplicam aos produtos adquiridos;
- f) como a organização pretende verificar a conformidade dos produtos adquiridos com relação aos requisitos especificados;
- g) as instalações e serviços que serão subcontratados.

21.3.12. Realização de produtos e serviços

A realização de produtos e serviços, junto a processos pertinentes de monitoração e medição, geralmente forma a parte principal do plano da qualidade. Dependendo da natureza do trabalho, há diferenças entre os processos envolvidos. Por exemplo, um contrato pode envolver a fabricação, instalação e outros processos pós-entrega. A inter-relação entre os vários processos envolvidos pode ser efetivamente demonstrada preparando-se mapas de processo ou fluxogramas.

Pode ser que os processos de produção e serviços tenham de ser verificados, para assegurar sua capacidade de produzir a saída requerida; convém que tal verificação seja sempre realizada se a saída de um processo não puder ser verificada através de monitoramento ou medições posteriores.

Convém que o plano da qualidade identifique as entradas, as atividades de realização e as saídas requeridas para realizar a produção e/ou a entrega dos serviços. Quando for adequado, convém que o plano da qualidade inclua ou faça referência a:

- a) os passos do processo;
- b) os procedimentos documentados e as instruções de trabalho pertinentes;

- c) as ferramentas, técnicas, equipamento e métodos a serem usados para atender aos requisitos especificados, incluindo detalhes de qualquer certificação necessária de materiais, produtos ou processos;
- d) as condições requeridas e controladas para atender a condições preestabelecidas; e) os mecanismos para determinar a conformidade com tais condições, incluindo quaisquer controles de processo especificados, estatísticos ou outros;
- f) detalhes de quaisquer qualificações e/ou certificação de pessoal necessárias;
- g) critérios de acabamento ou de prestação de serviços;
- h) requisitos estatutários e regulamentares aplicáveis;
- i) códigos e práticas industriais.

Quando a instalação ou comissionamento for um requisito, convém que o plano da qualidade estabeleça como o produto será instalado e quais características têm que ser verificadas e validadas naquele momento.

Quando o caso específico incluir atividades pós-entrega (exemplo serviços de manutenção, suporte ou treinamento), convém que o plano da qualidade estabeleça como a organização pretende garantir a conformidade aos requisitos aplicáveis, tais como:

- a) estatutos e regulamentos;
- b) códigos e práticas industriais;
- c) competência do pessoal, incluindo estagiários;
- d) disponibilidade de suporte técnico inicial e contínuo, durante todo o período de tempo acordado.

NOTA Diretrizes sobre processos de empreendimento a serem gerenciados conforme esta seção são fornecidas na ABNT NBR ISO 10006.

21.3.13. Identificação e rastreabilidade

Quando for apropriado identificar produtos, convém que o plano da qualidade defina os métodos a serem utilizados. Onde houver requisitos de rastreabilidade, convém que o plano da qualidade defina seu escopo e extensão, incluindo como os produtos afetados serão identificados. Convém que o plano da qualidade estabeleça:

- a) como os requisitos contratuais, estatutários e regulamentares de rastreabilidade são identificados e incorporados nos documentos de trabalho;
- b) que registros relacionados com esses requisitos de rastreabilidade serão gerados e como eles serão controlados e distribuídos;

c) quais são os requisitos específicos e métodos de identificação do status de inspeção e de teste de produtos.

NOTA A identificação e a rastreabilidade são parte da gestão da configuração. Para mais informações sobre gestão da configuração, ver a ABNT NBR ISO 10007.

21.3.14. Procedimento do cliente

Convém que o plano da qualidade descreva

- a) como os produtos fornecidos pelo cliente (tais como material, ferramental, equipamento de teste, programas de computador, dados, informação, propriedade intelectual ou serviços) são identificados e controlados,
- b) que métodos devem ser usados para verificar se os produtos fornecidos por clientes atendem aos requisitos especificados,
- c) como os produtos não-conformes fornecidos por clientes serão controlados, e
- d) como produtos danificados, perdidos ou não apropriados serão controlados.

NOTA As diretrizes sobre segurança de informação estão disponíveis na ABNT NBR ISO/IEC 17799.

21.3.15. Preservação do produto

Convém que o plano da qualidade descreva:

- a) os requisitos de manuseio, estocagem, empacotamento e entrega de produtos, e como esses requisitos serão atendidos;
- b) se a organização for responsável pela entrega, como o produto será entregue no local especificado, de maneira a assegurar que as características requeridas não sejam degradadas.

21.4. ANÁLISE CRÍTICA, ACEITAÇÃO, IMPLEMENTAÇÃO E REVISÃO DO PLANO DA QUALIDADE

21.4.1. Análise crítica e aceitação do plano da qualidade

Convém que o plano da qualidade seja analisado criticamente quanto à sua adequação e eficácia e que ele seja aprovado formalmente por uma pessoa autorizada ou um grupo, que inclua representantes das funções pertinentes da organização.

Em situações contratuais, um plano da qualidade pode necessitar ser submetido ao cliente pela organização para análise crítica e aceitação, ou como parte de um processo de consulta antes da contratação, ou após um contrato ser formalizado. Uma vez que o contrato esteja

firmado, convém que o plano da qualidade seja analisado criticamente e, quando necessário, revisado, para refletir quaisquer alterações de requisitos que tenham ocorrido em virtude de consultas anteriores à assinatura do contrato.

Quando um projeto ou contrato for conduzido em estágios, espera-se que a organização submeta o plano da qualidade ao cliente a cada estágio, antes do início deste estágio.

21.4.2. Implementação do plano da qualidade

Na implementação do plano da qualidade, convém que a organização considere os seguintes aspectos:

- a) Distribuição do plano da qualidade Convém que o plano da qualidade seja distribuído a todas as pessoas pertinentes. Convém que se tenha cuidado em distinguir cópias que serão distribuídas com fornecimento de controle de documentos (a serem atualizadas conforme necessário) e aquelas que são fornecidas somente para informação.
- b) O treinamento do uso dos planos da qualidade Em algumas organizações, como, por exemplo, aquelas envolvidas em gerência de empreendimentos, os planos de qualidade podem ser usados como parte da rotina do sistema de gestão da qualidade. No entanto, em outras, os planos da qualidade só podem ser usados ocasionalmente. Neste caso, poderá haver a necessidade de treinamento especial para ajudar os usuários a aplicar o plano da qualidade corretamente.
- c) Monitoramento da conformidade com os planos da qualidade A organização é responsável pelo monitoramento da conformidade com cada plano da qualidade que ela opera. Isso pode incluir:
 - supervisão operacional dos acordos planejados,
 - análise crítica dos pontos principais, e
 - auditorias.

Quando se utilizam vários planos da qualidade de curto prazo, as auditorias geralmente são conduzidas com base em amostragem.

Quando planos da qualidade são submetidos aos clientes ou a outras partes externas, essas partes podem estabelecer condições para o monitoramento da conformidade com os planos da qualidade.

- Conduzido por partes internas ou externas, esse monitoramento pode auxiliar
- 1) na avaliação do comprometimento da organização com a implementação eficaz do plano da qualidade,

- 2) na avaliação da implementação prática do plano da qualidade,
- 3) na determinação onde riscos podem aparecer em relação aos requisitos do caso específico,
- 4) na tomada de ações preventivas ou corretivas quando for apropriado, e
- 5) na identificação das oportunidades de melhoria do plano da qualidade e atividades associadas.

21.4.3. Revisão do plano da qualidade

Convém que a organização revise o plano da qualidade:

- a) para refletir quaisquer modificações nos dados de entrada do plano da qualidade, incluindo
 - o caso específico para o qual o plano da qualidade é estabelecido,
 - os processos para a realização do produto,
 - o sistema de gestão da qualidade da organização, e
 - os requisitos estatutários ou regulamentares;
- b) para incorporar melhorias acordadas ao plano da qualidade. Convém que a análise crítica das alterações ao plano da qualidade seja feita por pessoa(s) autorizada(s), para avaliar seu impacto, adequação e eficácia.

Convém que as revisões do plano da qualidade sejam divulgadas a todos os envolvidos em seu uso. Convém que qualquer documento afetado pelas alterações do plano da qualidade seja revisado quando necessário.

Convém que a organização considere como e sob quais circunstâncias a organização autorizaria um desvio do plano da qualidade, incluindo

- quem terá a autoridade para solicitar esses desvios,
- como essa solicitação será feita,
- quais informações serão fornecidas e de que forma, e
- quem será identificado como tendo a autoridade e a responsabilidade para aceitar ou rejeitar tais desvios. Convém que um plano da qualidade seja tratado como um item de configuração e seja sujeito à gestão da configuração.

21.4.4. Realimentação e melhoria

Quando necessário, convém que a experiência adquirida na aplicação do plano da qualidade seja analisada criticamente e que as informações sejam utilizadas para melhorar planos futuros e o próprio sistema de gestão da qualidade.

22. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA OBTENÇÃO DE ESTRARO SOLUBILIZADO DE RESÍDUOS SÓLIDOS

22.1. OBJETIVO

Este documento tem como objetivo estabelecer o Procedimento Operacional Padrão – POP, para Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos.

22.2. APARELHAGEM

Como aparelhagem deve-se utilizar:

- a) agitador que possa evitar a estratificação da amostra por ocasião da agitação; submeter todas as partículas da amostra ao contato com a água e garantir a agitação homogênea durante o seu período de funcionamento;
- b) aparelho de filtração que permita a separação de todas as partículas de diâmetro igual ou superior a 0,45 µm;
- c) estufa de circulação de ar forçado e exaustão ou estufa a vácuo;
- d) medidor de pH;
- e) balança com resolução de ± 0,01 g.

22.3. REAGENTE E MATERIAIS

Como reagente e materiais devem-se utilizar:

- a) água destilada e/ou desionizada, isenta de orgânicos;
- b) frasco de 1 500 mL;
- c) membrana filtrante com 0,45 µm de porosidade;
- d) filme de PVC;
- e) peneira com abertura de 9,5 mm.

22.4. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

- Secar a amostra a temperatura de até 42°C, utilizando uma estufa com circulação forçada de ar e exaustão ou estufa a vácuo, e determinar a percentagem de umidade. 4.2. Colocar uma amostra representativa de 250 g (base seca) do resíduo em frasco de 1 500 mL.

NOTA 1 A operação deve ser realizada em duplicata.

NOTA 2 Pode-se utilizar o resíduo não seco, desde que ele represente 250 g de material seco; para isto, fazer a compensação de massa e volume.

NOTA 3 Se a amostra passar em peneira de malha 9,5 mm, ela estará pronta para a etapa de extração; caso contrário, ela deve ser triturada.

- Adicionar 1 000 mL de água destilada, desionizada e isenta de orgânicos, se a amostra foi submetida ao processo de secagem, e agitar a amostra em baixa velocidade, por 5 min.
 - Adicionar o volume necessário de água destilada, desionizada e isenta de orgânicos para completar 1 000 mL, se a amostra não foi submetida ao processo de secagem, e agitar a amostra em baixa velocidade, por 5 min.
 - Cobrir o frasco com filme de PVC e deixar em repouso por 7 dias, em temperatura até 25°C.
- 4.5 Filtrar a solução com aparelho de filtração guarnecido com membrana filtrante com 0,45 µm de porosidade.
- Definir o filtrado obtido como sendo o extrato solubilizado.
 - Determinar o pH após a obtenção do extrato solubilizado.
 - Retirar alíquotas e preservá-las de acordo com os parâmetros a analisar, conforme estabelecido no Standard methods for the examination of water and wastewater ou USEPA - SW 846 - Test methods for evaluating solid waste; Physical/Chemical methods.

NOTA No caso de análise de metais, deve ser feita a acidificação numa pequena alíquota. Caso ocorra a precipitação, não proceder à acidificação no restante da amostra. Utilizar parte do extrato não acidificado e analisar imediatamente.

- Analisar os parâmetros do extrato solubilizado de acordo com as metodologias descritas no Standard methods for the examination of water and wastewater ou USEPA - SW 846 - Test methods for evaluating solid waste; Physical/Chemical methods.

22.5. INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

- Os dados obtidos no procedimento devem constar em um laudo ou relatório emitido pelo laboratório, com as seguintes informações:
 - a) teor de umidade, em porcentagem;
 - b) pH medido no extrato solubilizado.

NOTA Eventuais observações referentes a este procedimento devem constar também no relatório.

- Para efeito de classificação de resíduos, comparar os dados obtidos com aqueles constantes no anexo G da ABNT NBR 10004:2004.

22.6. REFERÊNCIAS

ABNT NBR 10006:2004, Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos.

23. PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA ENSAIO COM DAPHNIA spp (CRUSTACEA, CLADOCERA)

23.1. OBJETIVO

Este documento tem como objetivo estabelecer o Procedimento Operacional Padrão – POP, para Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera).

23.2. APARELHAGEM

Os aparelhos necessários para o desenvolvimento do ensaio são:

- a) balança analítica;
- b) balão volumétrico;
- c) incubadora ou sala com controlador de fotoperíodo e de temperatura;
- d) medidor de condutividade (quando não acoplado ao equipamento);
- e) medidor de oxigênio dissolvido;
- f) medidor de pH;
- g) pipeta graduada;
- h) pipeta volumétrica;
- i) pipeta ou conta-gotas com diâmetro adequado para o manuseio dos organismos-teste;
- j) proveta;
- k) recipiente-teste;
- l) sais para o preparo de água reconstituída (quando aplicável);
- m) substância de referência, por exemplo, cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), dodecil sulfato de sódio (DSS);

- n) termômetro; e
- o) termômetro de máxima e mínima, quando não acoplado à incubadora.

23.3. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS (CONFORME ABNT NBR 7215:2019)

23.3.1. Solução – teste

- Preparar as soluções-teste em balões volumétricos no momento da realização do ensaio, utilizando as devidas proporções de amostra ou soluções-estoque e água de diluição.
- As soluções-teste devem estar na faixa de temperatura do ensaio no momento da transferência dos organismos.

Tabela 1 – Exemplos de preparo de soluções – teste para o ensaio com substâncias químicas

Solução-teste mg/L	Volume de solução-estoque 10,0 mg/L	Volume de solução-estoque 1,0 mg/L	Volume de água de diluição mL	Volume final mL
1,00	10 mL	–	90	100
0,50	5 mL	–	95	100
0,25	2,5 mL	–	97,5	100
0,13	1,3 mL	–	98,7	100
0,06	–	6 mL	94	100
0,03	–	3 mL	97	100
0,02	–	2 mL	98	100
0,01	–	1 mL	99	100

Tabela 2 – Exemplo de preparo de soluções – teste para ensaio com efluentes

Solução-teste %	Fator de diluição FD	Volume de amostra mL	Volume de água de diluição mL	Volume final mL
100	1	100	–	100
50	2	50	50	100
25	4	25	75	100
12,5	8	12,5	87,5	100
6,2	16	6,2	93,8	100
3,1	32	3,1	96,9	100

23.3.2. Ensaio preliminar

- Um ensaio preliminar pode ser realizado para estabelecer um intervalo de soluções-teste a ser utilizado no ensaio definitivo.
- Utilizar no mínimo cinco organismos-teste por réplica.
- Ao final do ensaio, é determinada a menor solução-teste que causa imobilidade a 100 % dos organismos e a maior solução-teste na qual não se observa imobilidade, ou seja, o organismo é incapaz de nadar na coluna d'água após uma leve agitação do recipiente.
- Também é considerado organismo imóvel aquele flutuante na superfície, mesmo que apresente movimento.
- No ensaio preliminar, o tempo de exposição dos organismos pode ser de até 48 h.
- O ensaio preliminar deve ser conduzido nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo do ensaio definitivo.

23.3.3. Ensaio definitivo

- Utilizando informações conhecidas da amostra ou o intervalo de concentrações estabelecido no ensaio preliminar, preparar uma série de soluções-teste intermediárias cuja razão de diluição esteja entre 1,2 e 2.
- Preparar um controle com o mesmo número de réplicas das soluções-teste, somente com água de diluição.
- Medir oxigênio dissolvido e pH no mínimo na maior e na menor concentrações das soluções-teste e no controle. Este procedimento deve ser realizado no início e ao final do ensaio.
- Para cada diluição e controle, devem ser adicionados no mínimo 20 organismos, distribuídos em pelo menos duas réplicas.
- No caso da determinação da CE50, utilizar no mínimo cinco soluções-teste, além do controle.
- Para amostra na qual se pretende obter o resultado qualitativo, não são necessárias diluições, mas devem ser utilizadas no mínimo quatro réplicas.
- Com o auxílio de uma pipeta ou conta-gotas, transferir os organismos de forma aleatória para as soluções-teste, evitando a alteração da concentração final. Exige-se tomar o cuidado de liberar o organismo o mais próximo possível da superfície da solução, sem toca-la. Evitar a entrada de ar sob sua carapaça e sua consequente flutuação.

- Os recipientes-teste devem ser cobertos. O ensaio deve ser mantido entre 18 °C e 22 °C durante 48 h, em ambiente escuro ou com fotoperíodo de 12 h às 16 h de luz difusa, sem alimentação.
- Após 48 h, contar o número de móveis e imóveis. Registrar o número de organismos imóveis.
- Algumas características da amostra, como, por exemplo, oxigênio dissolvido, pH e material particulado, podem interferir no resultado do ensaio. Caso seja necessário evidenciar a influência destas características, um ensaio em paralelo deve ser realizado, com modificações ou ajustes efetuados na amostra.

NOTA Valores de oxigênio dissolvido inferiores a 1,0 mg/L e pH fora da faixa entre 5,0 e 9,0 podem interferir no resultado do ensaio.

Tabela 3 – Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade com *Daphnia* ssp.

Requisitos	Espécie	
Organismo-teste	<i>Daphnia similis</i>	<i>Daphnia magna</i>
Idade dos neonatos	6 h a 24 h	2 h a 26 h
Ensaio	Estático	
Período de exposição	48 h	
Água de diluição	Água natural ou reconstituída	

Tabela 3 - Continuação

Requisitos	Especie
Volume mínimo da solução-teste/recipiente	10 mL (2 mL/organismo)
Número mínimo de soluções-teste ^a	Cinco, mais controle
Número mínimo de réplicas por solução-teste	Duas
Número mínimo de organismos por recipiente-teste	20
Temperatura	18 °C a 22 °C
Fotoperíodo	Escuro ou 12 h a 16 h de luz
Alimentação	Nenhuma
Efeito observado	Imobilidade
Expressão dos resultados	CE ₅₀ , FT ou tóxico e não tóxico

^a Não aplicável para resultados qualitativos e em FT.

23.3.4. Validação do ensaio

Os resultados são considerados válidos se, no término do período de ensaio, a porcentagem dos organismos imóveis no controle for inferior ou igual a 10 %.

23.4. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

O resultado pode ser expresso em CE50 (real ou nominal), em fator de toxicidade (FT) ou de forma qualitativa (tóxico ou não tóxico), referenciando o período de exposição do ensaio.

23.4.1. Análise dos dados

- Para cada réplica, determinar o percentual de organismos imóveis.
- Para análise dos dados, recomenda-se o uso de método estatístico que permita avaliar os efeitos da amostra em relação ao controle, na imobilidade dos organismos, como teste de hipóteses, interpolação gráfica, prova exata de Fisher, Probitas e Trimmed Spearman-Karber.

NOTA Além dos métodos estatísticos propostos, outros podem ser utilizados, se preenchidos os requisitos necessários para a sua aplicação. Algumas análises estatísticas são recomendadas e descritas em USEPA (2002).

23.4.2. Determinação da ce50

- A CE50 obtida estatisticamente é expressa em porcentagem (%) para efluentes líquidos e em unidade de concentração para substância química.
- Para o ensaio com substâncias químicas, quando a quantificação analítica nas soluções-teste, realizada no início e no término do ensaio, diferirem em mais de 20 %, os resultados devem ser expressos como CE (I)50.
- Para substâncias não quantificadas analiticamente, por exemplo, efluentes, o resultado deve ser expresso em CE (I)50.

23.4.3. Determinação do fator de toxicidade (ft)

- O fator de toxicidade (FT) é determinado quando o ensaio for realizado com uma série de diluições da amostra.
- O valor de FT não é calculável e deve ser expresso pelo valor de FD correspondente à maior concentração da amostra na qual não se observa imobilidade superior a 10 % dos organismos-teste.

EXEMPLO Se a maior concentração da amostra na qual se observa imobilidade inferior ou igual a 10 % dos organismos-teste corresponder a 25 % da fração do volume, o FT é igual a 4, que corresponde ao FD.

23.4.4. Determinação qualitativa

Para amostra sem diluição, se não houver diferença estatisticamente significativa entre o número de organismos imóveis em relação ao controle, o resultado deve ser expresso como não tóxico. Se houver diferença significativa, o resultado deve ser expresso como tóxico.

23.5. ELABORAÇÃO DO RELATÓRIO FINAL DO ENSAIO

O laudo ou relatório de ensaio deve incluir as seguintes informações:

- a) referência do método;
- b) nome e localização do laboratório de ensaio;
- c) identificação das pessoas responsáveis pelos resultados da análise;
- d) dados necessários para identificação da amostra e sua origem;
- e) data e hora da coleta da amostra e condições de preservação e armazenamento;
- f) data do início e término do ensaio;
- g) identificação da espécie e origem dos organismos-teste;
- h) data de coleta do organismo-teste e tempo de aclimatação, quando se aplica;
- i) dados físicos e químicos referentes ao ensaio;
- j) resultado do ensaio, com intervalo de confiança em nível de 95 %, quando apropriado, e método estatístico utilizado ou expresso de forma qualitativa;
- k) modificações introduzidas e eventuais ocorrências durante a realização do ensaio; e l) dados da carta-controle (média, e limites superior e inferior) e valor da sensibilidade referente ao ensaio.

23.6. REFERÊNCIAS

ABNT NBR 12713:2016, Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera).

23.7. ANEXOS

Anexo A – Cultivo de Daphnie Similis

23.7.1. Descrição da espécie

Daphnia similis Claus, 1876 (Crustacea, Cladocera) (ver Figuras A.1 e A.2), é um microcrustáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte.



Figura A1 – Exemplar de *Daphnie Similis* com 7 a 14 dias de idade.



Figura A2 – Exemplar de *Daphnie Similis* com 14 a 21 dias de idade.

23.7.2. Reagentes

Todos os reagentes utilizados no cultivo devem ser de grau analítico P.A.:

- ácido bórico (H₃BO₃);

- ácido cítrico monohidratado (C6H8O7.H2O);
- ágar-ágar;
- bicarbonato de sódio (NaHCO3);
- brometo de sódio (NaBr);
- cianocobalamina (vitamina B12);
- citrato de ferro pentahidratado (C6H5FeO7.5H2O);
- cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl2.2H2O);
- cloreto de cobalto hexahidratado (CoCl2.6H2O);
- cloreto de cobre di-hidratado (CuCl2.2H2O);
- cloreto de estrôncio hexahidratado (SrCl2.6H2O);
- cloreto de lítio (LiCl);
- cloreto de manganês tetrahidratado (MnCl2.4H2O);
- cloreto de potássio (KCl);
- cloreto de rubídio (RbCl);
- cloreto de zinco (ZnCl2);
- cloreto férrico hexahidratado (FeCl3.6H2O);
- dióxido de selênio (SeO2);
- EDTA (ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico);
- fosfato de potássio bibásico (K2HPO4);
- fosfato monobásico de potássio (KH2PO4);
- hidróxido de sódio (NaOH);
- iodeto de potássio (KI);
- metavanadato de amônio (NH4VO3);
- molibdato de amônia tetrahidratado (((NH4)6Mo7O24.4H2O);
- molibdato de sódio di-hidratado (Na2MoO4.2H2O);
- nitrato de cálcio tetrahidratado (Ca(NO3)2.4H2O);
- nitrato de manganês tetrahidratado (Mn(NO3)2.4H2O);
- nitrato de potássio (KNO3);
- nitrato de sódio (NaNO3);
- silicato de sódio (Na2SiO3);
- sulfato de cálcio di-hidratado (CaSO4.2H2O);
- sulfato de cobre pentahidratado (CuSO4.5H2O);

- sulfato de magnésio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$);
- sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$);
- sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$).

23.7.3. Água de cultivo e de diluição

- A água utilizada para cultivo e diluição pode ser reconstituída ou natural (de superfície ou subterrânea), desde que propicie a sobrevivência e a reprodução dos organismos-teste durante o período de cultivo, conforme os requisitos da Tabela A.1.

Tabela A1 – Requisitos da água de cultivo de *Daphnia Similis*.

Característica	<i>Daphnia similis</i>
Dureza total mg CaCO ₃ /L	40 a 48
pH	7,0 a 7,6

- Antes de utilizar a água, registrar os valores de oxigênio dissolvido, pH e dureza total.

NOTA A qualidade da água de cultivo e diluição pode ser avaliada indiretamente pelos resultados registrados na carta-controle de sensibilidade.

- A água reconstituída de cultivo e de diluição pode ser preparada conforme A.3.5, a partir das soluções descritas na Tabela A.2.

Tabela A2 – Soluções para preparo da água reconstituída de cultivo e de diluição.

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
1	CaSO ₄ · 2H ₂ O	1,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
2	KCl	0,2	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
	NaHCO ₃	4,8	
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	6,1	

- As soluções da Tabela A.2 devem ser preparadas em balões volumétricos e estocadas ao abrigo da luz.

- Preparar a água de cultivo adicionando 20 mL da solução 1 e 10 mL da solução 2 em 970 mL de água processada.
- Caso a dureza da água seja inferior a 40 mg CaCO₃/L, calcular o volume da solução 1 e da solução 2 a ser adicionado. Para cada miligrama de dureza a ser aumentado, deve ser acrescentado 0,5 mL da solução 1 e 0,25 mL da solução 2. Avolumar para 1 000 mL.
- Outra opção de água de cultivo e de diluição é o Meio MS que pode ser preparado conforme a Tabela A.4, a partir das soluções descritas na Tabela A.3.

Tabela A3 – Soluções para preparo do Meio MS.

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo	Armazenamento
1	NaNO ₃	10,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL	Até três meses em temperatura ambiente e ao abrigo da luz
	Na ₂ SiO ₃	1,718 3		
	KH ₂ PO ₄	1,812 5		
	K ₂ HPO ₄	2,0		
2	KCl	2,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL	Até um mês ao abrigo da luz, sob refrigeração
	MgSO ₄ .7H ₂ O	5,145 5		
3	CaCl ₂ .2H ₂ O	24,476 9	Dissolver e adicionar água processada para completar 500 mL	

Tabela A3 – Continuação

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo	Armazenamento
4 ^a	EDTA	2,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 2 000 mL	Até um mês ao abrigo da luz, sob refrigeração
	H ₃ BO ₃	2,8		
	FeCl ₃ .6H ₂ O	0,966		
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,36		
	LiCl	0,303 5		
	RbCl	0,071		
	SrCl ₂ .6H ₂ O	0,151 7		
	NaBr	0,032 1		
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,063		
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0,033 6		
	ZnCl ₂	0,026		
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,010 1		
	KI	0,003 3		
5	SeO ₂	0,001 4	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL	Até um mês, sob refrigeração
6	NH ₄ VO ₃	0,001 1	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL	Até seis meses, sob refrigeração
7	Vitamina B 12	0,001 0	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL	Máximo de 15 dias, congelada

^a A solução 4 por conter EDTA não pode ser exposta à luz solar ou radiação ultravioleta, pois é fotodegradável.

Tabela A4 – Volumes das soluções e água para preparo de 1L de Meio MS.

Solução	1	2	3	4	5	6	7	Água processada
Volume mL	5,0	5,0	1,0	4,0	1,0	1,0	1,0	982,0

- A água deve ser aerada para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH durante pelo menos 12 h após o preparo.
- Após a estabilização dos sais, caso a dureza da água seja superior a 48 mg CaCO₃/L, recomenda-se descartar e repetir o processo de preparo.
- Caso o pH da água não esteja entre 7,0 e 7,6, ajustar com solução de ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH).
- A água natural (superficial ou subterrânea), quando utilizada, deve ser filtrada para remoção de material particulado e organismos.

NOTA Para filtração pode ser utilizada rede de zooplâncton.

- A qualidade da água natural pode ser verificada por meio da realização de um ensaio de viabilidade, ou seja, exposição de no mínimo 20 organismos-teste distribuídos em pelo menos duas réplicas. O lote de água é aceitável para uso se a porcentagem de imobilidade for inferior ou igual a 10 % em 48 h de exposição.

23.7.4. Condições de cultivo dos organismos

- Manter as matrizes com até 25 organismos por litro, sendo adequados recipientes de 1 000 mL a 2 000 mL, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 12 h a 16 h de luz e temperatura entre 18 °C e 22 °C.
- Trocar totalmente a água de cultivo no mínimo uma vez por semana, evitando-se diferenças de temperatura maiores que 2 °C.
- No manuseio do organismo, utilizar pipeta de diâmetro adequado ao seu tamanho, com borda arredondada.
- Para garantir a disponibilidade contínua de organismos-teste para o ensaio, manter matrizes de diferentes faixas etárias. Recomenda-se iniciar novas matrizes de cultivo uma vez por semana.

- Caso ocorra mortalidade superior a 20 % dos organismos adultos no intervalo de uma semana, não utilizar no ensaio os neonatos produzidos neste lote.
- Condições ambientais desfavoráveis, incluindo superpopulação e falta ou excesso de alimento, influenciam o cultivo de *Daphnia similis*, podendo originar organismo macho. Neste caso, pode ocorrer efípio.
- Se dois ou mais efípios surgirem em uma matriz, não utilizar no ensaio os organismos neonatos produzidos neste lote e reavaliar o procedimento de cultivo.
- Recomenda-se o descarte das matrizes com idade superior a 28 dias. Considerando que a espécie não é autóctone, organismos vivos ou efípios não podem ser descartados ou lançados diretamente no ambiente.

23.7.5. Alimentação dos organismos

23.7.5.1. Condições gerais

- Várias espécies de algas verdes unicelulares podem ser utilizadas para alimentação de *Daphnia similis*, como, por exemplo, *Pseudokirchneriella subcapitata*. As algas podem ser cultivadas por qualquer método que seja adequado ao seu crescimento.
- Recomenda-se o fornecimento diário de alimento, evitando deixar os organismos por mais de dois dias consecutivos sem alimentação. Quando utilizada a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, a quantidade fornecida pode ser de 1 a 5×10^6 células por organismo.
- Pode ser fornecido aos organismos um complemento alimentar à base de ração fermentada ou outros meios nutritivos.

23.7.5.2. Cultivo de algas verdes unicelulares

A cultivo-estoque de algas verdes que serve como inóculo deve ser mantida entre 4 °C e 10 °C, em meio líquido ou sólido, de forma que se obtenham células viáveis para semeadura.

23.7.5.2.1. Preparo do meio de cultura para algas verdes unicelulares

O meio de cultura pode ser preparado a partir das soluções da Tabela A.5, utilizando os volumes apresentados na Tabela A.6.

Tabela A5 – Soluções para preparo do meio de cultura.

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
1	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 100 mL
2	KNO ₃	10,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 100 mL
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	3,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 100 mL
4	K ₂ HPO ₄	4,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 100 mL
5	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,030	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,060	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,060	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,060	
	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,060	
	C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O	0,060	
	H ₃ BO ₃	0,060	
6	C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O	1,625	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
	FeCl ₃ .6H ₂ O	0,625	
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,625	
7	NaHCO ₃	15,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL

- As soluções da Tabela A.5 devem ser estocadas entre 4 °C e 10 °C no máximo durante seis meses.
- Para preparar o meio de cultura, colocar 500 mL de água processada em um balão volumétrico de 1 000 mL e adicionar as soluções na ordem descrita na Tabela A.6.
- Completar para 1 000 mL com água processada e ajustar o pH do meio entre 6,0 e 8,0 com ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH).
- Agitar no mínimo durante 1 h e autoclavar durante 15 min a 121 °C. Deixar esfriar antes da utilização.

Tabela A6 - Volume das soluções para preparo de 1L do meio de cultura.

Solução	1	2	3	4	5	6	7
Volume mL	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	1,0

23.7.5.2.2. Preparo do cultivo – estoque em meio líquido

- A inoculação das algas deve ser realizada em meio asséptico, de modo que se obtenha aproximadamente 1×10^7 células por mililitro em um período de três a sete dias.

- Para o crescimento algáceo necessário, é recomendado que a relação entre superfície e volume de líquido no frasco de cultivo não ultrapasse os 3/4 do seu volume. Os cultivos podem ser mantidas entre 20 °C e 30 °C, sob iluminação constante e aeração. Planejar a produção de algas, de modo a se obterem cultivos em fase de crescimento.
- Antes de determinar a concentração da alga, que pode ser realizada por meio de câmara de contagem ou por meio de leitura em espectrofotômetro, recomenda-se centrifugar a suspensão algácea para retirar o excesso do meio de cultivo algáceo. Após a centrifugação, deve-se descartar o sobrenadante e ressuspender o material sedimentado com a água utilizada para o cultivo de *Daphnia similis*. Este procedimento evita a introdução de nutrientes que podem ser tóxicos aos organismos.

23.7.5.2.3. Preparo do cultivo – estoque em meio sólido

- Preparar o meio sólido adicionando no mínimo 30 g de ágar-ágár por litro de meio de cultura. Hidratar o ágar previamente neste meio. Após o preparo, distribuir o meio em recipiente adequado, como por exemplo, frascos de Erlenmeyer, tubo de ensaio etc. Autoclavar durante 15 min a 121 °C e deixar esfriar de forma inclinada para aumentar a superfície de contato.

NOTA A adição do ágar-ágár depende do meio de cultura utilizado.

- Inocular a alga de modo asséptico, deixando os frascos sob iluminação constante (luz fria) até o completo estabelecimento do cultivo, e estocar entre 4 °C e 10 °C pelo tempo que se mantiver viável. Não ultrapassar seis meses.

NOTA Quando utilizar as placas de Petri mantê-las invertidas para evitar a contaminação do meio, decorrente da água de condensação.

23.7.5.3. Preparo do alimento complementar

- O alimento complementar deve ser preparado misturando-se partes iguais das seguintes soluções:

Ração para peixe: colocar 5 g de ração em 1 000 mL de água processada, sob aeração, de forma que a ração fique em suspensão. Manter durante uma semana nestas condições, com reposição

da água perdida por evaporação. No final deste período, deixar decantar durante 2 h e filtrar em rede de zooplâncton;

Levedura: colocar 0,5 g de fermento biológico seco em 100 mL de água processada. Deixar em agitação até a dissolução total.

- Alternativamente, preparar o alimento com 10 g de ração para peixe em 1 000 mL de água processada, sob aeração, de forma que a ração fique em suspensão, durante 1 h. Deixar decantar durante 1 h e filtrar em rede de zooplâncton.
- O alimento complementar deve apresentar um teor de sólidos totais entre 2,5 g/L e 3,1 g/L. Nestas condições, é suficiente a adição de 0,02 mL de alimento por organismo.
- Este alimento complementar pode ser utilizado durante uma semana, se conservado entre 4 °C e 10 °C. Alternativamente, pode ser congelado durante um período máximo de um mês, desde que não seja adicionado o extrato de levedura.

Anexo B – Cultivo de Daphnie Magna

23.7.6. Descrição da espécie

Daphnia magna Straus, 1820 (Crustacea, Cladocera) (ver Figura B.1 e Figura B.2), é um microcrustáceo planctônico, de 5 mm a 6 mm de comprimento, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte.



Figura B.1 – Exemplar de *Daphnia magna* jovem

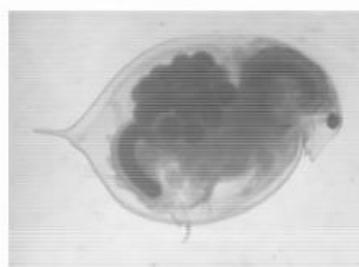


Figura B.2 – Exemplar de *Daphnia magna* adulta

23.7.7. Reagentes

Todos os reagentes utilizados no cultivo devem ser de grau analítico P.A.:

- ácido bórico (H₃BO₃);
- ácido clorídrico (HCl);
- ágar-ágar;
- bicarbonato de sódio (NaHCO₃);
- brometo de sódio (NaBr);
- cianocabalamina (vitamina B12);
- cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl₂.2H₂O);
- cloreto de cobalto hexahidratado (CoCl₂.6H₂O);
- cloreto de cobre di-hidratado (CuCl₂.2H₂O);
- cloreto de estrôncio hexahidratado (SrCl₂.6H₂O);
- cloreto de lítio (LiCl);
- cloreto de manganês tetrahidratado (MnCl₂.4H₂O);
- cloreto de potássio (KCl);
- cloreto de rubídio (RbCl);
- cloreto de sódio (NaCl);
- cloreto de zinco (ZnCl₂);
- D (+) Biotina;
- EDTA dissódico heptahidratado (Na₂EDTA.7H₂O);
- fosfato de potássio bibásico (K₂HPO₄);
- fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄);
- hidrocloreto de tiamina;
- hidróxido de sódio (NaOH);
- hidróxido de potássio (KOH);
- iodeto de potássio (KI);
- molibdato de sódio di-hidratado (Na₂MoO₄.2H₂O);
- nitrato de sódio (NaNO₃);
- nitrato de cobalto hexahidratado (Co(NO₃)₂.6H₂O);
- selenito de sódio (Na₂SeO₃);
- sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O);
- sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO₄.7H₂O);

- sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$);
- sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$);
- silicato de sódio (Na_2SiO_3);
- metavanadato de amônio (NH_4VO_3);
- EDTA dissódico di-hidratado ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$);
- óxido de molibdênio (MoO_3).

23.7.8. Água de cultivo e de diluição

- A água utilizada para cultivo e diluição pode ser reconstituída ou natural (de superfície ou subterrânea), desde que propicie a sobrevivência e a reprodução dos organismos-teste durante o período de cultivo, conforme os requisitos da Tabela B.1.

Tabela B1 – Requisitos da água de cultivo e de diluição de *Daphnia magna*.

Característica	<i>Daphnia magna</i>
Dureza total $mg\ CaCO_3/L$	175 a 225
pH	7,6 a 8,0

- Antes de utilizar a água, registrar os valores de oxigênio dissolvido, pH e dureza total.

NOTA A qualidade da água de cultivo e diluição pode ser avaliada indiretamente pelos resultados registrados na carta-controle de sensibilidade.

- A água reconstituída para cultivo e diluição pode ser preparada conforme B.4 e B.5, a partir das soluções descritas para o Meio M4 na Tabela B.2.

Tabela B2 – Soluções para preparo da água reconstituída para cultivo e diluição – Meio M4.

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
1	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	73,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
2	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	123,3	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
3	KCl	5,8	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
4	$NaHCO_3$	64,8	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL

Tabela B2 (Continuação)

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
5	MnO ₂ .4H ₂ O	7,21	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL.
	LiCl	6,12	
	RbCl	1,42	
	SrCl ₂ .6H ₂ O	3,04	
	CuCl ₂ .2H ₂ O ^a	0,335	
	ZnCl ₂ ^a	0,260	
6	CoCl ₂ .6H ₂ O ^a	0,200	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL.
	NaNO ₃	0,548	
	H ₃ BO ₃	5,719	
	NaBr	0,032	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,126	
	NH ₄ VO ₃	0,00115	
7	KI	0,0065	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL, deixando em agitação até oclareamento da solução.
	Na ₂ SeO ₃	0,00438	
8	Na ₂ EDTA.7H ₂ O ^b	0,500	Preparar as soluções separadamente, cada uma em 500 mL de água processada. Misturar as duas soluções e autoclaravar imediatamente a 121 °C durante 15 min
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1991	
9	KH ₂ PO ₄	0,286	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL.
	K ₂ HPO ₄	0,368	
	Hidrocloreto de tiamina	0,750	
10	Cianocabalamina (vitamina B12)	0,010	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL. Congelar em volume adequado no máximo até 30 dias
	D (+) Biotina	0,0075	

^a Pesar em vidro ou filme plástico. Não usar papel-alumínio.

^b O EDTA é fotodegradável.

- As soluções da Tabela B.2 devem ser preparadas em balões volumétricos e estocadas ao abrigo da luz entre 4 °C e 10 °C de temperatura.

NOTA Recomenda-se manter estas soluções estocadas no máximo durante seis meses.

23.7.9. Preparo da água de cultivo

- Para preparar 1 L de água de cultivo do Meio M4, utilizar os volumes apresentados na Tabela B.3 a partir das soluções da Tabela B.2 e completar com água processada.

Tabela B3 – Volume das soluções para o preparo da água reconstituída para cultivo – Meio

A4.

Solução	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume mL	3,2	0,8	0,8	0,8	0,1	0,5	0,2	5,0	0,5	0,1 ^a
^a Descongelar e adicionar imediatamente.										

- A água deve ser aerada para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH durante pelo menos 12 h após o preparo.
- Caso o pH da água não esteja entre 7,6 e 8,0, ajustar com solução de ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH).

23.7.10. Preparo da água de diluição

- Para preparar 1 L de água de diluição, utilizar os volumes apresentados na Tabela B.4 a partir das soluções da Tabela B.2 e completar com água processada.

Tabela B.4 – Volume das soluções para preparo da água de diluição.

Solução	1	2	3	4
Volume mL	3,2	0,8	0,8	0,8

- A água deve ser aerada para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH durante pelo menos 12 h, antes da sua utilização.
- Caso o pH da água não esteja entre 7,6 e 8,0, ajustar com soluções de ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH).

23.7.11. Condições de cultivo dos organismos

- Manter as matrizes com até 25 organismos por litro, sendo adequados recipientes de 2 000 mL a 3 000 mL, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 12 h a 16 h de luz e temperatura entre 18 °C e 22 °C.
- Trocar totalmente a água de cultivo no mínimo uma vez por semana, evitando-se diferenças de temperatura maiores que 2 °C.
- No manuseio do organismo, utilizar pipeta de diâmetro adequado ao seu tamanho, com borda arredondada ou peneira com malha de diâmetro que retenha os organismos maiores.
- Para garantir a disponibilidade contínua de organismos-teste para o ensaio, manter matrizes de diferentes faixas etárias. Recomenda-se iniciar novas matrizes de cultivo uma vez por semana.
- Caso ocorra mortalidade superior a 20 % dos organismos adultos no intervalo de uma semana, não utilizar no ensaio os neonatos produzidos neste lote.
- Condições ambientais desfavoráveis, incluindo superpopulação e falta ou excesso de alimento, influenciam o cultivo de *Daphnia magna*, podendo originar organismo macho. Neste caso, pode ocorrer efípio.
- Se dois ou mais efípios surgirem em uma matriz, não utilizar no ensaio os organismos neonatos produzidos neste lote e reavaliar o procedimento de cultivo.

- Recomenda-se o descarte das matrizes com idade superior a 60 dias. Considerando que a espécie não é autóctone, organismos vivos ou efípios não podem ser descartados ou lançados diretamente no ambiente.

23.7.12. Alimentação dos organismos

23.7.12.1. Condições gerais

- Vários tipos de algas verdes unicelulares podem ser utilizados para alimentação de Daphnia magna, como, por exemplo, Scenedesmus subspicatus, atualmente chamada de Desmodesmus subspicatus.
- Recomenda-se o fornecimento diário de alimento, evitando deixar os organismos por mais de dois dias consecutivos sem alimentação. Quando utilizada a alga Desmodesmus subspicatus, a quantidade fornecida pode ser de aproximadamente 106 células por mililitro por organismo.

23.7.12.2. Cultivo de algas verdes unicelulares

- Manter o cultivo-estoque de algas verdes que serve como inóculo entre 4 °C e 10 °C, em meio líquido ou sólido, de forma a obter células viáveis para semeadura.

23.7.12.3. Preparo do meio de cultura

- O meio de cultura pode ser preparado a partir das soluções da Tabela B.5, utilizando os volumes da Tabela B.6.

Tabela B.5 – Soluções para preparo do meio de cultura.

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
1	NaNO ₃	25,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
2	CaCl ₂ .2H ₂ O	2,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
4	K ₂ HPO ₄	7,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
5	KH ₂ PO ₄	17,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
6	NaCl	2,5	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL

Tabela B.5 (Continuação)

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
7	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	50,0	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL.
	KOH	31,0	
8	FeSO ₄ .7H ₂ O	4,98	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL. Acidificar a solução com 1 mL de HCl 1N
9	H ₃ BO ₃	11,42	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL
10	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,008 82	Dissolver e adicionar água processada para completar 1 000 mL.
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,001 44	
	MoO ₃	0,000 71	
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,001 57	
	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,000 49	

- Para preparar 1 L do meio de cultura, adicionar as soluções conforme a Tabela B.6, misturar e completar para 1 000 mL com água processada.
- Ajustar o pH do meio entre 7,0 e 7,2, com ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH). B.7.3.4 Autoclavar durante 15 min a 121 °C. Deixar esfriar antes da utilização.

Tabela B.6 – Volume das soluções para preparo de 1L do meio de cultura.

Solução	1 a 6	7 a 10
Volume mL	10	1

Anexo C – Carta-controle

- A carta-controle inicial pode ser elaborada com no mínimo cinco resultados de ensaios ecotoxicológicos com uma substância de referência, utilizando diferentes lotes de organismos. Com estes resultados, calcular os valores provisórios para média (\bar{x}) da CE50, o desvio-padrão (σ) e o coeficiente de variação ($CV < 30\%$) até que se completem 20 resultados e se obtenha os valores definitivos.
- Calcular dois desvios-padrão (2σ), superior e inferior à média obtida. Plotar no gráfico da carta-controle o valor médio e os limites, superior e inferior com linhas perpendiculares ao eixo que apresenta os resultados dos ensaios.
- A cada 20 resultados, recalcular os valores para estabelecer uma nova carta-controle.
- Para os cálculos mencionados em C.2, não utilizar os resultados de ensaio que ultrapassarem os limites da carta-controle ($\pm 2\sigma$) ao longo do tempo.

- Todos os procedimentos relacionados ao ensaio devem ser reavaliados quando:
 - a) Dois resultados consecutivos estiverem além dos limites definidos na carta-controle; ou
 - b) Sete resultados consecutivos estiverem de um mesmo lado da linha de tendência central.
- Durante o período de reavaliação dos procedimentos, não realizar ensaios com amostras até que se obtenha um resultado dentro dos limites da carta-controle.

24. ANEXO DE PREPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA

24.1. OBJETIVO

Meios de cultura desidratados fornecidos por diferentes fabricantes podem apresentar pequenas diferenças em suas composições.

Observar atentamente a quantidade necessária de meio desidratado, em gramas por litro de meio a ser preparado, o modo de preparo, o tempo e a temperatura de esterilização em cada caso.

Ao adquirir meios de cultura, observar atentamente a formulação, comparando-a com aquela indicada neste manual. Às vezes, as diferentes marcas utilizam diferentes termos para uma mesma substância. Por exemplo, os termos triptona e tripticase referem-se à peptona de caseína obtida por digestão triptica ou pancreática. Assim, os produtos Ágar tripticase soja, Ágar soja triptona, Caso Ágar (antigo Casoy) referem-se à um produto que contém peptona de caseína (obtida por digestão tríptica ou pancreática) e peptona de farinha de soja.

24.2. PREPARAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

- Os meios comerciais devem ser hidratados em pequena quantidade de água até que todo o meio fique úmido e só depois deve-se acrescentar o restante da água;
- Os meios preparados não comerciais devem ser pesados separadamente em papel manteiga ou papel alumínio e adicionados em um único frasco (normalmente em béquer), hidratar em pequena quantidade de água até que todo o meio fique úmido e só depois deve-se acrescentar o restante da água;
- Sempre que for necessário, levar o meio para fundir, usar vidro Pyrex®, aquecer sobre a tela de amianto ou similar e tripé, no bico de Bunsen ou, se permitido, em micro-ondas;
- Usar sempre luvas térmicas apropriadas para laboratório para manipular vidrarias quentes;

- Sempre que for usado o termo “esterilizar em autoclave”, o tempo de esterilização e a temperatura deve ser compatível com o meio a ser produzido, conforme orientação do fabricante;
- Sempre que for usado o termo “esterilizar por filtração”, usar o filtro com porosidade de 0,22 micra, recomendado para partículas bacterianas.
- Quando distribuir o meio antes de autoclavar, os tubos não precisam estar esterilizados;
- Quando distribuir o meio após a autoclavagem, os tubos, frascos, placas, pipetas e vidrarias ou materiais auxiliares obrigatoriamente devem ser estéreis;
- Os meios devem ser autoclavados com as tampas semiabertas, para que a esterilização seja por igual em todo o conteúdo dos tubos - tampas fechadas não permitem a entrada do vapor.

24.3. CONTROLE DE QUALIDADE, ESTERILIDADE E CRESCIMENTO

- Para controle dos meios confeccionados, incubar placas ou tubos não inoculados à $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas;
- Não deve haver mudança de cor nem crescimento de qualquer colônia;
- Para o controle de crescimento, sempre que possível usar cepas ATCC, que são cepas de referências de origem e padrão definido de provas para a sua caracterização;
- Se não for possível o uso de cepas ATCC, usar cepas 100% positivas para os controles de qualidade de crescimento realizados.

24.4. RECOMENDAÇÕES GERAIS

- Evitar usar meios vencidos (lioofilizados e prontos para uso); se usar, certificar-se com o controle de crescimento de que realmente está funcionando.
- Não usar meios prontos para uso em tubos ou placas que estejam ressecados.
- Observar com atenção para as instruções de alguns inóculos que são específicos para alguns meios de cultura.
- Recomenda-se o uso de tubos com tampa de rosca, pois evitam o ressecamento rápido do meio (tamanho dos tubos utilizados geralmente são de 11 por 100 mm).
- Todos os meios confeccionados devem ser devidamente identificados com o nome, data de fabricação e data de validade.
- Todos os meios de placa devem ser embalados em filme plástico PVC transparente para evitar o ressecamento.

- Evitar o uso de sacos plásticos para embalar as placas, pois a água de condensação formada facilita a proliferação de fungos; para meios de cultura em tubos, colocar em sacos plásticos, procurando tirar o excesso de ar. Convém guardar os tubos com meios preparados em sacos plásticos, para sua maior segurança.

25. ANEXO PARA PREPARO DA SUSPENSÃO INICIAL E DILUIÇÕES DECIMAS DE AMOSTRAS

25.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de preparo da suspensão inicial e das diluições decimais das amostras para análises microbiológicas.

25.2. MATERIAIS

- Álcool 70%;
- Algodão;
- Tubos de ensaio ou frascos com diluente apropriado, na quantidade necessária para a amostra (9 partes de diluente para uma parte de amostra);
- Ponteiras de 1 mL;
- Micropipetador de 1 mL;
- Agitador de tubos;
- Homogeneizador de amostras (Stomacher);
- Bico de Bunsen ou capela de fluxo laminar.

25.3. PROCEDIMENTO

1. Efetuar a pesagem da amostra, conforme IT MIC018;
2. Com a chama ligada, adicionar à bolsa com a amostra, o diluente na proporção indicada no item 4;
3. Homogeneizar no stomacher, observando a IT MIC012;
4. Se a amostra possuir grandes partículas, deixar descansar para que as mesmas sedimentem. Esta será a suspensão inicial.
5. Com auxílio de ponteira e micropipetador estéreis, subtrair 1 mL desta suspensão e repassar para um tubo de ensaio contendo o diluente apropriado;

6. Homogeneizar com o agitador de tubos (ver IT MIC015). Esta será a primeira diluição decimal, e a partir dela, serão feitas as sucessivas diluições, de acordo com a necessidade de cada amostra.

26. ANEXO PARA CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM PRODUTOS COM ATIVIDADE DE ÁGUA MENOR OU IGUAL A 0,95

26.1. OBJETIVO

Aplica-se à enumeração de bolores e leveduras em produtos cuja atividade de água seja menor ou igual a 0,95.

26.2. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

- ISO 6887- Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal – Preparação de amostras-teste, suspensão inicial e diluições decimais para análises microbiológicas.
- ISO 7218, Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal – Orientações gerais para análises microbiológicas.
- ISO 8261, Leite e produtos derivados – Guia geral para preparação de amostras-teste, suspensão inicial e diluições decimais para análises microbiológicas.
- ISO/TS 11133 - Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal – Orientações gerais na preparação e produção de meios de cultura.
- IT MIC018 e IT MIC019.

26.3. EQUIPAMENTOS

- Balança semianalítica;
- Agitador de tubos;
- Bico de Bunsen ou capela de fluxo laminar;
- Micropipetador de 0,1 a 1 ml;
- Incubadora a 25 °C +/- 1 °C.

26.4. REAGENTES E MATERIAIS

- Ágar base glicerol diclorano (dg18);
- Álcool 70%;
- Solução salina peptonada 0,1%;

- Algodão;
- Pinça, bisturi e cabo para este, estéreis;
- Saqueta plástica estéril;
- Ponteira de 1 ml estéril;
- Alça de drigalski estéril;
- Placas de petri.

26.5. PROCEDIMENTO

26.5.1. Conceitos

26.5.1.1. Colônia

Acúmulo de massa microbiana localizada e visível desenvolvida sobre ou dentro de meio nutriente sólido a partir de uma partícula viável.

26.5.1.2. Leveduras

Microrganismos aeróbicos mesofílicos, os quais, a 25°C em meio ágar micológico sob as condições estabelecidas nesta parte da ISO 21527, desenvolvem colônias redondas, foscas ou não, sobre a superfície do meio, geralmente possuindo borda regular e superfície medianamente convexa.

26.5.1.3. Bolores

Microrganismos filamentosos, mesofílicos e aeróbicos, os quais, em meio ágar micológico sob as condições estabelecidas nesta parte da ISO 21527, desenvolvem propágulos/gametângios ou colônias, achataados ou aveludados, geralmente com corpos de frutificação ou esporos coloridos.

26.5.2. Pesagem e preparo de amostras

Pesar a amostra e/ou efetuar sua suspensão inicial e suas diluições decimais conforme necessidade.

26.5.3. Inoculação em placas

Dispensar 0,1 mL de amostra na superfície do ágar nas placas de petri identificadas. Espalhar o inóculo com alça de drigalski.

26.5.4. Incubação

Incubar as placas de petri sem inverter a 25 +/- 1 °C, durante 5 a 7 dias. No caso de suspeita de Xeromices bisponi, incubar por 10 dias.

26.5.5. Contagem de Colônias

Contar as colônias presentes nas placas contendo até 150 colônias. Bolores e leveduras devem ser contados separadamente.

26.5.6. Expressão dos resultados

Expressar o resultado em UFC/mL ou UFC/g.

NOTA: manipular as placas com cuidado devido a facilidade da dispersão de esporos no ar.

27. ANEXO PARA CONTAGEM TOTAL DE MICROORGANISMOS EM ÁGUA UTILIZANDO O MEIO ÁGAR NUTRIENTE

27.1. OBJETIVO

Aplica-se à enumeração de bactérias em água potável tratada, incluindo também águas minerais engarrafadas.

27.2. DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

- ISO 6887- Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal – Preparação de amostras-teste, suspensão inicial e diluições decimais para análises microbiológicas.
- ISO 7218, Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal – Orientações gerais para análises microbiológicas.
- ISO 8261, Leite e produtos derivados – Guia geral para preparação de amostras-teste, suspensão inicial e diluições decimais para análises microbiológicas.
- ISO/TS 11133 - Microbiologia de alimentos e de produtos de alimentação animal – Orientações gerais na preparação e produção de meios de cultura.
- IT MIC018 e IT MIC019.

27.3. EQUIPAMENTOS

- Balança semianalítica;

- Agitador de tubos;
- Bico de Bunsen ou capela de fluxo laminar;
- Micropipetador de 0,1 a 1 ml;
- Estufa bacteriológica a 22 °C +/- 1 °C, e a 36 °C +/- 1 °C.

27.4. REAGENTES E MATERIAIS

- Ágar Nutriente – Extrato de levedura;
- Álcool 70%;
- Solução salina peptonada 0,1%;
- Algodão;
- Placas de petri.

27.5. PROCEDIMENTO

27.5.1. Pesagem e preparo de amostra

Efetuar a suspensão inicial da amostra e suas diluições decimais conforme necessidade.

27.5.2. Inoculação em placas

Dispensar 1 mL de amostra em duplicata em placas de petri identificadas. Verter de 15 a 20 mL de ágar sobre a amostra, homogeneizar e esperar a solidificar em superfície plana.

27.5.3. Incubação

Incubar a metade das placas de petri invertidas a 36 +/- 1 °C, durante 44 +/- 4 horas, e a outra parte a 22+/- 1 °C, durante 68 +/- 4 horas.

27.5.4. Contagem das colônias

Contar as colônias presentes nas placas e calcular o número estimado de colônias presentes em 1 mL de amostra.

27.5.5. Expressão dos resultados

Expressar o resultado em UFC/mL.

Não havendo crescimento bacteriano, expressar os resultados como não detectados em 1 mL. Havendo mais de 300 colônias nas placas com as maiores diluições, expressar o resultado como >300.

28. ANEXO PARA PESAGEM DE AMOSTRA

28.1. OBJETIVO

Descrever o procedimento de pesagem de amostras para análise microbiológica. A pesagem correta das amostras é de suma importância para a inocuidade da amostra e sua proporcionalidade em relação ao diluente.

28.2. MATERIAIS

- Álcool 70%;
- Algodão;
- Colher estéril, pinça estéril, cabo e lâmina de bisturi estéreis (de acordo com a amostra a ser pesada);
- Bolsa plástica estéril;
- Balança de precisão;
- Bico de Bunsen ou capela de fluxo laminar.

28.3. PROCEDIMENTO

1. Desinfetar com algodão e álcool 70% e ligar a balança conforme IT MIC004;
2. Ligar a chama, ou utilizar a capela de fluxo laminar, seguindo a IT MIC006;
3. Próximo à chama, ou com a exaustão da capela ligada, pesar, em uma bolsa estéril uma quantidade de amostra representativa de, no mínimo 10 g ou 10 mL, variando em, no máximo 5% do valor pesado, para menos ou para mais;
4. Fechar assepticamente a bolsa e repetir com as demais amostras;
5. Desligar a balança.

29. ANEXO PARA LAVAGEM, PREPARO E ESTERILIZAÇÃO DE MATERIAIS PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

29.1. OBJETIVO

Descrever a relação de materiais utilizados nos procedimentos analíticos do Laboratório de Microbiologia bem como o seu preparo e esterilização.

29.2. MATERIAIS

- Álcool 70%;
- Algodão hidrófilo e algodão hidrófobo;
- Autoclave;
- Balança analítica;
- Bastões de vidro;
- Destilador;
- Deionizador para água, ou aparelho de osmose reversa;
- Escovetes de diversos tamanhos;
- Esponjas de aço e de fibra sintética;
- Espátulas de aço inoxidável;
- Estufa de esterilização e secagem, equipada com termômetro;
- Papel alumínio ou papel Kraft;
- Luvas de amianto e luvas de borracha;
- Provetas graduadas de 1000 mL, 500 mL, 250 mL e 100 mL de borossilicato ou vidro neutro;
- Tesoura;
- Pinça de aço inoxidável;
- Indicadores de esterilização (fita ou ampola com suspensão de *Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus subtilis*);
- Bico de Bunsen;
- Tripé;
- Tela de amianto;
- Béqueres de borossilicato ou vidro neutro;
- Estiletes;
- Fita adesiva tipo crepe ou barbante;
- Gaze.

29.3. PROCEDIMENTO

Antes de iniciar o procedimento de lavagem, retirar a identificação das vidrarias com algodão umedecido em álcool ou acetona.

29.3.1. Preparo de provetas, frascos de erlenmeyer, frascos shott e báqueres

29.3.1.1. Lavagem

Lavar com água e detergente, utilizando esponja e escovete. Caso os materiais apresentem incrustações ou resíduos gordurosos, proceder à imersão destes em solução de hipoclorito de sódio a 2% e detergente neutro.

Enxaguar dez vezes com água corrente, enchendo e esvaziando totalmente a vidraria. Utilizar no último enxágue, água destilada ou deionizada.

Deixar drenar a água das vidrarias e secar em estufa a 100 °C.

29.3.1.2. Esterilização

Colocar tampão de algodão hidrófobo e gaze no bocal dos frascos erlenmeyer. Cobrir com folha de alumínio ou papel Kraft e fixar com barbante, atilho ou fita adesiva tipo crepe.

Cobrir os bocais das provetas e dos bêqueres com folha de alumínio ou papel Kraft e fixar com fita adesiva tipo crepe, atilho ou barbante.

Esterilizar em autoclave a 121 °C, por 30 min ou em estufa a 170 °C – 180 °C por 2 horas. Identificar o material com data de esterilização e prova de esterilização.

Observação: Frascos destinados ao preparo de meios de cultura, que são submetidos à esterilização por autoclave no momento do preparo do meio, dispensam esterilização prévia.

29.3.2. Placas de petri descartáveis usadas

Colocar em saco próprio para autoclave, esterilizar a 121 +/- 1 °C por 30 minutos e descartar.

29.3.3. Preparo de pipetas

29.3.3.1. Lavagem

1. Retirar o algodão do bocal de cada pipeta com estilete de ponta fina ou agulha histológica;
2. Imergir as pipetas em solução de hipoclorito de sódio a 2% e detergente por 24 horas;
3. Enxaguar em água corrente;
4. Se necessário, imergir em solução de hexano alcalino até total eliminação dos resíduos;
5. Enxaguar, tantas vezes quantas forem necessárias, até a eliminação completa dos resíduos;
6. Enxaguar com água destilada ou deionizada;
7. Secar em estufa a 100 °C.

29.3.3.2. Esterilização

1. Colocar algodão hidrófobo no bocal das pipetas;
2. Acondicionar em porta-pipetas ou embrulhar em grupos em papel Kraft;
3. Identificar o material com nome, volume, data de esterilização e prova de esterilização;
4. Esterilizar em estufa a 170 °C, por 2 horas ou em autoclave a 121 °C por 30 minutos;
5. Identificar o material com data de esterilização e prova de esterilização.

29.3.4. Preparo de tubos de durham

29.3.4.1. Lavagem

1. Colocar em um recipiente com água e levar ao micro-ondas até ferver.
2. Imergir em solução de hipoclorito de sódio a 2% e detergente neutro por no mínimo 24 horas.
3. Lavar os tubos com água e detergente.
4. Colocar, se necessário, os tubos em recipiente com solução hexano alcalino até total eliminação dos resíduos.
5. Enxaguar dez vezes em água corrente, enchendo e esvaziando totalmente os tubos.
6. Colocar em um recipiente com água destilada ou deionizada e levar ao micro-ondas até ferver.
7. Deixar esfriar e retirar bem a água.
8. Secar em estufa a 100 °C.
9. Os tubos de Durham dispensam prévia esterilização.

29.3.5. Preparo de tubos de ensaio

29.3.5.1. Lavagem

1. Esvaziar o conteúdo do tubo e colocar de molho em solução de hipoclorito de sódio a 2% e detergente neutro por no mínimo 24 horas.
2. Lavar com água e detergente, utilizando escovetes e esponjas para retirar resíduos internos. Enxaguar em água corrente.
3. Colocar, se necessário, os tubos em recipiente contendo solução hexano alcalino até total eliminação dos resíduos.
4. Enxaguar dez vezes em água corrente, enchendo e esvaziando totalmente os tubos.
5. Utilizar no último enxágue, água destilada ou deionizada.
6. Deixar escorrer bem toda a água, colocar os tubos para secar em estufa a 100 °C.

29.3.5.2. Tampas

1. Imergir em solução de hipoclorito de sódio a 2% e detergente neutro por no mínimo 24 horas.
2. Lavar com água e detergente.
3. Enxaguar dez vezes em água corrente.
4. Utilizar no último enxágue, água destilada ou deionizada.
5. Deixar escorrer a água e secar em estufa a 50 °C.

29.3.5.3. Esterilização

1. Esse procedimento é necessário para tubos utilizados para conter meios de cultura já estéreis ou para soluções em ensaios complementares específicos.
2. Vedar os tubos secos com as tampas, embrulhar em papel Kraft em grupos de três ou cinco, de acordo com a utilização e esterilizar em autoclave a 121 °C, por 30 min, ou em estufa a 180 °C, por 2 horas.
3. Identificar com nome, volume, data de esterilização e prova de esterilização.

29.3.6. Preparo das pinças

29.3.6.1. Lavagem

Lavar as pinças com água e detergente.

29.3.6.2. Esterilização

1. Embrulhar em grupos as pinças em papel Kraft ou papel alumínio.
2. Esterilizar em autoclave a 121 °C, por 30 min, ou em estufa a 180 °C, por 2 horas.
3. Identificar com nome, data de esterilização e prova de esterilização.

29.3.7. Preparo de bastões tipo hóquei

29.3.7.1. Lavagem

Lavar o material com água e detergente.

29.3.7.2. Esterilização

1. Embrulhar individualmente os bastões em papel Kraft ou papel alumínio.
2. Esterilizar em autoclave a 121 °C, por 30 min, ou em estufa a 180 °C, por 2 horas.
3. Identificar o material com data de esterilização e prova de esterilização.

29.3.8. Ponteiras descartáveis usadas

Esterilizar em autoclave a 121+/- 1 °C, por 30 minutos e descartar.

30. ANEXO PARA CARACTERIZAÇÃO GRAVIMÉTRICA DE RESÍDUOS SÓLIDOS

30.1. PRINCÍPIO

A gestão e o gerenciamento são instrumentos importantes para que o impacto ambiental causado pelos resíduos sólidos urbanos (RSU) seja cada vez menor. Porém, para que a gestão e o gerenciamento funcionem, é fundamental conhecer as características dos RSU gerados. Sendo assim, é de grande importância o estudo da origem e composição dos resíduos de um município, visto que permite estabelecer melhores procedimentos para a coleta, transporte, tratamento e disposição final. Especialistas reportam que “a composição gravimétrica dos resíduos sólidos domiciliares é a primeira e mais importante etapa para qualquer trabalho referente a tais resíduos, quer seja no planejamento da limpeza urbana, na orientação e na determinação do sistema mais adequado para o tratamento e disposição”.

Para um bom estudo gravimétrico, é necessário realizar um planejamento efetivo, visando à padronização da metodologia a ser utilizada na coleta, triagem, pesagem, quarteamento e separação dos diversos componentes da parte sólida dos resíduos.

De acordo com a NBR 10.007/2004, o quarteamento é definido como sendo: “processo de divisão em quatro partes iguais de uma amostra pré-homogeneizada, sendo tomadas duas partes opostas entre si para constituir uma nova amostra e descartadas as partes restantes. As partes não descartadas são misturadas totalmente, e o processo de quarteamento é repetido até que se obtenha o volume desejado”.

30.2. MATERIAIS

Para realização do estudo gravimétrico, alguns materiais e equipamentos são necessários:

- Veículo para coleta de resíduos;
- Equipamentos de proteção individual (EPI'S) - Luvas, óculos, máscaras, aventais e botas;
- Lona;
- Contêineres de plástico;
- 1 balança de mesa (que pesa em gramas);
- 1 balança de piso (que pesa acima de 50 kg);
- Sacos plásticos;

- Pá, enxada e vassoura para o manejo de resíduos;
- 1 mesa ou bancada;
- 1 planilha para anotar os resultados das pesagens.

Atenção: O ensaio de gravimetria deverá ser realizado em área coberta e pavimentada, para que não haja interferência nas amostras, devido à chuva ou à incorporação de solo.

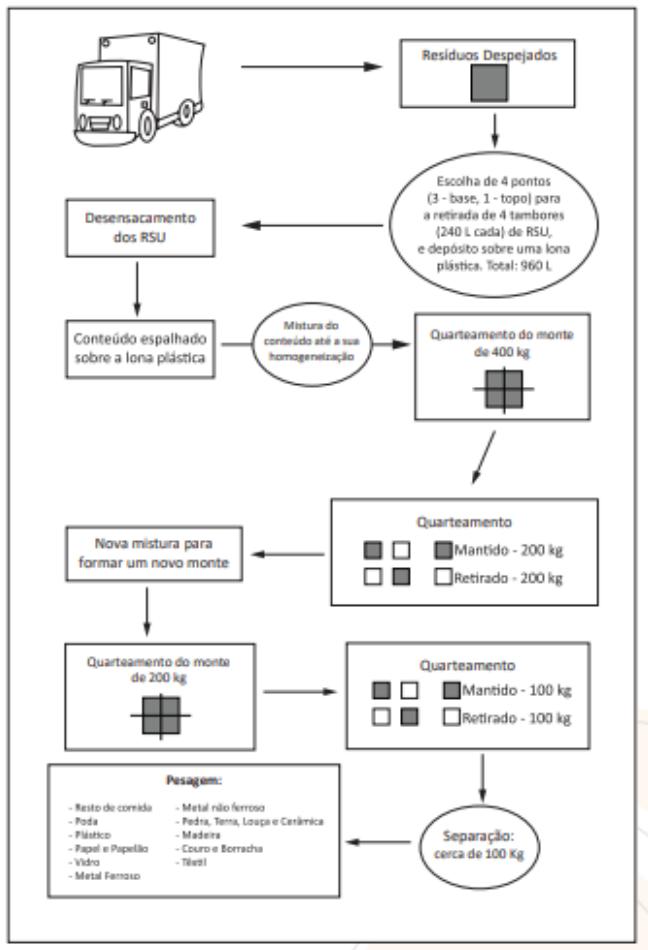
30.3. PROCEDIMENTO

As etapas para o estudo da caracterização gravimétrica são (Figura 1):

1. Despejo dos resíduos;(Figura 2)
2. Coleta de 4 tambores (240 litros cada) e despejo sobre uma lona plástica;
3. Rompimento das sacolas para homogeneização dos resíduos (enxadas, pás e vassouras podem ser utilizadas para facilitar o processo);
4. Aplicação do quarteamento: divisão da pilha em quatro partes iguais (Figura 3);
5. Seleção de duas partes em diagonais e posterior mistura única destas amostras (esse processo deverá ser repetido até que seja obtido o volume desejado);
6. Pesagem do total de resíduos da amostra (peso total em kg);
7. Triagem manual dos resíduos da amostra, com auxílio de uma mesa ou bancada (Figura 4 e 5);
8. Pesagem de cada fração selecionada de resíduo (kg) e anotação na planilha de pesagens (Tabela 1; Figura 7);
9. Determinação da porcentagem de cada fração estudada.

30.4. ANEXOS

Figura 1 – Metodologia para caracterização gravimétrica dos RSU.



Fonte: Soares, 2011.

Figura 2 – Resíduos sólidos urbanos despejados para retirada das amostras.



Fonte: Soares, 2011.

Figura 3 – Procedimento de quarteamento para amostragem.



Fonte: Soares, 2011.

Figura 4 – Triagem dos resíduos urbanos em frações.



Fonte: Soares, 2011.

Figura 5 – Separação dos materiais em frações.



Fonte: Soares, 2011.

Figura 6 – Pesagem dos contêineres.



Fonte: Soares, 2011

Figura 7 – Exemplos das frações de resíduos pós-triagem.



Fração: papel/papelão e matéria orgânica



Fração: borracha e metal não ferroso

Fonte: Soares, 2011.

Tabela 1 – Planilha para preenchimento pelos gestores dos quantitativos de cada fração dos resíduos.

DINÂMICA DA COMPOSIÇÃO GRAVIMÉTRICA				
Nome do Responsável Técnico:	Data da Medição:		Identificação da Amostra:	
			Tara do Contêiner:	
Destinação/disposição POTENCIAL	Categoria	Exemplos	Peso (kg)	Percentual (%)
Compostagem	Resto de comida	Restos alimentares, cascas de legumes e frutas		
	Poda	Floros, podas de árvores, grama		
Reciclagem	Plástico	Sacos, sacolas, embalagens de refrigerantes, água e leite, recipientes de produtos de limpeza, utensílios de cozinha, látex, sacos de ração		
	Papel e papelão	Caixas, revistas, jornais, cartões, papel, pratos, cadernos, livros, pastas, embalagens longa vida		
	Vidro	Copos, garrafas de bebidas, pratos, espelho, embalagens de produtos de limpeza, embalagens de produtos de beleza, embalagens de produtos alimentícios		
	Metal ferroso	Palha de aço, alfinetes, agulhas, embalagens de produtos alimentícios		
	Metal não ferroso	Latas de bebidas, restos de cobre, restos de chumbo, fiação elétrica		
Co-processamento	Pedra, terra, louça e cerâmica	Vasos de flores, pratos, xícaras, restos de construção, terra, tijolos, cascalho, pedras decorativas		
	Madeira	Caixas, tábuas, palitos de fósforo, palitos de picolé, tampas, móveis, lenha		

Tabela 1 (Continuação)

Co-processamento	Couro e borracha	Bolsas de couro, mochilas, sapatos, tapetes, luvas, látex, cintos, balões		
	Têxtil	Aparas, roupas, panos de limpeza, pedaços de tecido, bolsas de pano		
Logística reversa/ Aterro sanitário ou outra destinação/ disposição	Contaminante biológico	Papel higiênico, cotonetes, algodão, curativos, gases e panos com sangue, fraldas descartáveis, absorventes higiênicos, seringas, tâminas de barbear, cabelos, pêlos, embalagens de anestésicos, luvas		
	Contaminante químico	Pilhas, baterias, medicamentos, tampadas, inseticidas, raticida, colas em geral, cosméticos, vidros de esmaltes, embalagens de produtos químicos, latas de óleo de motor, latas com tintas, embalagens pressurizadas, canetas com carga, papel carbono, filme fotográfico		
	Equipamento eletroeletrônico	Computadores, laptops, celulares, rádios, liquidificadores, mouses, teclados		
	Diversos	Velas de cera, restos de sabão e sabonete, carvão, giz, pontas de cigarro, rochas, cartões de crédito, lápis de cera, embalagens metálicas, sacos de aspirador de pó, lixas e outros materiais de difícil identificação		
	Total			

CAPÍTULO III

FORMULÁRIOS E DESCRIÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

31. FORMULÁRIO DE SOLICITAÇÃO PARA USO DO LABORATÓRIO

CADASTRO DO PROJETO E/OU ATIVIDADE

Título do projeto ou atividade:

Nome do solicitante:

Telefone:

Watts:

e-mail:

Instituição: (anexar comprovante de matrícula atualizado)

Curso:

Docente/Orientador:

Nº da apólice de seguro: (consulte a sua instituição de origem)

Data de início das atividades: ___/___/___ Previsão de Término: ___/___/___

Laboratórios onde serão desenvolvidas as atividades:

- () Laboratório de Toxicologia
() Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos

Atividade de:

- | | | |
|--------------------------|--------------|------------|
| () Iniciação científica | () Extensão | () TCC |
| () Mestrado | () Pesquisa | () Outros |

Em caso de outros defina a atividade: _____

Descrição do projeto e atividades desenvolvidas: (no máximo 500 palavras)

Dados das amostras: (amostra: biológica ou/e química ou/e resíduos - se for resíduos descreva de maneira sucinta a fonte geradora e processo)

Quantidade da amostra:

Necessita de armazenamento?

- () Não () Sim () Congelador/Freezer () Geladeira

Quanto tempo: _____

Reagentes e materiais usados da UDESC – Campus CEAVI?

Equipamentos usados da UDESC – Campus CEAVI
Resíduos gerados
EPI's necessários

Ibirama, _____ de _____, 20_____

Discente requerente

Docente/Orientador

OBS: o agendamento deve ser requerido no mínimo com 7 dias uteis de antecedência

32. DESCRIÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

32.1. AGITADOR

O agitador é um equipamento para laboratório usado para mistura e homogeneização dos componentes.

Foto 1 – Agitador.



32.2. AGITADOR MAGNÉTICO

O agitador magnético é um equipamento de laboratório utilizado para realizar misturas de amostras diversas, mas sempre com baixa viscosidade. Ele emprega um campo magnético rotativo para fazer com que uma barra de agitação imersa em um líquido gire muito rapidamente, agitando-o.

Foto 2 – Agitador Magnético.



32.3. DETECTOR DE 4 GASES

O luxímetro é uma ferramenta utilizada para realizar medições de luminosidade em ambientes internos. É um aparelho geralmente portátil, o que torna mais prática a sua utilização.

Foto 3 – Detector de 4 gases.



32.4. AUTOCLAVE VERTICAL CS

A autoclave é utilizada para esterilização de materiais e utensílios diversos em laboratórios clínicos, bioquímicos, químicos, indústria farmacêutica e laboratórios de controle de qualidade. Caldeira vertical simples fabricada em aço inoxidável AISI 304.

Foto 4 – Autoclave Vertical CS.



32.5. BALANÇA

A balança é um equipamento específico para medições precisas da massa de um corpo em laboratório para segmentos em que análises, formulações e experimentos em geral requerem total precisão.

Foto 5 – Balança.



Foto 5A – Balança.



32.6. BANHO MARIA

O banho maria é um equipamento que permite a termorregulação de uma amostra, por meio do controle da temperatura de um fluido térmico, o qual é colocado dentro da cuba do banho e que irá transferir a temperatura ajustada no banho para a amostra imersa nele.

Foto 6 – Banho Maria



32.7. BARRILETE

O Barrelite é utilizado em todos os tipos de laboratórios para o armazenamento de água pura e soluções preparadas, oferecendo segurança e evitando a contaminação.

Foto 7 – Barrilete.



32.8. MICROSCÓPIO

O microscópio é um equipamento utilizado para visualizar minúsculas estruturas. O microscópio é um equipamento essencial para qualquer laboratório e possui equipamentos extras representados abaixo.

Foto 8 – Microscópio



Foto 8A – Câmera para microscópio.



Foto 8B – Equipamentos para microscópio.



32.9. CHAPA AQUECEDORA

A chapa aquecedora destina-se para o aquecimento uniforme de substâncias inseridas no equipamento por meio de um recipiente.

Foto 9 – Chapa Aquecedora



32.10. CHUVEIRO COM LAVA OLHO

O principal objetivo deste EPC é a higienização imediata dos olhos, face, mãos e qualquer outra parte do corpo do trabalhador que tenha sido contaminada, seja por substâncias químicas ou até mesmo poeira, resíduos, entre outros.

Foto 10 – Chuveiro com lava olho.



32.11. CONDUTIVIMETRO

O condutivímetro serve para medir a condutividade elétrica ou corrente elétrica das amostras.

Foto 11 – Condutivímetro.



32.12. CONTADOR DE COLÔNIA

O contador de colônias é utilizado para estimar a densidade de microrganismos de uma cultura líquida, contando as colônias individuais em uma placa de ágar, lâmina, mini gel ou placa de Petri.

Foto 12 – Contador de colônia.



32.13. DECIBELÍMETRO – MEDIDOR DE NÍVEL DE RUÍDO

É um instrumento utilizado para realizar medição de níveis de ruído. O microfone é peça vital no circuito, sendo sua função a de transformar um sinal mecânico (vibração sonora) num sinal elétrico.

Foto 13 – Decibelímetro.



32.14. DEIONIZADOR

A função básica de um deionizador para laboratório é retirar todo e qualquer vestígio de cátions, cloro, ânions, metais pesados, amônia, nitratos e vários outros componentes químicos que possam ser nocivos à água, que possam contaminar.

Foto 14 – Deionizador



32.15. PARAFUSADEIRA ELÉTRICA EMPUNHÁVEL

A Parafusadeira elétrica é utilizada para apertar e retirar parafusos.

Foto 16 – Parafusadeira elétrica empunhável.



32.16. REFRIGERADOR

Os objetivos principais da refrigeração são armazenamento de alimentos a baixas temperaturas para evitar ação de bactérias e o surgimento bolor ou fermentação e manter uma temperatura estável em ambientes ou em equipamentos eletrônicos. O resfriamento ocorre através do processo de trocas de calor.

Foto 17 – Refrigerador.



32.17. SELADORA

A seladora é muito importante para embalar materiais destinados à esterilização e desinfecção em autoclaves. Por isso, são capazes de selar diversos tipos de embalagens, filmes e plásticos destinados a essa finalidade.

Foto 18 – Seladora.



32.18. SONDA MULTIPARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA

A sonda multiparâmetros de qualidade de água é um equipamento para a medição de parâmetros químicos da água, físicos ou biológicos da água.

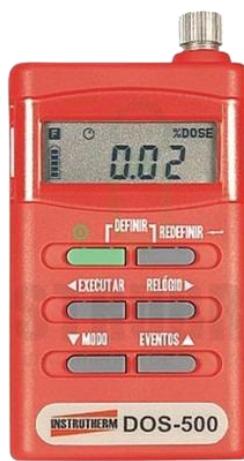
Foto 19 – Sonda Multiparâmetros.



32.19. DOSÍMETRO DIGITAL

É um equipamento ou dispositivo utilizado em dosimetria, para a medição dessas grandezas radiológicas.

Foto 20 – Dosímetro Digital.



32.20. FORNO MUFLA

O forno mufla ou forno de mufla é um equipamento de extrema importância em um laboratório. Basicamente, um forno mufla é bastante similar a uma estufa, e é utilizado, principalmente, em laboratórios de química, quando da necessidade de temperaturas muito elevadas na calcinação de substâncias.

Foto 21 – Forno Mufla.



32.21. GARRAFA DE VAN DON

A garrafa do tipo Van Dorn é utilizada para a coleta de água em lagos e córregos próximas ao fundo. Foram projetadas para atender todas as necessidades de coleta horizontal de amostras de água para medição de parâmetros ambientais.

Foto 22 – Garrafa de Van Don.



32.22. INCUBADORA

A incubadora é responsável pelo desenvolvimento de amostras de microorganismos, entre outros, também é um item que visa a proteção das amostras de agentes externos, o que é fundamental para eficiência dos processos de análise laboratorial.

Foto 23 – Incubadora.



32.23. LIQUIDIFICADOR TIPO INDUSTRIAL

O liquidificador de laboratório oferece a mesma funcionalidade que os liquidificadores domésticos: ambos promovem a mistura devido aos movimentos giratórios produzidos pela hélice, quem em muitos casos também moí elementos mais espessos, transformando tudo em uma mistura homogênea.

Foto 24 – Liquidificador tipo Industrial.





Assinaturas do documento



Código para verificação: **8F713AOC**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



PRISCILA NATASHA KINAS em 30/06/2023 às 11:28:42

Emitido por: "SGP-e", emitido em 13/07/2018 - 14:58:09 e válido até 13/07/2118 - 14:58:09.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFU0NfMTIwMjJfMDAwMjYzNzFfMjYzOTRfMjAyM184RjcxM0FPQw==> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **UDESC 00026371/2023** e o código **8F713AOC** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.