

Realização de Ensaios Microbiológicos de Águas e Géneros Alimentícios e de Ensaios Físico-Químicos de Águas

Ana Maria Alves Guerra

Relatório de estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Bioquímica
(2º ciclo de estudos)

Orientadora: Mestre Joana Alexandra Rodrigues Trindade
Co-orientador: Prof. Doutor António José Geraldês de Mendonça

dezembro de 2022

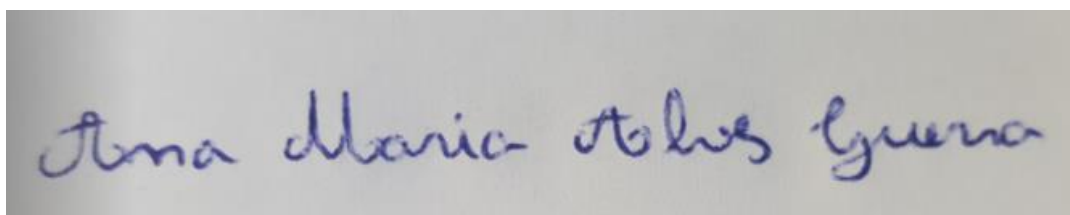
Versão final após provas públicas

Declaração de Integridade

Eu, Ana Maria Alves Guerra, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição m10943 de Bioquímica da Faculdade de Ciências, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 14 /12 /2022

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature reads "Ana Maria Alves Guerra" in a cursive script.

Agradecimentos

À minha orientadora e Diretora do Laboratório, a Mestre Joana Trindade, quero agradecer por toda a ajuda, conselhos, e por todos os momentos passados ao longo deste estágio.

Ao Professor Doutor António Mendonça, quero agradecer por todas as sugestões, disponibilidade e apoio fornecido ao longo da realização deste relatório.

À técnica de laboratório Laurinda, por toda a amizade, apoio e ensinamentos imprescindíveis ao longo destes oito meses. Às técnicas de laboratório Ana e Tânia, e ao técnico de laboratório Henrique por toda a amizade e ajuda.

Aos meus pais e irmão, por todo o amor e apoio que sempre me demonstraram, e pelos incentivos nos momentos mais difíceis.

Ao meu namorado Diogo, sem o qual a realização deste relatório não teria sido possível, por todo o apoio e carinho que me deu, e por me ajudar a persistir mesmo nos momentos mais difíceis.

Resumo

A segurança alimentar, tem por objetivo promover a saúde pública, prevenindo doenças de origem alimentar. A preparação e distribuição alimentar, intentando o consumo público, deve ser feita de forma controlada, deste modo é essencial a análise laboratorial de géneros alimentícios e águas, seguindo um conjunto de diretrizes que permitem avaliar a qualidade microbiológica e química dos mesmos.

Ao longo deste estágio curricular, foi obtida uma perspetiva geral do funcionamento de um laboratório acreditado que cumpre com os requisitos do referencial normativo NP EN ISO/IEC 17025. Assim foram realizadas análises na área da microbiologia alimentar e águas (consumo humano e piscinas) e na área da físico-química de águas. Na área da microbiologia alimentar foram pesquisados os seguintes microrganismos: Microrganismos totais a 30°C; *Enterobacteriaceae*; *Escherichia coli*; *Salmonella* spp.; *Staphylococcus* coagulase-positiva; e *Listeria monocytogenes*. Relativamente às análises de águas foram realizadas análises aos seguintes microrganismos: Microrganismos a 22±2°C; Microrganismos a 36±2°C; Bactérias coliformes; *Escherichia coli*; *Enterococcus*; *Clostridium perfringens*; e *Pseudomonas aeruginosa*. No que diz respeito à análise físico-química de águas, foram analisados os seguintes parâmetros físico-químicos: pH; Condutividade; Turvação; e Cloro Residual Livre.

Durante este estágio, a nível microbiológico realizaram-se um conjunto de procedimentos e técnicas, que permitiram avaliar em todas as ocasiões a qualidade de um género alimentício ou de uma amostra de água. Relativamente à química de águas, cada método cumpriu o propósito para que foi desenvolvido, e documentaram-se evidências que permitiram demonstrar resultados consistentes. A maior parte das contaminações em alimentos foi causada pela presença de Microrganismos totais a 30°C e de *Enterobacteriaceae*. As águas apresentaram vários microrganismos contaminantes.

Palavras-chave

Géneros Alimentícios; Águas; Ensaio Microbiológicos; Ensaio Físico-Químicos; Qualidade; Acreditação de Laboratórios.

Abstract

Food safety aims to promote public health by preventing foodborne diseases. Food preparation and distribution intended for public consumption must be done in a controlled way, thus the laboratory analysis of different kinds of foods and waters following a set of guidelines that allow the assessment of their microbiological and chemical quality it's essential.

Throughout this curricular internship, it was gathered a perspective of how a accredited laboratory that follows the requirements of the normative reference NP EN ISO/IEC 17025 works. Thus, analysis were carried out in the area of food microbiology, in the area of water microbiology for human consumption and for swimming pools, and in what concerns the properties of water, both physical and chemical. In the area of food microbiology, the following microorganisms were researched: Total microorganisms at 30°C; *Enterobacteriaceae*; *Escherichia coli*; *Salmonella* spp.; Coagulase positive staphylococci, and *Listeria monocytogenes*. Regarding the water samples, analysis were carried out on the following microorganisms: Microorganisms at 22±2°C; Microorganisms at 36±2°C; coliform bacteria; *Escherichia coli*; *Enterococci*; *Clostridium perfringens*; and *Pseudomonas aeruginosa*. In what concerns the physical-chemical analysis of water, the following parameters were analyzed: pH; Conductivity; Turbidity and Free Chlorine.

During this internship, at a microbiological level, a set of procedures and techniques were carried out, which allowed the evaluation of the quality of a foodstuff or a water sample, on all occasions. Regarding water chemistry, each method fulfilled the purpose for which it was developed, and evidence was documented that allowed to demonstrate consistent results. The majority of food contamination was caused by the presence of Total microorganisms at 30°C and *Enterobacteriaceae*. The waters exhibited several contaminating microorganisms.

Keywords

Food kinds; Water; Microbiological Assays; Physicochemical Assays; Quality; Laboratory Accreditation.

Índice

Capítulo 1 – Introdução	1
Capítulo 2 – Fundamentos Teóricos	2
1. Microbiologia Alimentar	2
1.1. Microrganismos totais a 30°C	2
1.2. <i>Enterobacteriaceae</i>	3
1.3. <i>Escherichia coli</i>	4
1.4. <i>Salmonella</i> spp.	5
1.5. <i>Listeria monocytogenes</i>	6
1.6. <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva	7
2. Microbiologia de Águas	7
2.1. Microrganismos viáveis a 22±2°C e a 36±2°C	7
2.2. Bactérias coliformes e <i>Escherichia coli</i>	8
2.3. <i>Enterococcus</i>	8
2.4. <i>Clostridium perfringens</i>	9
2.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
3. Caracterização dos Meios de Cultura	9
3.1. Microbiologia de Géneros Alimentícios	9
3.1.1. Microrganismos totais a 30°C	9
3.1.2. <i>Enterobacteriaceae</i>	10
3.1.3. <i>Escherichia coli</i>	10
3.1.4. <i>Salmonella</i> spp.	10
3.1.5. <i>Listeria monocytogenes</i>	11
3.1.6. <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva	11
3.2. Microbiologia de Águas	12
3.2.1. Microrganismos viáveis a 22±2°C e a 36±2°C	12
3.2.2. Bactérias coliformes e <i>Escherichia coli</i>	12
3.2.3. <i>Enterococcus</i>	13
3.2.4. <i>Clostridium perfringens</i>	13
3.2.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
4. Caracterização dos Parâmetros Físico-Químicos	14
4.1. pH	14
4.2. Condutividade	14

4.3.	Turvação	16
4.4.	Cloro Residual Livre	17
5.	Conceitos relativos à Acreditação de Laboratórios Químicos – Controlo de Qualidade Interno	17
5.1.	Critério de Aceitação	17
5.2.	Carta de Controlo	18
5.3.	Duplicados	19
5.4.	Limite de Quantificação (LQ)	19
5.5.	Ensaio em Paralelo	20
5.6.	Ensaio de Linearidade	20
6.	Legislação Portuguesa e Europeia	20
6.1.	Géneros Alimentícios	20
6.2.	Setor das Águas de Consumo Humano e Águas de Piscina	21
6.2.1.	Parâmetros Microbiológicos e Físico-Químicos	21
Capítulo 3 – Métodos Experimentais		22
7.	Métodos de Análise	22
7.1.	Géneros Alimentícios – Métodos Normalizados e Métodos Alternativos	22
7.1.1.	Preparação da suspensão-mãe	22
7.1.2.	Contagem de Microrganismos totais a 30°C – Método por Incorporação – ISO 4833-1:2013	23
7.1.3.	<i>Enterobacteriaceae</i> – AFNOR BRD 07/24 – 11/13	23
7.1.4.	<i>Escherichia coli</i> – ISO 16649-2:2001	24
7.1.5.	<i>Salmonella</i> spp. – Método VIDAS Easy SLM – AFNOR BIO 12/16 - 09/05, conformação de resultados positivos pela ISO 6579-1:2017	24
7.1.6.	<i>Listeria monocytogenes</i> – Método VIDAS Easy LMO2 – AFNOR BIO 12/11-03/04, conformação de resultados positivos com ALOA	26
7.1.7.	<i>Staphylococcus coagulase-positiva</i> – AFNOR BRD 07/09-02/05	28
7.2.	Microbiologia de Águas de Consumo Humano e Piscina – Métodos Normalizados e Métodos Alternativos	30
7.2.1.	Microrganismos viáveis a 22±2°C e a 36±2°C – ISO 6222:1999	30
7.2.2.	Bactérias coliformes e <i>Escherichia coli</i>	31
7.2.2.1.	Águas de Rede – ISO 9308-1:2014	31
7.2.2.2.	Águas de Captação Própria – Método Interno 01 – Pesquisa e	33

Quantificação de Bactérias coliformes e <i>Escherichia coli</i>		
7.2.3.	<i>Enterococcus</i> – ISO 7899-2:2000	36
7.2.4.	<i>Clostridium perfringens</i> – ISO 14198:2013	37
7.2.5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – ISO 16266:2016	39
7.3.	Ensaio Físico-Químicos de Águas de Consumo Humano e Piscina	42
7.3.1.	pH – Standard methods for the Examination of Water and Wastewater – SM 4500-H ⁺ B.Eletrometric Method	42
7.3.1.1.	Calibração Analítica do medidor de pH	42
7.3.1.2.	Padrão de Controlo (PC) de pH com valor igual a 6,88	43
7.3.1.3.	Leitura de Amostras	43
7.3.2.	Condutividade – Norma Portuguesa EN 27888:1996 “Qualidade de Água – Determinação da condutividade elétrica” (ISO 7888:1985)	44
7.3.2.1.	Verificação do equipamento	44
7.3.2.2.	Padrão de Controlo (PC) 1413 µS/cm e PC 84 µS/cm	45
7.3.2.3.	Leitura de amostras	46
7.3.3.	Turvação – ISO 7027-1:2016	46
7.3.3.1.	Verificação/Calibração do equipamento	47
7.3.3.2.	Padrão de Controlo (PC) de 1 UNT	48
7.3.3.3.	Leitura de Amostras	48
7.3.4.	Cloro Residual Livre – Método Interno 01 do Laboratório de Química – Cloro Residual Livre e Total (local)	48
7.3.4.1.	Verificação do equipamento	48
7.3.4.2.	Leitura de Amostras	49
Capítulo 4 - Resultados		49
8.	Apresentação e Discussão dos Resultados	49
8.1.	Géneros Alimentícios	49
8.1.1.	Microrganismos totais a 30°C	52
8.1.2.	<i>Enterobacteriaceae</i>	55
8.1.3.	<i>Escherichia coli</i>	57
8.1.4.	<i>Salmonella</i> spp. – Método VIDAS <i>Easy</i> SLM – AFNOR BIO 12/16 - 09/05, confirmação de resultados positivos pela ISO 6579-1:2017	58
8.1.5.	<i>Listeria monocytogenes</i>	59
8.1.6.	<i>Staphylococcus coagulase-positiva</i>	60

8.2.	Microbiologia de Águas de Consumo Humano e de Piscina	61
8.2.1.	Microrganismos viáveis a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$	61
8.2.2.	Bactérias coliformes e <i>Escherichia coli</i>	63
8.2.2.1.	Águas de Rede	63
8.2.2.2.	Águas de Captação Própria	66
8.2.3.	<i>Enterococcus</i>	68
8.2.4.	<i>Clostridium perfringens</i>	69
8.2.5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
9.	Ensaio Físico-Químicos de Águas de Consumo Humano e de Piscina	72
9.1.	pH	72
9.2.	Condutividade	75
9.3.	Turvação	77
10.	Controlo de Qualidade Interna dos Parâmetros Físico-Químicos	79
10.1.	pH	79
10.1.1.	Carta de Controlo	79
10.1.2.	Duplicados	81
10.1.3.	Ensaio em Paralelo	82
10.2.	Condutividade	82
10.2.1.	Carta de Controlo	82
10.2.2.	Duplicados	85
10.2.3.	Limite de Quantificação (LQ)	86
10.2.4.	Ensaio em Paralelo	87
10.2.5.	Ensaio de Linearidade	87
10.3.	Turvação	88
10.3.1.	Carta de Controlo	88
10.3.2.	Duplicados	90
10.3.3.	Limite de Quantificação (LQ)	91
10.3.4.	Ensaio em Paralelo	92
10.3.5.	Ensaio de Linearidade	92
10.4.	Cloro Residual Livre	94
10.4.1.	Ensaio de Linearidade	94
10.4.2.	Limite de Quantificação (LQ)	95
	Capítulo 5 - Conclusão	96
	11. Bibliografia	98

Anexos

Anexo 1: Anexo Técnico de Acreditação.	103
Anexo 2: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2020.	105
Anexo 3: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2021.	108
Anexo 4: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2020.	112
Anexo 5: Tabela – Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2021.	115
Anexo 6: Tabela – Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2020.	119
Anexo 7: Tabela – Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2021.	120
Anexo 8: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias <i>Enterobacteriaceae</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2020.	122
Anexo 9: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias <i>Enterobacteriaceae</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2021.	123
Anexo 10: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias <i>Enterobacteriaceae</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2020.	124
Anexo 11: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias <i>Enterobacteriaceae</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2021.	125
Anexo 12: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias <i>Enterobacteriaceae</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2020.	127
Anexo 13: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias <i>Enterobacteriaceae</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2021.	128
Anexo 14: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à bactéria <i>Escherichia coli</i> , por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021.	129
Anexo 15: Análise do estado de géneros alimentícios, no que toca à presença de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o período trimestral de outubro a dezembro do ano 2020.	130
Anexo 16: Análise do estado de géneros alimentícios, no que toca à presença de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o período trimestral de	131

outubro a dezembro do ano 2021.

Anexo 17: Ensaio inicial e de confirmação, em águas de rede, para as amostras com valor limite superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020. 132

Anexo 18: Ensaio inicial e de confirmação, em águas de rede, para as amostras com valor limite/recomendado superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021. 133

Anexo 19: Ensaio inicial e de confirmação, em águas de captação própria, para as amostras com valor limite superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020. 134

Anexo 20: Ensaio inicial e de confirmação, em águas de captação própria, para as amostras com valor limite superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021. 135

Anexo 21: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *Enterococcus*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020. 136

Anexo 22: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *Enterococcus*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021. 137

Anexo 23: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020. 138

Anexo 24: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021. 139

Anexo 25: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras que apresentaram colônias contáveis, para *P. aeruginosa*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020. 140

Anexo 26: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *P. aeruginosa*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021. 141

Lista de Figuras

Figura 1 – Oxidação da DPD pelo permanganato, com formação de um radical intermediário de cor magenta, cuja absorvância pode ser detetada, através do uso de um fotómetro.

Figura 2 – Exemplo de crescimento em meio PCA.

Figura 3 – Exemplo de colónias típicas de *Enterobacteriaceae*.

Figura 4 – Exemplos de crescimento em meio TBX. À direita é possível observar o crescimento de uma estirpe previamente identificada como *E. coli*.

Figura 5 – Barretes pertencentes ao *kit* específico para deteção de *Salmonella* spp.

Figura 6 – Processo de aquecimento das barretes, no bloco de aquecimento *VIDAS Heart & Go*.

Figura 7 – Utilização do aparelho Mini-Vidas na deteção de amostras de *Salmonella* spp.

Figura 8 – Resultados positivos de ensaios em paralelo para uma amostra cega de *Salmonella* spp., previamente identificada como 697.

Figura 9 – Exemplos de crescimento em meio *Chromo Salmonella* (meio de confirmação).

Figura 10 – Barretes pertencentes ao *kit* específico para deteção de *Listeria monocytogenes*.

Figura 11 – Resultados positivos de ensaios em paralelo para uma amostra cega de *Listeria monocytogenes*, previamente identificada como 670.

Figura 12 – Exemplos de crescimento em meio ALOA. À direita é possível observar o crescimento de uma estirpe previamente identificada como *Listeria monocytogenes*.

Figura 13 – Exemplos de crescimento em meio *RAPID'Staph*.

Figura 14 – Teste *Pastorex Staph+* com o reagente látex e o reagente controlo negativo.

Figura 15 – Procedimento de confirmação pelo *kit*/teste de confirmação *Pastorex Staph+*.

Figura 16 – Reação negativa, em que não ocorre formação de agregados, e reação positiva, com agregados de coloração preta.

Figura 17 – Microrganismos a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Figura 18 – Microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Figura 19 – Exemplos de crescimento em meio CCA.

Figura 20 – Teste da oxidase.

Figura 21 – Transferência de 10 colónias rosas/vermelhas, do meio CCA, para meio TSA.

Figura 22 – Exemplos de crescimento em meio MLSA.

Figura 23 – Transferência de 5 colônias amarelas/laranjas, do meio MLSA, para meio TSA.

Figura 24 – Teste da Oxidase com reação positiva.

Figura 25 – Fermentação da lactose positiva em meio *Dev-Fluorocult*.

Figura 26 – Fluorescência em meio *Dev-Fluorocult*.

Figura 27 – Reação positiva de Indol.

Figura 28 – Exemplo de crescimento em meio SBA.

Figura 29 – Membrana em BEA, pré-incubação, com 6 colônias presumíveis de *Enterococcus*.

Figura 30 – Membrana em BEA, pré-incubação, com 4 colônias confirmadas de *Enterococcus*.

Figura 31 – Incubação de *Clostridium perfringens* em condições de anaerobiose.

Figura 32 – Exemplo de crescimento em meio TSC.

Figura 33 – Passagem das colônias do meio TSC para o meio *Columbia Agar*.

Figura 34 – Repicagem das colônias a analisar e colocação de 2 a 3 gotas por colônia a analisar no papel de filtro.

Figura 35 – Exemplo de colônias com reação negativa e reação positiva (colônias 16, 17, 18 e 19) no teste da Fosfatase Ácida.

Figura 36 – Exemplo de crescimento em meio PCN.

Figura 37 – Fluorescência das colônias sob radiação UV (parte da frente e de trás da membrana filtrante).

Figura 38 – Padrões de pH de valor 4,00; 6,88; 7,00; e 10,00.

Figura 39 – Leitura do valor de pH de uma amostra. Visualização do valor do declive e de *offset* obtidos após a calibração.

Figura 40 – Medição do valor de pH de uma amostra de água.

Figura 41 – Leitura da condutividade de uma amostra de água.

Figura 42 – Turbidímetro com os 4 padrões de calibração.

Figura 43 – Leitura do PC de 1 UNT e do 20 UNT.

Figura 44 – Gráfico do número total de amostras, em relação ao número de amostras passíveis de estarem contaminadas, devido à presença de colônias em meio PCA, para o período trimestral de outubro a dezembro dos anos de 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 45 – Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação aos microrganismos totais a 30°C, para o mês de outubro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 46 - Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação aos microrganismos totais a 30°C, para o mês de novembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 47 - Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação aos microrganismos totais a 30°C, para o mês de dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 48 – Gráfico do número total de amostras, em relação ao número de amostras passíveis de estarem contaminadas, devido à presença de colônias da família *Enterobacteriaceae*, para o período trimestral de outubro a dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 49 - Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação à família *Enterobacteriaceae*, para o mês de outubro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 50 - Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação à família *Enterobacteriaceae*, para o mês de novembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 51 - Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação à família *Enterobacteriaceae*, para o mês de dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 52 - Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação à bactéria *Escherichia coli*, para os anos 2020 e 2021.

Figura 53 – Gráfico do número de amostras alimentares analisadas pelas 2 metodologias (ISO e imunoensaio pelo Mini-Vidas), para o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021.

Figura 54 – Gráfico do número de amostras alimentares analisadas vs. número de amostras com resultado positivo após os ensaios de confirmação, em relação ao microrganismo *Listeria monocytogenes*, para o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021.

Figura 55 – Gráfico do número de amostras alimentares, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, devido à presença de *Staphylococcus coagulase-positiva*, para os anos 2020 e 2021.

Figura 56 – Gráfico do número de amostras com o valor recomendado superior a 100 para os Microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 57 – Gráfico para os Microrganismos a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$, do número de amostras com o valor recomendado superior a 20 para águas de consumo humano, e do número de amostras com valor recomendado superior a 100 para águas de piscina, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 58 – Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de rede, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 59 – Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de rede para consumo humano, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 60 – Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de rede para piscinas, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 61 – Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de captação própria, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 62 - Gráfico do número de amostras confirmada, quanto à existência de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de captação própria, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e 2021, respetivamente.

Figura 63 – Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para *Enterococcus*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 64 – Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de *Enterococcus*, em águas de consumo humano e de piscinas, referentes ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 65 – Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 66 – Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 67 – Gráfico do número de amostras com colónias contáveis de *P. aeruginosa*, em águas de consumo humano e águas de piscina, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 68 – Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de *P. aeruginosa*, em águas de consumo humano (2020) e águas de piscina (2021), referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Figura 69 – Gráfico representativo do número de amostras que cumprem e que não cumprem os valores paramétricos (VPs) no que diz respeito ao pH, para águas de consumo humano e águas de piscina com água doce.

Figura 70 – Gráfico representativo do número de amostras que cumprem e que não cumprem os valores paramétricos (VPs) no que diz respeito à condutividade, para águas de consumo humano e águas de piscina com água doce.

Figura 71 – Gráfico representativo do número de amostras que cumprem e que não cumprem os valores paramétricos (VPs) no que diz respeito à turvação, para águas de consumo humano e águas de piscina com água doce.

Figura 72 – Gráfico correspondente aos valores do declive do aparelho medidor de pH.

Figura 73 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 6,88 na escala de *Sorensen*.

Figura 74 – Gráfico correspondente aos valores do fator de célula medido a cada dia de trabalho.

Figura 75 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Figura 76 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Figura 77 – Gráfico da linearidade do condutímetro.

Figura 78 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 20 UNT.

Figura 79 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 1 UNT.

Figura 80 – Gráfico da linearidade do turbidímetro.

Figura 81 – Gráfico da linearidade do fotómetro.

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Legislação para os parâmetros microbiológicos em Águas destinadas ao Consumo Humano e de Piscina.

Tabela 2 - Legislação para os parâmetros físico-químicos em Águas destinadas ao Consumo Humano e de Piscina.

Tabela 3 – Interpretação de resultados do teste *Pastorex Staph+*.

Tabela 4 – Etapas necessárias para confirmação de colónias presentes em meio de cultura PCN.

Tabela 5 – Separação de alimentos em grupos e subgrupos de acordo com o INSA.

Tabela 6 – Análise de 2 géneros alimentícios, quanto à presença de *Salmonella* spp.

Tabela 7 – Valores de pH, medidos à temperatura real, para águas de consumo humano.

Tabela 8 – Valores de pH, medidos à temperatura real, para águas de piscina com água doce.

Tabela 9 – Valores de condutividade, medidos a 20°C, para águas de consumo humano.

Tabela 10 – Valores de condutividade, medidos a 20°C, para águas de piscina com água doce.

Tabela 11 – Valores de turvação, para águas de consumo humano.

Tabela 12 – Valores de turvação, para águas de piscina com água doce.

Tabela 13 – Carta de controlo com os parâmetros do medidor de pH, medidos a cada dia de trabalho.

Tabela 14 – Duplicados do PC 6,88, medidos à temperatura real.

Tabela 15 – Excerto da tabela com várias leituras de pH por operador, da amostra 1930121, cuja matriz é referente a uma Água de Consumo Humano.

Tabela 16 – Carta de controlo com os parâmetros do medidor de condutividade, medidos a cada dia de trabalho.

Tabela 17 – Duplicados do PC 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C.

Tabela 18 – Duplicados do PC a 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C.

Tabela 19 – Limite de quantificação mensal da condutividade, de valor 14,12 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 20°C.

Tabela 20 – Excerto da tabela com várias leituras de condutividade por operador, da amostra 1930121, cuja matriz é referente a uma Água de Consumo Humano.

Tabela 21 – Concentrações das soluções de KCl, para a obtenção das soluções padrão da gama de trabalho, cada uma com a sua respetiva condutividade.

Tabela 22 – Carta de controlo com os parâmetros do turbidímetro, medidos a cada dia de trabalho.

Tabela 23 – Duplicados do PC de 20 UNT.

Tabela 24 – Duplicados do PC de 1 UNT.

Tabela 25 – Limite de quantificação mensal da turvação, de valor 1 UNT.

Tabela 26 – Excerto da tabela com várias leituras de turvação por operador, da amostra 1930121, cuja matriz é referente a uma Água de Consumo Humano.

Tabela 27 – Volume a pipetar da solução padrão de formazina de 4000 UNT para a obtenção das soluções padrão da gama de trabalho.

Tabela 28 – Volumes a pipetar de solução-mãe para a obtenção das restantes soluções padrão da gama de trabalho.

Tabela 29 – LQ mensal, referente ao cloro residual livre, de valor 0,10 mg/L Cl₂.

Lista de Acrónimos

μS/cm	microSiemens por centímetro
AFNOR	<i>Association Française de Normalization</i>
ALOA	<i>Agar Listeria</i> de Ottaviani & Agosti
APT	Água Peptonada Tamponada
BCIG	Ácido 5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucurónico
BEA	<i>Bile Aesculin Azide Agar</i>
CCA	<i>Chromogenic Coliform Agar</i>
C.F.	Factor de célula
DGS	Direção Geral de Saúde
DPD	N,N-dietil-p-fenilenodiamina
EN	<i>European Norm</i>
Fc	Fragmento cristalizável
HSA	Higiene e Segurança Alimentar
IEC	<i>International Electrotechnical Commission</i>
IgG	Imunoglobulina G
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
IPAC	Instituto Português de Acreditação
IPTG	Isopropil-β-D-tiogalactopiranosídeo
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LIA	Limite Inferior de Aviso
LIC	Limite Inferior de Controlo
LPS	Lipopolissacáridos
LQ	Limite de Quantificação
LSA	Limite Superior de Aviso
LSC	Limite Superior de Controlo
MLSA	<i>Membrane Lauril Sulphate Agar</i>
MUG	4-metil-umberiferil-β-D-glicuronídeo
NP	Norma portuguesa
PC	Padrão de Controlo
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
PCN	<i>Pseudomonas CN Agar</i>
SBA	<i>Slanetz & Bartley Agar</i>
SX2	<i>Salmonella Xpress 2</i>
TBX	<i>Tryptone-Bile-Glucuronide Medium</i>
TSA	<i>Tryptic Soy Agar</i>
TSC	<i>Tryptose Sulfite Cycloserine Agar</i>
ufc	Unidades formadoras de colónias
UNT	Unidades Nefelométricas de Turbidez
VRBG	<i>Violet Red Bile Glucose</i>
YEA	<i>Yeast Extract Agar</i>

Capítulo 1 - Introdução

Atualmente, exige-se qualidade nos produtos fornecidos aos consumidores. A maior parte dos produtos consumidos, já não são provenientes de produção própria, mas sim originários de produção e distribuição globalizada. O fácil acesso a uma grande diversidade de produtos dificulta assim o controlo de salubridade destes. A qualidade microbiológica dos alimentos tornou-se, deste modo, um fator importante para os operadores do setor alimentar e para as autoridades competentes. A deteção antecipada a nível laboratorial, de microrganismos patogénicos tornou-se essencial, como forma de evitar infeções alimentares [1-2].

A qualidade da água, até ao século XX, foi avaliada fundamentalmente através das suas propriedades organolépticas; no entanto, este tipo de avaliação possuía limitações, em termos de proteção contra microrganismos patogénicos e contra substâncias químicas perigosas presentes na água, porque a falta de potabilidade de uma água nem sempre é perceptível à visão ou olfato. Portanto, tornou-se indispensável o estabelecimento de valores paramétricos, que correspondessem de forma clara e objetiva às características a que uma água deveria obedecer, conforme a sua finalidade. O controlo da qualidade das águas, através da sua análise frequente, em diferentes pontos de colheita é importante para a segurança da população. Um controlo de qualidade eficiente aumenta o nível de confiança, por parte dos consumidores na qualidade do serviço prestado. As análises dos diferentes tipos de águas são obrigatórias por lei e devem ser realizadas por laboratórios acreditados e reconhecidos, para que haja uma garantia que as mesmas se encontram livres de contaminantes físico-químicos e microbiológicos [3].

Deste modo, o estatuto de laboratório acreditado, é sinónimo de reconhecimento de exigência e rigor técnico espelhados num sistema de qualidade dinâmico, que fornece confiança aos seus clientes em relação ao serviço prestado e aos resultados analíticos produzidos. O referencial normativo Norma Portuguesa (NP) European Norm (EN) International Organization for Standardization/International Electrotechnical Commission (ISO/IEC) 17025, relativo ao funcionamento de um laboratório acreditado, é assim essencial para que exista esta exigência e rigor técnicos [4].

A empresa Interprev, SA, é uma empresa de prestação de serviços nas áreas da Segurança e Saúde do Trabalho, Segurança Alimentar e Formação, que visa a prevenção de riscos profissionais e alimentares, e promove a saúde dos trabalhadores e

consumidores. É constituída por 24 delegações, com 24 clínicas médicas, 15 unidades móveis de saúde e 1 laboratório de análises de águas e géneros alimentícios, sendo este acreditado segundo o referencial normativo NP EN ISO/IEC 17025, pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC), para as matrizes: géneros alimentícios, águas de consumo humano e piscinas (anexo I) [1].

O laboratório nasceu em 2007 com o objetivo de dar apoio ao departamento de higiene e segurança alimentar (HSA). Inicialmente, realizava somente ensaios microbiológicos de águas e géneros alimentícios, e controlo higio-sanitário das superfícies, utensílios, equipamentos e manipuladores; tendo-se expandido para a área da química de águas em 2019 [1].

O estágio curricular, que deu origem a este relatório, intitulado de “Realização de Ensaio Microbiológicos de Águas e Géneros Alimentícios e de Ensaio Físico-Químicos de Águas” foi realizado no laboratório de análises de águas e alimentos da Interprev, e teve uma duração de 8 meses, com início a 13 de setembro de 2021 e termo a 29 de abril de 2022. Todas as análises realizadas em datas anteriores pertencem ao arquivo do laboratório.

Capítulo 2 – Fundamentos Teóricos

1. Microbiologia Alimentar

Em relação aos géneros alimentícios foram analisados os seguintes microrganismos: Microrganismos totais a 30°C; *Enterobacteriaceae*; *Escherichia coli*; *Salmonella* spp.; *Staphylococcus* coagulase-positiva; e *Listeria monocytogenes*.

1.1. Microrganismos totais a 30°C

Os Microrganismos totais a 30°C são todos os microrganismos viáveis que se desenvolvem a 30°C num meio de agar nutritivo. Existem no meio ambiente, nas matérias-primas usadas para fabrico de vários produtos, e surgem nos géneros alimentícios associados a uma contaminação durante a manipulação dos alimentos [5]. Estes microrganismos incluem bactérias, fungos (entre os quais bolores e leveduras), vírus e protozoários [5-6]. Englobam a microflora natural, os microrganismos deteriorantes e os microrganismos patogénicos [5].

A quantidade total de Microrganismos totais a 30°C é maior nos casos em que ocorre: incumprimento das boas práticas de higiene e fabrico; conservação não adequada do género alimentício; manutenção do alimento a temperaturas inadequadas em relação à temperatura ideal para preservação do alimento, durante extensos períodos de tempo; permanência prolongada do produto à temperatura ambiente ou a temperaturas de refrigeração; deficiente higienização das superfícies de preparação dos alimentos e das mãos dos operadores; e falhas no tratamento térmico dos alimentos [5].

Os Microrganismos totais a 30°C permitem-nos assim refletir sobre as condições a que o alimento foi sujeito, sendo que usualmente quando presentes em quantidades significativas, indicam-nos a presença de outros tipos de microrganismos no género alimentício. Os Microrganismos totais a 30°C funcionam como indicadores de higiene e alteração [5].

1.2. *Enterobacteriaceae*

A família *Enterobacteriaceae* é constituída por bactérias: gram-negativas; de forma alongada, ou seja, bacilos; que apresentam motilidade flagelar peritrica, exceto bactérias pertencentes ao género *Tatumella*, ou bactérias que não apresentam qualquer tipo de motilidade; aeróbias ou anaeróbias facultativas; que não formam endósporos; e quimiorganotróficas, ou seja, possuem tanto um metabolismo respiratório, como fermentativo. A maior parte das bactérias desta família, são: catalase positiva, à exceção da espécie *Shigella dysenteriae* e do género *Xenorhabdus*; oxidase negativa, à exceção do género *Plesiomonas*; e reduzem os nitratos a nitritos, à exceção da espécie *Saccharobacter fermentatus*, e de algumas estirpes pertencentes aos géneros *Erwinia* e *Yersinia* [7].

Esta família de bactérias encontra-se presente no trato gastrointestinal do ser humano e de animais de sangue quente; em insetos; em diversas fontes alimentares, como por exemplo frutas, vegetais, leguminosas e ovos. Algumas espécies estão também disseminadas no meio ambiente, nomeadamente no solo e em fontes aquosas [7].

As bactérias desta família que causam doenças, podem ser divididas em 2 categorias: bactérias que são normalmente patogénicas como por exemplo, do género *Salmonella*, do género *Shigella*, a espécie *Klebsiella pneumoniae*, a espécie *Yersinia pestis*, a espécie *Yersinia enterocolitica*, e algumas estirpes de *Escherichia coli*; e em bactérias causadoras de doenças apenas em certas circunstâncias. As bactérias pertencentes à 2ª categoria, são também conhecidas como patógenos oportunistas, pois

aproveitam-se de hospedeiros fragilizados, ou seja, seres humanos: malnutridos, diabéticos, imunodeprimidos, cateterizados, com doenças respiratórias, com queimaduras cutâneas, com doenças oncológicas, etc. Estes hospedeiros estão assim sujeitos à contração de várias infeções, como por exemplo, infeções urinárias e respiratórias, infeções pós-cirúrgicas, e bacteremias. Estas bactérias que são também responsáveis pelo maior número de intoxicações alimentares, pertencem ao género *Salmonella*, ao género *Shigella* e à espécie *Escherichia coli* [7].

O estudo laboratorial da família *Enterobacteriaceae*, apresenta assim grande importância a nível socioeconómico, permitindo, entre vários aspetos, avaliar o estado de higiene de um género alimentício. A sua presença em alimentos que sofreram tratamento térmico significa que este foi inadequado ou que ocorreu uma contaminação após o processamento. As *Enterobacteriaceae* constituem assim um bom indicador do cumprimento das boas práticas de higiene [5].

Bactérias pertencentes a esta família, permitem também avaliar a eficiência da lavagem e da desinfeção dos alimentos, uma vez que são destruídas pela maioria dos agentes desinfetantes utilizados na produção alimentar, na higienização de superfícies, de equipamentos e de instalações. Consideram-se por isso, como um indicador de adequada lavagem e higienização, em produtos contendo frutas, produtos hortícolas e outros alimentos crus prontos para consumo [5].

Algumas espécies desta família, desenvolvem-se em temperaturas de refrigeração. O facto de a quantidade destas bactérias aumentar durante o tempo de refrigeração, faz com que seja admitido um determinado número de unidades formadoras de colónias de *Enterobacteriaceae* por grama de alimento (ufc/g), aquando da sua admissão para consumo humano. No entanto, é de referir que, são microrganismos sensíveis aos tratamentos térmicos, ou seja, possuem, baixa resistência ao calor [5].

1.3. *Escherichia coli*

A bactéria *Escherichia coli* é um bacilo gram-negativo, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, que expressa as enzimas β -D-galactosidase e β -D-glucuronidase. As bactérias gram-negativas são caracterizadas, pela presença de uma membrana externa na sua constituição. Esta membrana externa é composta por lípidos, lipoproteínas e lipopolissacáridos (LPS). Os LPS são endotoxinas bacterianas, e quando lisados, devido à presença na sua constituição do lípido A, causam reações tóxicas para o organismo humano [5, 8, 9].

Esta bactéria possui a capacidade de crescer em ambientes com temperaturas entre 7°C e 46°C. No entanto a sua temperatura ótima de desenvolvimento situa-se entre os 35°C e 40°C. Algumas estirpes são comensais do trato intestinal do ser humano e de animais de sangue quente, e outras são patogénicas. As estirpes patogénicas podem provocar infeções que levam à origem de doenças intestinais, ou doenças extraintestinais, como pneumonias, bacteremias e diversos tipos de infeções abdominais, como por exemplo, infeções urinárias. As infeções extraintestinais são usualmente causadas por translocação bacteriana, para além da mucosa intestinal [5, 9].

A sua presença em géneros alimentícios deve-se a contaminações cruzadas a partir de matérias-primas de origem animal e vegetal, e do meio ambiente, nomeadamente do solo e de fontes aquosas. A sua presença nos alimentos indica também: um incumprimento das boas práticas de higiene; confeção do produto com temperatura e tempo inadequados, que origina uma cozedura insuficiente; ou contaminação cruzada a partir do alimento cru (nomeadamente carne), do manipulador, e/ou das superfícies em contacto com o alimento [5].

A deteção de *E. coli* não é um indicador fiável de que patogénicos fecais estejam presentes no alimento, assim como a sua ausência não garante a ausência de patogénicos entéricos. Por conseguinte, quando se suspeita de doença, é necessário a realização de ensaios específicos para a deteção de estirpes patogénicas [5].

A sua quantidade em alimentos refrigerados, tende a apresentar uma diminuição conforme o aumento do tempo de refrigeração, o que faz com que o número presente no alimento aquando do consumo do mesmo, seja menor do que no final da produção do mesmo [5].

1.4. *Salmonella* spp.

As bactérias do género *Salmonella* spp. pertencem à família *Enterobacteriaceae*, são gram-negativas, anaeróbias facultativas, e possuem a forma de bacilo. Fermentam a glucose, e a maior parte das espécies não fermenta a lactose. Não possuem a enzima citocromo oxidase, pelo que são oxidase negativas; são indol negativas, ou seja, não produzem indol a partir do triptofano; reduzem os nitratos a nitritos; a maior parte das espécies produz sulfeto de hidrogénio (H₂S), uma propriedade que auxilia na identificação das espécies de *Salmonella*, aquando do uso de meios seletivos; e possuem atividade descarboxilativa da lisina [10-11].

As espécies de *Salmonella* causam uma grande variedade de doenças no ser humano, designadas por salmoneloses. A gravidade desta varia desde uma comum

gastroenterite, até formas mais severas da doença como bacteremia e febre tifoide, que podem ser potencialmente fatais [12].

Todos os serotipos de *Salmonella* pertencem a 2 espécies: *S. bongori*, que contém 18 serotipos; e *S. enterica*, que contém os restantes 2300 serotipos, divididos por 6 subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. enterica* subsp. *indica*. As doenças mais graves associadas a este tipo de bactérias estão associadas maioritariamente com 3 serotipos de *S. enterica* subsp. *enterica*: *Choleraesuis*, *Paratyphi A* e *Typhi* [12].

A *Salmonella* spp. encontra-se no trato intestinal de muitos animais, quer domésticos quer selvagens, e conseqüentemente pode ser também encontrada na natureza. O microrganismo pode assim ser transmitido ao homem pelo contacto com o meio ambiente ou pelo consumo de carne, vegetais, ovos ou outros produtos alimentares contaminados [12].

A identificação da espécie de *Salmonella*, presente num produto alimentar, inclui testes bioquímicos e serológicos [12].

1.5. *Listeria monocytogenes*

O microrganismo *Listeria monocytogenes* é uma bactéria patogénica gram-positiva, que possui na sua constituição a enzima β -D-glucosidase, e que é responsável por causar listeriose. A listeriose é uma doença particularmente severa, chegando mesmo a ser fatal para pessoas idosas, imunocomprometidas, grávidas e para neonatos [13]. A sintomatologia por esta bactéria apresenta diversos tipos de gravidade, desde sintomas semelhantes aos de gripe podendo, ou não, incluir vômitos e diarreia, e sintomas mais graves como meningites e septicemias [14].

A *Listeria* spp. encontra-se bastante disseminada na natureza, e por isso contaminações alimentares, por baixos níveis desta bactéria, são bastante comuns [13]. Possui capacidade de crescer a baixas temperaturas e com requisitos nutricionais baixos [14].

A presença de espécies não patogénicas de *Listeria* spp., nos alimentos, funciona como um indicador da possível presença de espécies patogénicas de *Listeria* spp. nesses mesmos alimentos, ou no meio ambiente em que foram preparados para consumo/venda [13].

1.6. *Staphylococcus coagulase-positiva*

A bactéria *Staphylococcus aureus* é encontrada no meio ambiente, na flora intestinal humana, na pele e nas membranas mucosas (nomeadamente nas mucosas nasais). Esta bactéria normalmente não causa infeções em peles saudáveis, no entanto, se entrar na corrente sanguínea, fica apta a causar vários tipos de doenças [15].

A bactéria *S. aureus* é gram-positiva possui a forma de coco, e divide-se ao longo de 3 planos diferentes, agrupando-se em forma de “cachos de uva”. Esta bactéria é aeróbia, podendo também apresentar crescimento como anaeróbia facultativa [15]. Este microrganismo, possui ainda uma cápsula, composta por polissacarídeos. Quando em condições favoráveis, produz toxinas, nomeadamente, enterotoxinas, responsáveis por intoxicações alimentares e por causar a chamada síndrome do choque tóxico [16].

O principal teste de identificação bioquímica de *S. aureus* é o teste da coagulase, que permite distinguir a espécie *Staphylococcus aureus* das restantes espécies de *Staphylococcus*, visto a espécie *S. aureus* ser coagulase positiva [15].

2. Microbiologia de Águas

Relativamente às análises de águas analisaram-se os seguintes microrganismos: Microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$; Microrganismos a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$; Bactérias coliformes; *Escherichia coli*; *Enterococcus*; *Clostridium perfringens*; e *Pseudomonas aeruginosa*.

2.1. Microrganismos viáveis a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$

Todos os tipos de águas contêm uma grande variedade de microrganismos provenientes de diferentes origens como por exemplo, do solo e da vegetação [17].

As estimativas da quantidade destes microrganismos presentes nos diversos tipos de águas fornecem-nos informações úteis sobre a qualidade das mesmas, e permitem-nos uma monitorização mais eficaz dos vários tipos de águas. Portanto, para que este controlo de qualidade seja possível, são assim realizados ensaios laboratoriais que nos indicam a quantidade de microrganismos capazes de crescer e de formar colónias às temperaturas de $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ [17].

Mais detalhadamente, esta contagem de colónias permite assim: avaliar a integridade das fontes de águas subterrâneas; avaliar a eficiência dos processos de tratamento de águas como a coagulação, a filtração e a desinfecção; obter uma indicação sobre o estado de limpeza e integridade dos sistemas de distribuição de águas; e aferir se um determinado abastecimento de água é o mais adequado para preparação de

alimentos e bebidas, ou seja, se tem um número de microrganismos que possam influenciar a contaminação dos produtos a preparar [17].

Assim, mudanças repentinas no número de colónias existentes, tendo por base uma monitorização constante, indicam-nos que ocorreu alguma forma de poluição que poderá ter de ser averiguada e conseqüentemente colmatada [17].

2.2. Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

Um fator importante na avaliação da qualidade da água, a fim de determinar se a mesma é própria para consumo humano e não representa nenhum risco para a saúde do ser humano, é a presença de poluição fecal. A análise de amostras de água quanto à presença da bactéria *Escherichia coli*, que normalmente se encontra presente no trato intestinal humano e de outros animais de sangue quente, permite-nos analisar a presença de poluição fecal [18].

A pesquisa de Bactérias coliformes, também ajuda na investigação deste tipo de poluição, no entanto de forma mais ambígua, pois estas bactérias também habitam parte do solo e outros tipos de águas superficiais, não tendo sempre origem intestinal. A presença de Bactérias coliformes, é, no entanto, um fator indicativo de que ocorreu alguma falha no sistema de tratamento e distribuição das águas [18].

As Bactérias coliformes são bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, pertencentes à família das *Enterobacteriaceae* e expressam a enzima β -D-galactosidase. Estas bactérias são oxidase negativa, capazes de crescimento em aerobiose, e de crescimento facultativo em anaerobiose na presença de sais biliares ou outros agentes tensioativos com propriedades semelhantes de inibição de crescimento, e fermentam a lactose. A bactéria *Escherichia coli* é uma Bactéria coliforme que expressa as enzimas β -D-galactosidase e β -D-glucuronidase; esta produz indol a partir de triptofano, não utiliza citrato como fonte única de carbono, e é incapaz de crescer em meios com presença de cianeto de potássio (KCN) [18].

2.3. *Enterococcus*

As bactérias *Enterococcus* são gram-positivas, catalase negativas e a sua forma é redonda, denominada em microbiologia de coco; conseqüentemente estes microrganismos crescem formando cadeias entre si [19].

Os *Enterococcus* intestinais são bactérias que são capazes de reduzir cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio a *formazan*, e de hidrolisar esculina [19].

No que diz respeito a análises laboratoriais, podemos considerar os *Enterococcus* como indicadores de poluição fecal, no entanto de referir que a

proveniência dessa poluição poderá ser outra. Um exemplo, de uma espécie relevante do género *Enterococcus*, é a espécie *Enterococcus faecalis*, sendo esta uma das responsáveis por contaminação de meios aquáticos [19].

2.4. *Clostridium perfringens*

O *Clostridium perfringens* é um indicador da poluição fecal. Esta bactéria gram-positiva que não só existe na sua forma de célula vegetativa como forma esporos, está presente no trato intestinal dos animais e seres humanos. Os esporos de *C. perfringens* sobrevivem durante vários meses em fontes aquáticas, sendo que algumas vezes resistem a tratamentos de desinfecção de águas como a cloração [20].

Este microrganismo, cresce em condições de anaerobiose, possui a fosfatase ácida, e tem a capacidade de reduzir sulfitos a sulfuretos [20].

2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria oportunista e patogénica para o ser humano, sendo a mesma capaz de sobreviver em fontes aquosas com quantidades de nutrientes ínfimas. Esta bactéria é testada em águas de piscina, por questões de saúde pública. Trata-se de uma bactéria gram-negativa, possui uma forma alongada em bacilo e não forma esporos. A maior parte das suas estirpes (cerca de 98%), produz um pigmento fluorescente e solúvel em água. Esta espécie diferencia-se da espécie *Pseudomonas fluorescens*, pois é incapaz de crescer a temperaturas baixas que rondem os 4°C [21].

Esta bactéria produz piocianinas, que possuem pigmentação azul/verde, é oxidase e catalase positiva, apresenta fluorescência sob radiação ultravioleta a 360 ± 20 nm, e produz amónia a partir de acetamida [21].

3. Caracterização dos Meios de Cultura

3.1. Microbiologia de Géneros Alimentícios

3.1.1. Microrganismos totais a 30°C

O meio *Plate Count Agar* (PCA) é utilizado para incorporação de amostras de géneros alimentícios, para análise de Microrganismos totais a 30°C [6]. Este meio possui digestão enzimática da caseína e extrato de levedura, que fornecem carbono e azoto possibilitando o crescimento de uma grande variedade de microrganismos;

contém também glicose que funciona como a fonte de hidratos de carbono fermentáveis [22].

3.1.2. *Enterobacteriaceae*

O meio de cultura *RAPID'Enterobacteriaceae* é utilizado para a detecção e enumeração de *Enterobacteriaceae* em amostras de produtos alimentares. Este meio de cultura, permite a obtenção de resultados em 24 horas, e não requer qualquer tipo de confirmação [23].

Este meio tem a sua constituição baseada no meio *Violet Red Bile Glucose* (VRBG) e, por conseguinte, permite o crescimento de bactérias desta família, devido à presença de glicose na sua constituição, e à capacidade das bactérias da família *Enterobacteriaceae*, a fermentarem. Possui também na sua constituição, violeta de cristal e sais biliares, que permitem inibir as bactérias gram-positivas e algumas bactérias gram-negativas [22].

3.1.3. *Escherichia coli*

O meio *Tryptone-Bile-Glucuronide Medium* (TBX) é utilizado para incorporação de amostras de géneros alimentícios, para análise de *Escherichia coli* [8].

O meio TBX possui na sua constituição, um dos 2 substratos: ácido 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glicurónico (*BCIG*) ou o substrato 5-bromo-4-cloro-3-indoxil- β -D-glicuronídeo, também designado por X-glicuronídeo. A enzima β -D-glicuronidase presente na constituição da *E. coli*, cliva um dos substratos, originando colónias de coloração azul em meio TBX [8, 24].

3.1.4. *Salmonella spp.*

O caldo *Salmonella Xpress 2* (SX2) é um meio de enriquecimento seletivo, pré-preparado, para análise de *Salmonella spp.* [25].

O meio de cultura *Chromo Salmonella* contém: peptonas e extrato de carne que fornecem aminoácidos, vitaminas, minerais, carbono e azoto, para o crescimento microbiano; extrato de levedura, que funciona como uma fonte vitamínica; cloreto de sódio, que mantém o equilíbrio osmótico do meio; e uma mistura cromogénica seletiva, que permite identificar microrganismos, através da cor das suas colónias no meio de cultura, e que permite inibir o crescimento de outros microrganismos não específicos. Este meio, no entanto, não impede o crescimento de algumas bactérias gram-negativas,

cujos crescimento assemelha-se a colónias de coloração lilás típicas de *Salmonella*, como por exemplo algumas estirpes mais raras de *Pseudomonas*. Logo para que haja uma identificação indubitável das bactérias do género *Salmonella*, é necessário a realização de testes bioquímicos, como por exemplo, o teste da oxidase que permite uma distinção entre estes 2 géneros [26].

3.1.5. *Listeria monocytogenes*

O caldo *Fraser* é utilizado na deteção de *Listeria* spp. Este contém peptonas, extrato de carne e extrato de levedura, que permitem o crescimento da *Listeria*; para além disso contém cloreto de lítio, ácido nalidíxico e acriflavina, que fornecem seletividade ao meio [27].

O meio Agar *Listeria* de Ottaviani & Agosti (ALOA) é o meio obrigatório, segundo a ISO, para deteção e enumeração da bactéria *Listeria monocytogenes* em produtos alimentares. No meio ALOA, esta bactéria aparece com coloração azul-esverdeada, devido à produção da enzima β -D-glucosidase, que cliva o substrato cromogénico 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glicopiranosídeo, presente no meio. As colónias típicas de *Listeria monocytogenes*, aparecem também neste meio, rodeadas por um halo, sendo que esta zona de precipitação redonda e opaca, resulta da precipitação de ácidos gordos insolúveis em água. Este meio, possui uma vantagem em relação a outros meios seletivos, no que toca ao isolamento da bactéria *Listeria monocytogenes*, pois permite a diferenciação entre estirpes patogénicas de *Listeria* spp.: *L. monocytogenes* e *L. ivanovii*, de outras espécies não patogénicas [13].

3.1.6. *Staphylococcus coagulase-positiva*

O meio de cultura *RAPID'Staph* baseia-se na fórmula do *Baird Parker Agar*, no entanto foi otimizado para a deteção e enumeração de *Staphylococcus aureus* em apenas 24 horas. Este baseia-se na capacidade do microrganismo *Staphylococcus aureus*, reduzir o telurito de potássio, dando origem a colónias de coloração preta, e na capacidade deste microrganismo provocar a proteólise da gema de ovo, originando um halo claro em redor das colónias típicas [22, 28].

O teste *Pastorex Staph-Plus* é um teste de aglutinação manual e qualitativo, planeado para a confirmação/identificação de *S. aureus*. Este teste permite a deteção simultânea: do fator de afinidade de fibrinogénio, ou fator de aglomeração, ou ainda designado de fator de ligação à coagulase; da proteína A, que possui afinidade pelo fragmento cristalizável (Fc) das imunoglobulinas G (IgG); e dos polissacarídeos

capsulares de *S. aureus*. O teste *Pastorex Staph+* faz parte da terceira geração de testes de aglutinação em látex, que basicamente incorporam anticorpos contra polissacarídeos capsulares, ou incorporam anticorpos contra antígenos específicos na superfície celular de *S. aureus*, e simultaneamente detetam o fator de afinidade de fibrinogénio, a proteína A e os polissacarídeos capsulares de *S. aureus*. A combinação de fibrinogénio, IgG e anticorpos anti-capsulares, no mesmo reagente permite o reconhecimento de tanto estirpes muito encapsuladas, como pouco encapsuladas, de *S. aureus*. Para estirpes altamente encapsuladas, os anticorpos polissacáridos anti-capsulares aglutinam a bactéria. Para estirpes que perderam praticamente a sua cápsula polisacarídica, as bactérias são aglutinadas por fibrinogénio e IgG [29].

3.2. Microbiologia de Águas

3.2.1. Microrganismos viáveis a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$

O meio *Yeast Extract Agar* (YEA) ou Meio Agar de Extrato de Levedura é utilizado para incorporação de amostras de água, para análise de Microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e a $36^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ [17]. Este meio, tal como o nome indica contém extrato de levedura, e também peptonas derivadas da caseína, que permitem o crescimento dos microrganismos [17, 22].

3.2.2. Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

O meio *Chromogenic Coliform Agar* (CCA) é um meio de crescimento adequado para Bactérias coliformes, inclusive para a *Escherichia coli* pois: contém peptonas, piruvato, sorbitol, e tampão fosfato, que permitem que ocorra um rápido crescimento das colónias; contém *Tergitol*, que é basicamente um surfactante, composto por um álcool secundário etoxilado, que permite a inibição do crescimento de bactérias gram-positivas e de algumas bactérias gram-negativas; contém os substratos *Salmon-GAL* ou 6-cloro-3-indoxil- β -D-galactopiranosídeo, e o substrato isopropil- β -D-tiogalactopiranosídeo (IPTG), que ao serem clivados pela enzima β -D-galactosidase presente nas Bactérias coliformes, originam colónias rosas/vermelhas; e contém o substrato 5-bromo-4-cloro-3-indoxil- β -D-glicuronídeo ou também designado por X-glicuronídeo, que é clivado pela enzima β -D-glucuronidase presente na bactéria *Escherichia coli*. A *Escherichia coli* ao ser uma Bactéria coliforme, utiliza assim os substratos *Salmon-GAL* e IPTG, mas utiliza também o substrato X-glicuronídeo, pelo que origina colónias azuis/violetas na membrana filtrante. Assim, no meio CCA é

possível distinguir 3 grupos de microrganismos: Bactérias coliformes, que apresentam colónias rosas/vermelhas neste meio; *Escherichia coli*, que apresenta colónias azuis/violetas; e outros tipos de bactérias que não correspondem aos alvos a analisar, que apresentam colónias de coloração bege/amarela [24].

O meio *Membrane Lauril Sulphate Agar* (MLSA) contém peptonas, extrato de levedura, vermelho fenol, lauril sulfato de sódio, e lactose, cuja fermentação irá permitir a produção das colónias características do meio [30].

3.2.3. *Enterococcus*

O meio *Slanetz & Bartley Agar* (SBA) é um meio seletivo que contém azida de sódio, que permite a supressão do crescimento de bactérias gram-negativas; e contém cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio, um corante incolor, que é reduzido a *formazan*, de coloração vermelha pelos *Enterococcus* intestinais. As colónias típicas neste meio apresentam uma coloração vermelha, castanha-avermelhada ou cor-de-rosa escuro; esta coloração pode preencher a totalidade da colónia, ou pode ser apresentada apenas no centro da colónia [19].

O meio *Bile Aesculin Azide Agar* (BEA) tem a função de meio de confirmação das colónias típicas que se formam no meio SBA. Os *Enterococcus* intestinais hidrolisam a esculina presente neste meio num intervalo de tempo de 2 horas; o produto final, a 6,7-dihidroxycumarina, ou também designada de esculetina, reage com iões de ferro (III), formando um composto cuja coloração abrange um conjunto de cores de castanho-claro a preto. A coloração desse composto difunde-se para o meio, sendo que cada colónia típica fica rodeada por esse composto [19].

3.2.4. *Clostridium perfringens*

O ensaio inicial para o *C. perfringens* é realizado incubando a membrana filtrada em meio *Tryptose Sulfite Cycloserine Agar* (TSC) que é um meio seletivo/diferencial. Neste meio o *C. perfringens* reduz os sulfitos a sulfuretos que reagem com o sal férrico presente no meio, possibilitando o aparecimento de colónias pretas, cinzentas ou amarelo acastanhadas [20].

O meio de crescimento e confirmação para o *C. perfringens*, tem de ser um meio agar sangue, ou seja, tem de possuir na sua constituição uma percentagem de 5% de sangue que poderá ser proveniente de diferentes animais como cavalos ou carneiros. Um meio que preenche este requisito, é o Meio *Columbia Agar* 5% sangue de carneiro, pois possui na sua constituição peptonas, amido e sangue de carneiro [20].

3.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Este microrganismo cresce em meios seletivos que contenham brometo de hexadeciltrimetilamônio, ou também designado de brometo de cetrimônio, ou ainda de cetrimida, como é o caso do meio *Pseudomonas CN Agar* (PCN) [21].

O meio King's B é um meio de confirmação para *P. aeruginosa*, que permite a detecção de pioverdina, e conseqüentemente possibilita a detecção de fluorescência [21, 31].

4. Caracterização dos Parâmetros Físico-Químicos

4.1. pH

A medição do pH é um dos testes mais realizados nos ensaios físico-químicos de águas. Praticamente todas as etapas no abastecimento de águas, e no tratamento de águas residuais, como a desinfecção, precipitação, e coagulação, são dependentes de pH [32].

O controle do pH de águas de piscina é essencial, não só para a qualidade das águas, mas também para a durabilidade das piscinas e dos seus equipamentos. O pH baixo provoca irritação nos olhos e na pele das pessoas, enquanto, o pH alto provoca turvação nas águas e o aparecimento de calcário nas tubagens e nos equipamentos [33].

A uma dada temperatura, a intensidade do caráter ácido ou básico de uma solução é indicada pelo pH ou pela atividade do íão hidrogénio [32]. O princípio básico das medições eletrométricas de pH é a determinação da atividade dos íões de hidrogénio por medição potenciométrica, usando um elétrodo de medição, sensível ao pH, e um elétrodo de referência, ou um elétrodo combinado que inclui um elétrodo de medida e um de referência [34].

4.2. Condutividade

A condutância (G) de uma solução, é definida como o inverso da resistência elétrica, sendo a sua mediação realizada entre dois elétrodos fixos e quimicamente inertes, e o seu cálculo é realizado através da seguinte fórmula [35]:

$$G = k \left(\frac{A}{L} \right) \quad (1)$$

Em que:

- k = condutividade, que é uma propriedade característica da solução entre elétrodos;
- A = área do eletrodo;
- L = distância entre eletrodos.

A condutividade (k) é a medida da capacidade que uma solução aquosa tem para conduzir uma corrente elétrica. Esta capacidade depende da presença de íões, e da sua concentração total, mobilidade e valência, e da temperatura de medição; por exemplo: uma solução de NaCl 1M conduz melhor a corrente elétrica, ou seja, tem uma condutividade maior, do que uma solução 0,1M de NaCl, porque a solução mais concentrada contém um número maior de íões por unidade de volume. A preparação de soluções de cloreto de potássio (KCl), permite a obtenção de soluções padrão de condutividade [35].

Soluções constituídas maioritariamente por compostos inorgânicos são relativamente boas condutoras. Soluções constituídas por moléculas de compostos orgânicos que não se dissociam, conduzem uma corrente elétrica muito fraca, ou nenhuma [35].

A unidade de medição da condutividade pode ser expressa em microSiemens por centímetro ($\mu\text{S}/\text{cm}$) [35].

A sonda associada ao medidor de condutividade, possui uma célula com 4 elétrodos de platina em forma de anel [36]. A essa célula, está associada uma constante, denominada por constante de célula (K), expressa em centímetros à potência menos um (cm^{-1}). Essa constante resulta da geometria da célula e pode ser determinada pela seguinte equação [37]:

$$K = \frac{L}{A} \quad (2)$$

Em que:

- L = comprimento de um dado condutor elétrico;
- A = área da seção transversal de um dado condutor elétrico.

Qualquer aparelho medidor de condutividade, tem de ter em conta a constante de célula utilizada, para que seja possível uma correta exibição dos seus resultados. Alguns aparelhos, estão equipados com um sistema de controlo da célula de medida [37]. Esse controlo aparece no visor do medidor de condutividade, através do parâmetro designado por *cell factor* ou fator de célula (C.F.), que nos dá automaticamente a constante de célula associada a um dado intervalo de condutividade

[36]. Para os diferentes intervalos de condutividade, são recomendados diferentes valores de constante de célula, no entanto para a maior parte das amostras considera-se como satisfatório, um valor de constante de célula entre 1 e 2 cm^{-1} [38].

A temperatura de uma amostra de água, influencia o valor de condutividade da mesma. A temperatura de leitura de soluções padrão, na condutividade, é de 25°C. No entanto, para a leitura de amostras, na condutividade, a temperatura é de 20°C [36, 39, 40].

4.3. Turvação

A transparência de uma amostra de água, é importante no fabrico de produtos destinados a consumo humano. Os produtores de bebidas e alimentos, e as estações de tratamento de águas, muitas vezes recorrem a processos como, a sedimentação e a filtração para aumentar a transparência das águas, e assegurar a qualidade dos seus produtos [41].

A turvação nas águas é causada pela matéria suspensa e coloidal, como a argila, o lodo, matéria orgânica e inorgânica finamente dividida, plâncton e alguns microrganismos; pelo que a turvação é assim uma redução na transparência de um líquido, por exemplo, de uma amostra de água, causada pela presença de matéria não dissolvida [41-42].

A turvação nos diferentes tipos de amostras de águas pode ser determinada através do princípio nefelométrico, utilizando um turbidímetro. O princípio nefelométrico é, no entanto mais aplicável a amostras de água, com baixas turvações, como por exemplo, águas destinadas ao consumo humano. Este método baseia-se na comparação da intensidade da luz dispersa da amostra sob condições definidas, com a intensidade da luz dispersa da suspensão padrão de referência sob as mesmas condições. Quanto maior a intensidade da luz dispersa, maior a turvação [42-43].

O polímero de formazina é usado como padrão internacional para a turvação, e possui uma turbidez de 4000 Unidades Nefelométricas de Turbidez (UNT) [43].

4.4. Cloro Residual Livre

A oxidação da N,N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD) é usada para determinar concentrações de permanganato. O permanganato de potássio (KMnO_4), por exemplo, reage com a DPD, dando origem a uma reação colorimétrica, que fornece uma cor magenta à solução a analisar, e que pode ser detetada com o uso de um fotômetro (Figura 1) [44-45].

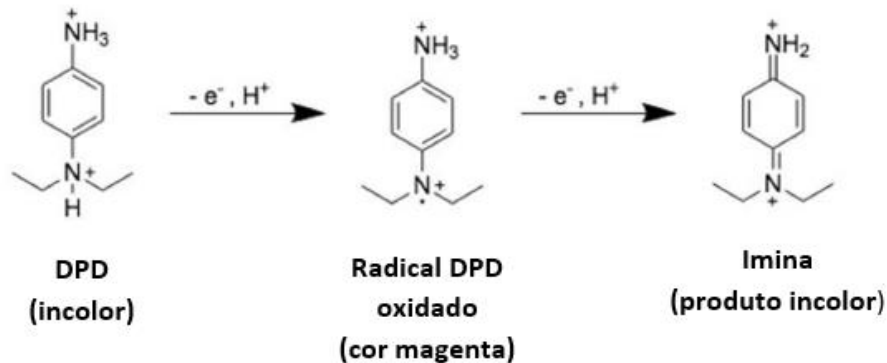


Figura 1 – Oxidação da DPD pelo permanganato, com formação de um radical intermediário de cor magenta, cuja absorvância pode ser detetada, através do uso de um fotômetro [adaptado de 44].

Em determinadas circunstâncias, certas soluções de KMnO_4 , têm as suas concentrações equivalentes a certas soluções de cloro (Cl_2), pelo que a análise da reação de soluções de KMnO_4 com DPD através de um fotômetro, permite analisar indiretamente soluções de Cl_2 [45].

5. Conceitos relativos à Acreditação de Laboratórios Químicos – Controlo de Qualidade Interno

5.1. Critério de Aceitação

Consideram-se como exemplos de critérios pré-definidos: os critérios de aceitação e rejeição de duplicados, de padrões de controlo, etc [46].

Devem existir critérios de aceitação para os equipamentos, nomeadamente valores máximos e mínimos aceitáveis, face aos fins e usos a que se destinam, e que permitam analisar os resultados dos ensaios e das calibrações efetuadas com os devidos padrões. Um critério de aceitação pode ser assim definido, como o intervalo de valores, no qual é aceitável um equipamento realizar as suas medições, sem que o erro associado seja prejudicial na determinação do valor associado a um parâmetro. [46]

5.2. Carta de Controle

O controle neste caso deve ser entendido como o conjunto de ações necessárias para monitorizar um processo e reconduzi-lo às suas condições normais de operação sempre que este se afaste de um padrão de comportamento normal, o que implica a existência de *feedback* do processo e de ações corretivas. O controle estatístico de um processo é assim importante, para verificar se o mesmo continua sob controle [47].

As cartas de controle são muito utilizadas em condições de rotina dos métodos, no controle das operações inerentes à realização de um método de ensaio, e no controle de equipamentos automáticos. Representam ao longo do tempo um determinado parâmetro ou uma média em função do teor. Têm uma periodicidade correspondente a cada dia de trabalho, devem ter o número de pontos que forem necessários e indicar qual o procedimento a adotar para realização dos ensaios. Servem também para determinação dos valores associados aos padrões de controle, em cada sessão de trabalho e por cada lote de amostra [48].

Os limites de controle são linhas representativas dos limites da variação normal [47], que permitem ao operador saber se tem ou não o processo sob controle [48]. A carta de controle deve ser entendida como um conjunto de gráficos constituídos por uma linha central e limites de controle [47]:

- Linha central: é uma linha que poderá corresponder à média das leituras efetuadas [48].
- Limite Superior de Controle (LSC): é uma linha que poderá corresponder ao valor da linha central acrescida de $3s$, onde s representa o desvio padrão da grandeza a ser controlada [48].

$$\text{LCS} = \bar{x} + (3 \times \sigma), \text{ em que: } \bar{x} = \text{média e } \sigma = \text{desvio padrão}$$

- Limite Inferior de Controle (LIC): é uma linha que poderá corresponder ao valor da linha central subtraída de uma grandeza definida por $3s$, onde s representa o desvio padrão das leituras [48].

$$\text{LIC} = \bar{x} - (3 \times \sigma), \text{ em que: } \bar{x} = \text{média e } \sigma = \text{desvio padrão}$$

- Limite Superior de Alerta (LSA): linha que alerta o operador que poderá estar a entrar numa zona de perigo. É usual definir esta linha a partir da linha central acrescida de $2s$, se o limite superior de controle tiver sido definido por $3s$, onde s representa o desvio padrão das leituras [48].

$$\text{LSA} = \bar{x} + (2 \times \sigma), \text{ em que: } \bar{x} = \text{média e } \sigma = \text{desvio padrão}$$

- Limite Inferior de Alerta (LIA): linha que alerta o operador que poderá estar a entrar numa zona de perigo. É usual definir esta linha a partir da linha central subtraída de $2s$, se o limite inferior de controlo tiver sido definido por $3s$, onde s representa o desvio padrão das leituras [48].

$$\text{LIA} = \bar{x} - (2 \times \sigma), \text{ em que: } \bar{x} = \text{média e } \sigma = \text{desvio padrão}$$

Assim, pontos acima do LSC ou abaixo do LIC, devem ser rejeitados, e os ensaios associados são passíveis de repetição. Pontos, acima do LSA ou abaixo do LIA, representam a entrada numa “zona de perigo” da gama de trabalho. As cartas de controlo permitem assim detetar possíveis situações anormais que possam ocorrer durante a execução dos métodos de ensaio [48].

5.3. Duplicados

Os duplicados visam controlar a precisão de resultados produzidos por um laboratório, pelo que devem ser realizados a cada de dia de trabalho. Trata-se de uma ferramenta de erros acidentais, e de controlo de repetibilidade [49].

O recurso à análise em duplicado não garante que o resultado final tenha um menor erro/menor exatidão, pois se houver um erro sistemático, ambos os duplicados o possuirão [49].

O uso de duplicados é recomendado para análises com vários passos e fontes de erro [49].

5.4. Limite de Quantificação (LQ)

Segundo o IPAC, o conceito de Limite de Quantificação (LQ), deve ser entendido como: o início da gama em que o coeficiente de variação do sinal e o erro relativo se reduziram a valores razoáveis (normalmente 10%) para se poder efetuar uma avaliação quantitativa; deste modo, o LQ será o início da zona em que se reportam valores numéricos [50].

A determinação do valor de LQ deve ser realizada mensalmente, para assegurar que a leitura pelos aparelhos do início da zona em que se reportam valores numéricos se mantém, e consequentemente assegurar o bom funcionamento dos aparelhos. Como precaução, cada laboratório, deve adotar o uso de um valor “típico” de LQ majorado por excesso [50].

5.5. Ensaio em Paralelo

Os ensaios em paralelo têm por objetivo avaliar a variabilidade de resultados entre os técnicos, pelo que estes têm de ser precisos e não exatos, pois a exatidão apenas se aplica nos ensaios com padrões pré-definidos [3, 51].

Devem-se examinar no mínimo 10 amostras de controlo, para cada um dos métodos por matriz e gama de trabalho, envolvendo todo o equipamento. Os ensaios em paralelo devem ser efetuados por diferentes técnicos e em dias distintos. No entanto, quantos mais ensaios e mais leituras se realizarem, mais dados analíticos estarão associados, e mais se comprova a implementação de um método [3, 51].

5.6. Ensaio de linearidade

Para avaliar a linearidade de um método, deve-se recorrer a representação gráfica e análise do coeficiente de correlação. Devem existir critérios para aceitação das curvas de calibração relativas à linearidade. Os coeficientes de correlação indicam boa correlação, e uma possibilidade de existência de uma boa linearidade [52].

A análise da linearidade, é encarada como um estudo que deve ser realizado durante a fase de validação/implementação de um método. Após implementação, deve ser feita anualmente como análise de rotina, a avaliação da linearidade de uma curva de calibração de um determinado método analítico, através da sua representação gráfica e respetivo coeficiente de correlação [52].

6. Legislação Portuguesa e Europeia

6.1. Géneros Alimentícios

Na União Europeia, foram estabelecidos critérios microbiológicos para alimentos específicos, sendo que de uma forma geral estes, não devem conter microrganismos, toxinas e metabolitos que representem risco para a saúde pública [2].

A 28 de Janeiro de 2002, surgiu o Regulamento (CE) n.º 178/2002, que estabeleceu requisitos de segurança alimentar, e designou que os géneros alimentícios não seguros não poderão ser comercializados [2].

O Regulamento (CE) n.º 2073/2005 de 15 de novembro, revogado pelo 1441/2007 de 5 dezembro, é também referente a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Este regulamento incide particularmente sobre os microrganismos *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* [2].

6.2. Setor das Águas de Consumo Humano e Águas de Piscina

6.2.1. Parâmetros Microbiológicos e Físico-Químicos

A legislação em vigor para análise de parâmetros microbiológicos e físico-químicos para águas de consumo humano, baseia-se no Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com as alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro, e na Circular Normativa da Direção Geral de Saúde (DGS) n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009, para águas de piscina (Tabelas 1 e 2) [39-40].

Tabela 1 – Legislação para parâmetros microbiológicos em Águas destinadas ao Consumo Humano e de Piscina.

Microorganismo(s)	Legislação	Matriz	Valor Paramétrico
Microorganismos a 22±2°C	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	100 ufc/mL
Microorganismos a 36±2°C	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	20 ufc/mL
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	* recomendado 100 ufc/mL
<i>Escherichia coli</i>	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	0 ufc/100 mL
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	0 ufc/100 mL
Bactérias Coliformes	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	0 ufc/100 mL
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	10 ufc/100 mL *recomendado 0 ufc/100 mL
<i>Enterococcus</i>	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	0 ufc/100 mL
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	0 ufc/100 mL
<i>C. perfringens</i>	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	0 ufc/100 mL
<i>P. aeruginosa</i>	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	0 ufc/100 mL

Tabela 2 – Legislação para parâmetros físico-químicos em Águas destinadas ao Consumo Humano e de Piscina.

Parâmetro	Legislação	Matriz	Valor Paramétrico
pH	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	≥6,5 e ≤9,5 unidades de pH na Escala de Sorensen a 25°C
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	≥6,9 e ≤8,0 unidades de pH na Escala de Sorensen a 25°C
Condutividade	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	≤2500 µS/cm a 20°C
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	1500 µS/cm a 20°C
Turvação	Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro	Consumo Humano	4 UNT
	Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009	Piscina	0,5 – 4 UNT

Capítulo 3 – Métodos experimentais

7. Métodos de Análise

Os métodos laboratoriais referidos ao longo deste capítulo, foram realizados conforme o anexo técnico de acreditação (anexo 1), e variaram desde ensaios normalizados, a ensaios por métodos alternativos com validação pela *Association Française de Normalization* (AFNOR).

7.1. Géneros Alimentícios – Métodos Normalizados e Métodos Alternativos

7.1.1. Preparação da suspensão-mãe

Para a preparação da suspensão-mãe utilizou-se como diluente o meio de pré-enriquecimento, água peptonada tamponada (APT), com exceção do método de pesquisa de *Listeria monocytogenes* que se utilizou o meio seletivo primário *half-fraser*. Na preparação da suspensão-mãe adicionou-se x g ou x mL da amostra a 9x mL ou 9x g do meio de pré-enriquecimento, desta maneira teve-se uma diluição de 1/10 (conforme a norma ISO 6887-1). Homogeneizou-se a amostra e aguardou-se que as grandes partículas sedimentassem. Realizaram-se de seguida as diluições, para tal transferiu-se 1 mL da suspensão-mãe para um tubo contendo APT à temperatura

ambiente (diluição 10^{-2}). Misturou-se a amostra no vórtex durante 5 a 10 segundos. Este passo foi repetido para as restantes diluições [2, 22].

7.1.2. Contagem de Microrganismos totais a 30°C – Método por incorporação – ISO 4833-1:2013

Preparou-se a suspensão-mãe e respetivas diluições. Colocou-se com uma pipeta estéril, 1 mL da amostra numa placa de Petri esterilizada, e fez-se o mesmo para as respetivas diluições. Adicionou-se cerca de 12 a 15 mL do meio de cultura PCA, arrefecido a 44°C – 47°C, às placas que continham o inóculo. Misturou-se cuidadosamente o inóculo ao meio de cultura e deixou-se solidificar sob uma superfície horizontal. Inverteram-se as placas e colocaram-se na estufa a (30 ± 1) °C, por um período de (72 ± 3) h. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem de colónias, em placas que continham menos de 300 colónias (Figura 2). As placas foram analisadas sob uma luz difusa [6].

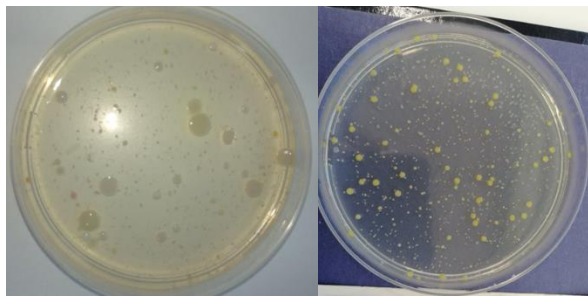


Figura 2 – Exemplo de crescimento em meio PCA.

7.1.3. *Enterobacteriaceae* – AFNOR BRD 07/24 – 11/13

Método por Inoculação:

Preparou-se a suspensão-mãe e respetivas diluições. Colocou-se com uma pipeta estéril, 1 mL da amostra inicial numa placa de Petri esterilizada, e fez-se o mesmo para as respetivas diluições. Colocou-se o meio de cultura RAPID'*Enterobacteriaceae* previamente fundido a $(44 - 47)$ °C e homogeneizou-se o inóculo com o meio. Incubaram-se as placas a 37 ± 1 °C por um período de 24 ± 2 h [23].

Leitura e Interpretação:

Após 24 h de incubação, contou-se o número de colónias características presentes em cada placa. As colónias características de *Enterobacteriaceae* foram distinguíveis

devido à sua coloração vermelha (glucose positivas) e ao seu diâmetro igual ou superior a 0,5 mm, possuindo (ou não) à sua volta uma zona de precipitação (Figura 3) [23].

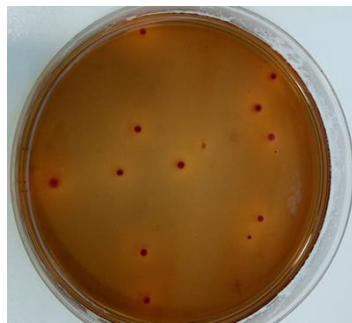


Figura 3 – Exemplo de colónias típicas de *Enterobacteriaceae*.

7.1.4. *Escherichia coli* – ISO 16649-2:2001

Preparou-se a suspensão-mãe e respectivas diluições. Colocou-se com uma pipeta estéril, 1 mL da amostra inicial numa placa de Petri esterilizada, e fez-se o mesmo para as respectivas diluições. Em cada placa de Petri contendo o inóculo, deitou-se cerca de 15 mL de meio TBX, previamente arrefecido em banho-maria a 44 – 47°C. Misturou-se o inóculo com o meio e deixou-se solidificar. Inverteram-se as placas de Petri inoculadas e incubaram-se à temperatura de 44°C por um período de 18h a 24h. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem de colónias típicas de β-glucuronidase-positiva. Contaram-se as placas que continham menos de 150 colónias típicas e menos de 300 colónias totais (colónias típicas e não-típicas). As colónias típicas em meio TBX apresentaram uma coloração azul (Figura 4) [8].

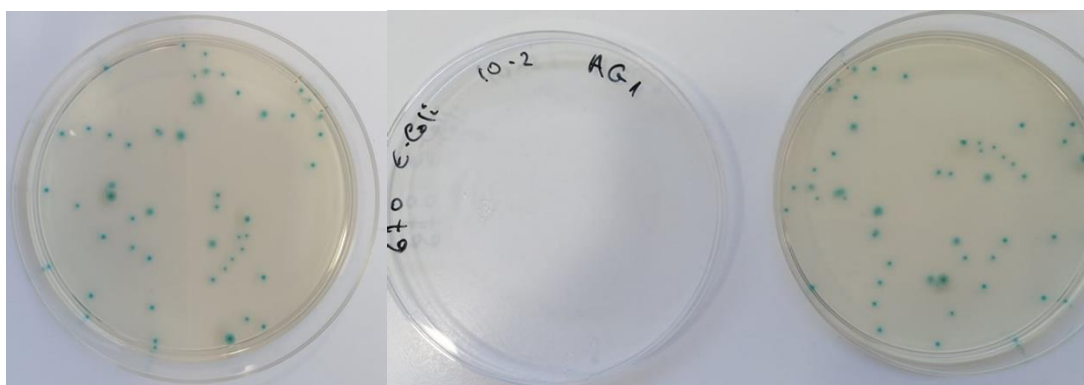


Figura 4 – Exemplos de crescimento em meio TBX. À direita é possível observar o crescimento de uma estirpe previamente identificada como *E. coli*.

7.1.5. *Salmonella spp.* – Método VIDAS *Easy SLM* – AFNOR BIO 12/16-09/05, confirmação de resultados positivos pela ISO 6579-1:2017

Pesaram-se 25 g do produto para um saco *stomacher*. Adicionaram-se 225 mL de APT. Homogeneizou-se a amostra no *stomacher*. Incubou-se a amostra a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de 16 a 22 h. Transferiu-se 0,1 mL para um tubo de caldo SX2. Incubou-se o tubo de caldo SX2 a $41,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de 22 a 26 h. Findo o tempo de incubação ligou-se o bloco de aquecimento designado por VIDAS *Heat & Go*, e aguardou-se uma hora para estabilização da temperatura. Certificou-se que o indicador do VIDAS *Heat & Go* estava a piscar ou apagado, e que se encontrava à temperatura de $131^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ antes da colocação da(s) barrete(s) VIDAS (Figura 5) [53].



Figura 5 – Barretes pertencentes ao kit específico para deteção de *Salmonella* spp.

Transferiram-se 0,5 mL para uma barrete de VIDAS SLM. Colocou-se a barrete no VIDAS *Heat & Go* por um período de 15 ± 1 minutos (Figura 6) [53].



Figura 6 – Processo de aquecimento das barretes, no bloco de aquecimento VIDAS *Heat & Go*.

Retirou-se e deixou-se arrefecer por um período de 10 minutos. Colocou-se a barrete no Mini-Vidas, um aparelho com um sistema de imunoensaio, e seguiram-se as instruções do equipamento (Figura 7) [53].



Figura 7 – Utilização do aparelho Mini-Vidas na deteção de amostras de *Salmonella* spp.

Findo o tempo do ensaio verificaram-se os resultados obtidos. Nos casos positivos (Figura 8), efetuou-se o procedimento de confirmação [53].

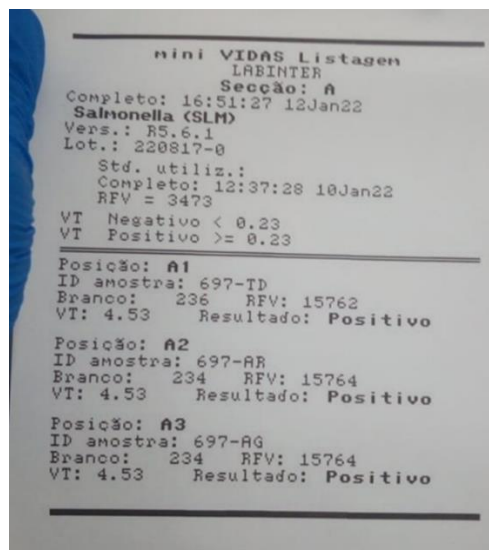


Figura 8 – Resultados positivos de ensaios em paralelo para uma amostra cega de *Salmonella* spp., previamente identificada como 697.

Confirmação:

Retiraram-se 10 µL do caldo SX2 e inoculou-se uma placa contendo o meio *Chromo Salmonella* Agar (Figura 9). Incubou-se a placa inoculada por um período de 24h a 37 ± 1°C e, efetuou-se a restante confirmação de acordo com o método da ISO 6579-1:2017 [53].

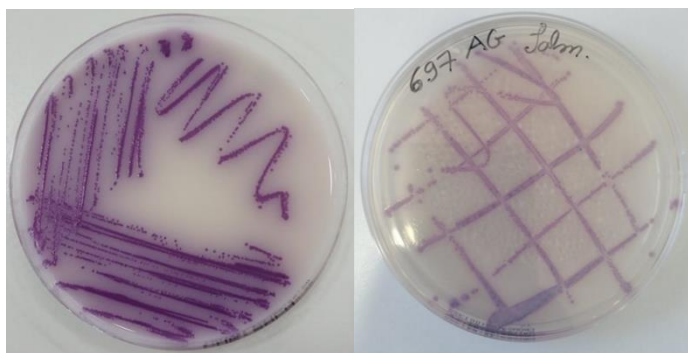


Figura 9 – Exemplos de crescimento em meio *Chromo Salmonella* (meio de confirmação).

7.1.6. *Listeria monocytogenes* – Método VIDAS Easy LMO2 – AFNOR BIO 12/11-03/04, confirmação de resultados positivos com ALOA

Pesaram-se 25 g do produto para um saco *stomacher*. Adicionaram-se 225 mL de meio *half-fraser*. Homogeneizou-se a amostra no *stomacher*. Incubou-se a 30 ± 1°C por um período de 24 a 26 h. Transferiu-se 0,1 mL para um tubo de *fraser*. Incubou-se o tubo de *fraser* a 37 ± 1°C por um período de 24 a 26 h. Findo o tempo de incubação colocaram-se 0,5 mL do inóculo numa barrete de VIDAS LMO2 (Figura 10) [54].



Figura 10 – Barretes pertencentes ao *kit* específico para detecção de *Listeria monocytogenes*.

Colocou-se a barrete no Mini-Vidas e seguiram-se as instruções do equipamento. Findo o tempo do ensaio verificaram-se os resultados obtidos. Nos casos positivos (Figura 11), efetuou-se o procedimento de confirmação [54].

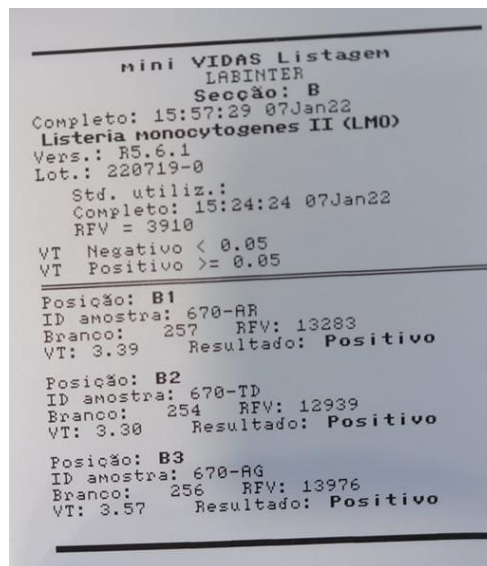


Figura 11 - Resultados positivos de ensaios em paralelo para uma amostra cega de *Listeria monocytogenes*, previamente identificada como 670.

Confirmação:

Com uma ansa repicou-se o inóculo do tubo de *fraser* e efetuou-se o riscado em meio ALOA. Incubou-se a placa inoculada por um período de 24h a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Consideraram-se positivas as placas que apresentaram colónias azul-esverdeadas com halo (Figura 12) [54].

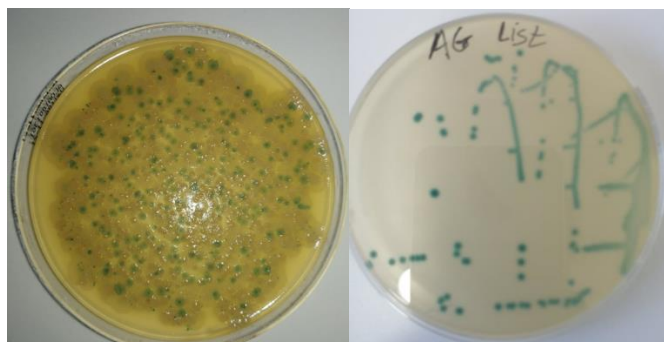


Figura 12 – Exemplos de crescimento em meio ALOA. À direita é possível observar o crescimento de uma estirpe previamente identificada como *Listeria monocytogenes*.

7.1.7. ***Staphylococcus coagulase-positiva* – AFNOR BRD 07/09-02/05**

Preparou-se a suspensão-mãe e respectivas diluições. Secaram-se previamente as placas de Petri contendo o meio de cultura *RAPID'Staph*. Colocou-se 0,1 mL da amostra inicial e procedeu-se ao espalhamento sem tocar nas paredes da placa. Procedeu-se de igual modo para as seguintes diluições tendo sempre o cuidado de utilizar novas pontas estéreis. Incubaram-se as placas invertidas a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de $24 \pm 2\text{h}$ [28].

Leitura e Interpretação:

Após incubação, procedeu-se à contagem de colónias típicas de *Staphylococcus coagulase-positiva*. Estas tratavam-se de colónias pretas opacas com um halo claro em seu redor, devido à zona de proteólise (Figura 13) [28].

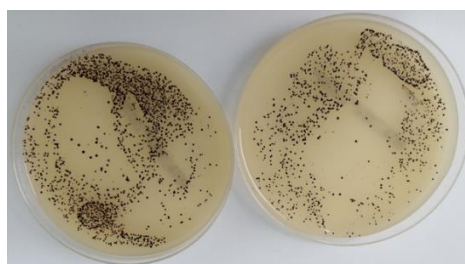


Figura 13 – Exemplos de crescimento em meio *RAPID'Staph*.

Confirmação:

Após leitura das placas de *RAPID'Staph*, e na presença de colónias características de *Staphylococcus coagulase-positiva*, procedeu-se ao teste de confirmação *Pastorex Staph+* (Figura 14) [28-29].



Figura 14 – Teste Pastorex *Staph*+, com o reagente látex e reagente controlo negativo.

Homogeneizou-se o reativo de látex em vórtex. Depositou-se uma gota do reativo de látex num dos círculos da cartolina. Depositou-se uma gota do reativo de látex controlo negativo num outro círculo da cartolina. Com um “cotonete” de plástico, apanharam-se 1 a 3 colónias características de *Staphylococcus* coagulase-positiva e misturaram-se na gota de reativo de látex durante 10 segundos. Repetiu-se o passo anterior para o reativo de látex controlo negativo. Homogeneizou-se girando lentamente a cartolina. A leitura foi efetuada durante os 30 segundos que precederam ao início dos movimentos da cartolina (Figura 15) [28-29].

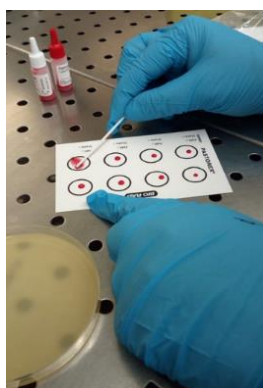


Figura 15 – Procedimento de confirmação pelo kit/teste de confirmação *Pastorex Staph*+

Avaliaram-se (Figura 16) e anotaram-se os resultados de acordo com a Tabela 3. Descartou-se a cartolina num recipiente com desinfetante [28-29].

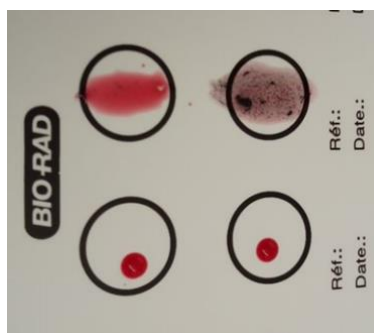


Figura 16 – Reação negativa, em que não ocorre formação de agregados, e reação positiva, com agregados de coloração preta.

Tabela 3 - Interpretação de Resultados do teste *Pastorex Staph+* [29].

Reação Positiva	As reações positivas manifestam-se através da formação de agregados somente no reativo de látex e até 30 segundos do movimento de homogeneização da cartolina. Os agregados em situações normais são visíveis a olho nu. Estes agregados podem ser de vários tamanhos, possuem um fundo rosa mais ou menos leitoso.
Reação Negativa	Em situação de uma reação negativa, não se produzem agregados e a suspensão mantém um aspeto leitoso.
Resultados Sem Interpretação	Caso se verifique aglutinação no reativo de látex do controlo negativo este constitui um resultado sem interpretação. Nestas situações, a identificação deve ser efetuada com recurso a um método alternativo.

7.2. Microbiologia de Águas de Consumo Humano e Piscina – Métodos Normalizados e Métodos Alternativos

7.2.1. Microrganismos viáveis a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ – ISO 6222:1999

Preparou-se o meio YEA, distribuiu-se por frascos de capacidade adequada e autoclavou-se a 121°C durante 15 minutos. Colocou-se 1 a 2 mL da amostra em caixas de Petri estéreis. Adicionou-se o meio de cultura adequado à amostra e homogeneizou-se muito lentamente. Inoculou-se pelo menos uma placa de Petri para cada temperatura de incubação ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $36\pm 2^{\circ}\text{C}$). Inverteram-se as placas, e colocaram-se a $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de $44 \pm 4\text{h}$ e a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de $68\text{h} \pm 4\text{h}$. Após o período de incubação analisaram-se as placas de Petri e contaram-se, para cada temperatura, as colónias existentes em cada placa (Figuras 17 e 18) [17].

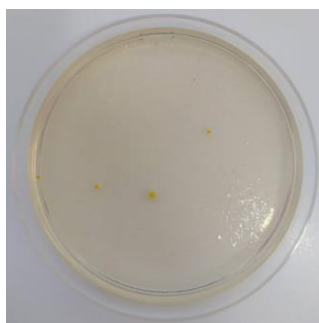


Figura 17 – Microrganismos a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$.

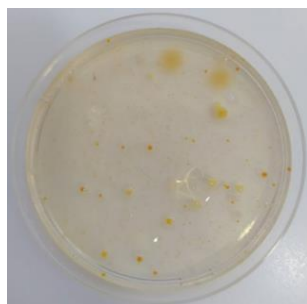


Figura 18 – Microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$.

7.2.2. Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

De referir que, existem 2 métodos para pesquisa e quantificação de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, dependendo se a água a analisar é uma água de rede (água tratada) ou de captação própria (água não tratada).

7.2.2.1. Águas de Rede – ISO 9308-1:2014

Filtraram-se 100 mL da amostra a ser estudada através de uma membrana filtrante. Colocou-se a membrana filtrante no respetivo meio CCA. Inverteu-se a placa e incubou-se a $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de 21 a 24 h. Observou-se a membrana e: contaram-se como colónias presumíveis de Bactérias coliformes todas as colónias que apresentaram uma reação positiva β -D-galactosidase (coloração rosa a vermelho), não sendo estas *Escherichia coli*; e contaram-se todas as colónias que apresentaram uma reação positiva β -D-galactosidase e β -D-glucuronidase (coloração azul a violeta) como *Escherichia coli* (Figura 19) [18].



Figura 19 – Exemplos de crescimento em meio CCA.

Efetou-se a confirmação das colónias β -D-galactosidase (coloração rosa a vermelho), visto estas poderiam ser um desenvolvimento de outras bactérias, tais como, *Aeromonas* spp. A confirmação foi efetuada através do teste oxidase (Figura 20) e confirmaram-se pelo menos 10 colónias presumíveis de Bactérias coliformes.

Considerou-se o aparecimento de cor azul-púrpura escuro em 30 segundos como teste positivo. As colónias oxidase negativa são consideradas como Bactérias coliformes [18].

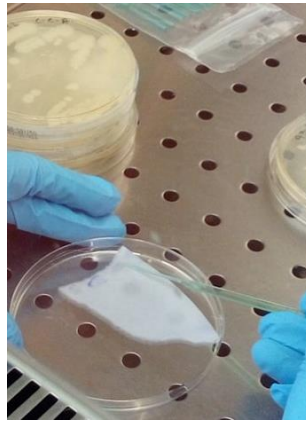


Figura 20 – Teste da oxidase.

Nos casos em que as membranas apresentaram uma flora considerável, as colónias presumíveis se encontraram muito próximas de outras, ou ainda as colónias presumíveis foram muito pequenas, efetuaram-se subculturas por forma a se efetuar o teste oxidase com culturas puras e garantir o seu correto desempenho. Efetuaram-se as subculturas em meio de cultura não seletivo *Tryptic Soy Agar* (TSA), e incubaram-se a $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ por um período de (21 ± 3) h (Figura 21) [18].

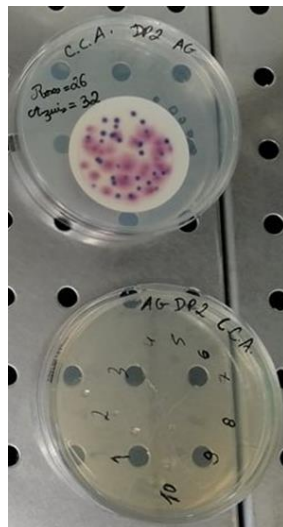


Figura 21 – Transferência de 10 colónias rosas/vermelhas, do meio CCA, para meio TSA.

Leitura e Interpretação:

O total de Bactérias coliformes foi determinado através do somatório das colónias rosa/púrpura com teste oxidase negativa e as colónias azuis a violeta [18].

O total de *Escherichia coli* foi determinado através da contagem de todas as colónias azuis a violeta, presentes na membrana filtrante [18].

7.2.2.2. Águas de Captação Própria – Método Interno 01 – Pesquisa e Quantificação de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

Filtraram-se 100 mL da amostra a ser estudada através de uma membrana filtrante. Após filtração, colocou-se a membrana filtrante numa placa contendo o meio MLSA, e incubou-se a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 21 ± 3 horas. Após incubação, observou-se a membrana e contaram-se como Bactérias coliformes presumíveis, todas as colónias de cor amarela ou laranja, independentemente do seu tamanho, e do facto de evidenciarem ou não cor amarela no meio de cultura por baixo da membrana filtrante (Figura 22). Nos casos em que no meio MLSA cresceram colónias de cor laranja cuja produção de ácido a partir da lactose, ou seja, a fermentação da lactose, não foi evidente, voltaram-se a incubar as placas à temperatura de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ por um período adicional de 21 ± 3 horas [30].

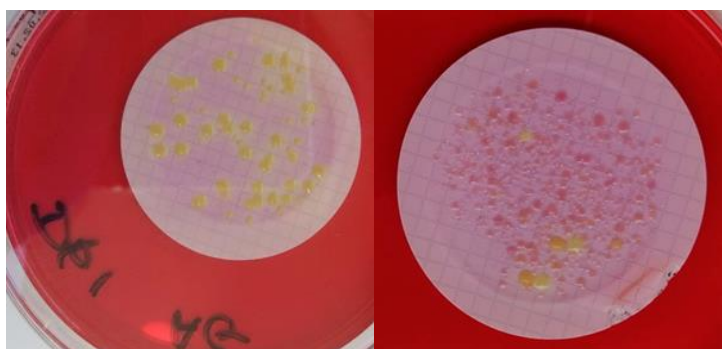


Figura 22 – Exemplos de crescimento em meio MLSA.

Das colónias presumíveis de serem Bactérias coliformes, repicaram-se pelo menos 5, para um meio de isolamento não seletivo como por exemplo, o meio TSA (Figura 23). Incubou-se a placa de TSA a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 21 ± 3 horas [30].



Figura 23 – Transferência de 5 colônias amarelas/laranjas, do meio MLSA, para meio TSA.

Findo o período de incubação executou-se o teste da oxidase. O aparecimento de cor azul-púrpura escuro em 30 segundos, significou uma reação positiva à oxidase (Figura 24). Consideraram-se como Bactérias coliformes, as colônias que fermentaram a lactose (presente no meio MLSA) e que foram oxidase negativa [30].

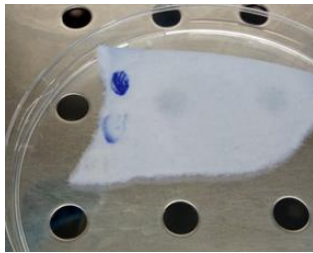


Figura 24 – Teste da Oxidase com reação positiva.

As colônias que se confirmaram como Bactérias coliformes foram repicadas para tubos com o meio de cultura *DEV-fluorocult*, e incubadas a $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 21 ± 3 horas. Após a incubação nos casos em que as colônias foram consideradas como positivas, observou-se a fermentação da lactose, i.e., alteração da cor do meio de cultura de lilás para amarelo (Figura 25), e observou-se fluorescência sob a luz UV (Figura 26). Nos casos em que a fluorescência foi negativa, voltou-se a incubar o tubo novamente por mais um período de 21 ± 3 horas. Findo este período, observou-se novamente a fluorescência, e a necessidade (ou não) de realização da prova de produção do indol [30].

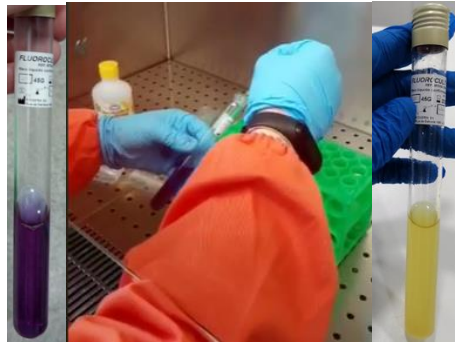


Figura 25 – Fermentação da lactose positiva em meio *Dev-Fluorocult*.



Figura 26 – Fluorescência em meio *Dev-Fluorocult*.

A realização da prova de produção de indol só foi necessária nos casos em que a prova de fluorescência foi negativa; nos casos em que a prova de fluorescência foi positiva, não foi necessária a realização da prova de produção de indol, pois para a identificação de *E. coli* bastou a detecção da presença da enzima β -D-glicuronidase, através do uso do substrato 4-metil-umberiferil- β -D-glicuronídeo (MUG) presente no meio *Dev-Fluorocult*. Consideraram-se assim como *E. coli*, todas as colônias que fermentaram a lactose, foram oxidase negativa e apresentaram fluorescência (MUG+) [30].

A prova de produção de Indol baseou-se na adição do reagente de Kovac's. Adicionou-se 0,2 a 0,3 mL de reagente Kovac's ao tubo de *Dev-Fluorocult* com o inóculo. A produção de indol foi revelada pelo desenvolvimento de um "anel" à superfície do meio de cor vermelha cereja (Figura 27). Nos casos em que esta prova deu negativa, significou a ausência de *E. coli*. Nos casos em que a prova do indol foi positiva, foi necessário efetuarem-se testes bioquímicos complementares, como por exemplo, a prova de utilização de citrato como única fonte de carbono [30].



Figura 27 – Reação Positiva de Indol.

Leitura e Interpretação

Na contagem final das colônias consideraram-se como: Bactérias coliformes todas as colônias que fermentaram a lactose e que foram oxidase negativa; e como *Escherichia coli* todas as colônias que fermentaram a lactose, que foram oxidase negativa e apresentaram fluorescência [30].

7.2.3. *Enterococcus* – ISO 7899-2:2000

Preparou-se o meio SBA e distribuiu-se na placa de Petri. Filtraram-se 100 mL da amostra. Colocou-se o filtro da membrana na placa de Petri contendo o meio SBA. Incubou-se a placa na estufa a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante $44 \pm 4\text{h}$. Após o período de incubação, verificou-se a existência de colônias típicas. As colônias típicas apresentaram uma coloração vermelha/vermelho-escuro/cor-de-rosa escuro, quer no centro ou na totalidade da colônia (Figura 28) [19].

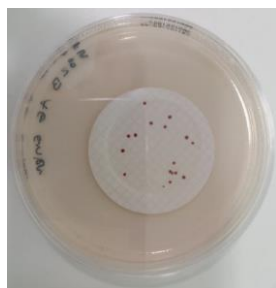


Figura 28 – Exemplo de crescimento em meio SBA.

Nos casos, em que se observaram colónias características procedeu-se ao teste de confirmação. Preparou-se o meio BEA e distribuiu-se na placa de Petri. Com recurso a uma pinça estéril transferiu-se a membrana, sem a inverter, para uma placa de Petri contendo o meio BEA, previamente aquecida a 44°C (Figura 29) [19].



Figura 29 – Membrana em BEA, pré-incubação, com 6 colónias presumíveis de *Enterococcus*.

Incubou-se a placa a 44°C ± 0,5°C por um período de 2h. Efetuou-se a leitura de imediato. Todas as colónias características apresentaram uma coloração negra circundante, o que indicou uma reação positiva, e, por conseguinte, a existência de *Enterococcus* intestinais (Figura 30) [19].



Figura 30 – Membrana em BEA, pós-incubação, com 4 colónias confirmadas de *Enterococcus*.

7.2.4. *Clostridium perfringens* – ISO 14198:2013

Filtraram-se 100 mL da amostra. Após a filtração, removeu-se a membrana filtrante com uma pinça esterilizada e colocou-se numa placa de Petri contendo o meio TSC agar. Incubou-se a placa invertida com a membrana filtrante em condições de anaerobiose à temperatura de (44 ± 1) °C por um período (21 ± 3) h (Figura 31) [20].

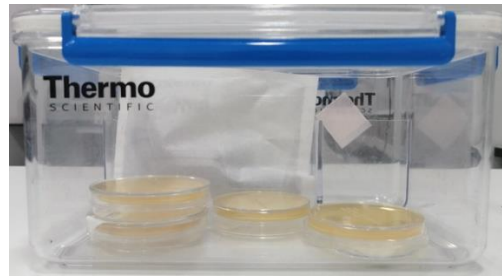


Figura 31 – Incubação de *Clostridium perfringens* em condições de anaerobiose.

Após o período de incubação, enumeraram-se as colónias presumíveis de *C. perfringens*, ou seja, todas as colónias que apresentaram coloração preta, cinza ou castanho-amarelado, inclusive as que apresentaram coloração fraca (Figura 32) [20].

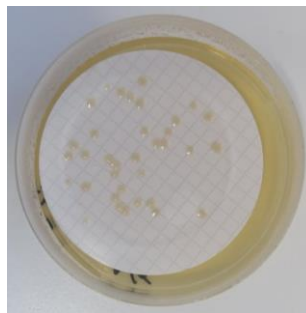


Figura 32 – Exemplo de crescimento em meio TSC.

Nos casos em que o número de colónias presentes foi inferior a 10, estas foram todas repicadas para o meio *Columbia*; nas situações em que o número de colónias presentes na membrana filtrante foi superior ou igual a 10 colónias, selecionaram-se 10 colónias e repicaram-se para o meio *Columbia* (Figura 33) [20].

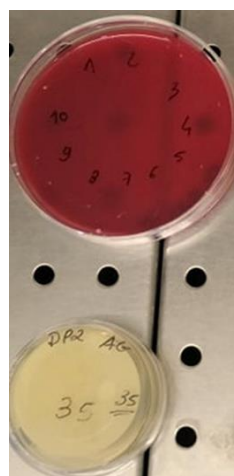


Figura 33 – Passagem das colónias do meio TSC para o meio *Columbia* Agar.

Incubaram-se as placas em condições de anaerobiose à temperatura de (36 ± 2) °C por um período de (21 ± 3) h. Confirmaram-se as colónias que cresceram em ambiente de anaerobiose e no meio *Columbia*, para tal, colocaram-se as colónias sob um papel de filtro e adicionaram-se 2 a 3 gotas do Reagente Fosfatase Ácida (Figura 34) [20].



Figura 34 – Repicagem das colónias a analisar e colocação de 2 a 3 gotas por colónia a analisar no papel de filtro.

Ao fim de 3 a 4 minutos, nos casos em que houve o desenvolvimento de uma coloração púrpura, considerou-se como reação positiva (Figura 35) [20].



Figura 35– Exemplo de colónias com reação negativa e reação positiva (colónias 16,17,18 e 19) no teste da Fosfatase Ácida.

As colónias típicas de *Clostridium perfringens* apresentaram assim uma coloração negra, cinza ou castanho-amarelado em meio de cultura TSC (ténue ou não), cresceram em condições de anaerobiose, e possuíram fosfatase ácida [20].

7.2.5. *Pseudomonas aeruginosa* – ISO 16266:2006

Filtração por Membrana, Incubação e Examinação de Placas:

Filtraram-se 100 mL da amostra através de uma membrana filtrante. Colocou-se a membrana filtrante no meio de isolamento PCN agar. Incubou-se a placa de Petri a 36 ± 2 °C durante 44 ± 4 h. Examinou-se a placa, quanto ao seu crescimento, após 22 ± 2 h e 44 ± 4 h. Contaram-se todas as colónias azuis-esverdeadas (piocianina) como *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 36) [21].

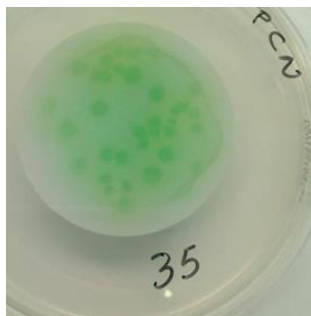


Figura 36 – Exemplo de crescimento em meio PCN.

Examinou-se a membrana sob radiação ultravioleta (UV), durante um curto período (Figura 37) [21].

Foram consideradas como *Pseudomonas aeruginosa*, todas as colônias verdes que sob a luz UV apresentaram fluorescência, ou seja, colônias produtoras de piocianina [21].

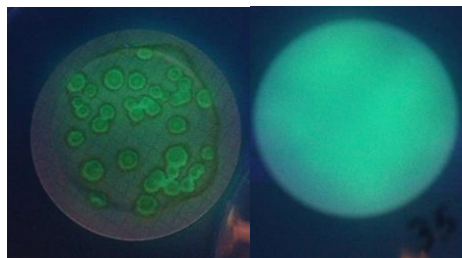


Figura 37 – Fluorescência das colônias sob radiação UV (parte da frente e de trás da membrana filtrante).

Contaram-se todas as colônias não produtoras de piocianina, mas que apresentaram fluorescência como colônias presumíveis de *Pseudomonas aeruginosa*, e efetuou-se o teste de produção de amônia através da acetamida. Foram também consideradas como colônias presumíveis de *Pseudomonas aeruginosa* todas as colônias que apresentaram coloração castanha-avermelhada e que não possuíram fluorescência, tendo sido sujeitas aos testes de confirmação: teste da oxidase, caldo acetamida e meio King's B (Tabela 4) [21].

Tabela 4 – Etapas necessárias para confirmação de colônias presentes em meio de cultura PCN (adaptado de 21).

Descrição das Colônias em Meio de Cultura PCN Agar	Amônia a partir de acetamida	Produção de Oxidase	Fluorescência no Meio de Cultura King's B	Confirmação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Azul/Verde	NT ^a	NT	NT	Sim
Fluorescência (Colônias não verdes/azuis)	+	NT	NT	Sim
Colônias de coloração vermelho-acastanhado	+	+	+	Sim
Outros gêneros	NT	NT	NT	Não
^a NT – Não Testar				

Confirmação

Em meio TSA, para membranas com presença até 10 colônias suspeitas, repicaram-se todas as colônias. Em meio TSA, de membranas com mais de 10 colônias suspeitas, repicaram-se 10. Incubou-se a placa por um período de (22±2) h a (36±2) °C [21].

Inocularam-se tubos contendo meio acetamida com as subculturas provenientes do TSA e incubaram-se a (36±2) °C por um período de (22±2) h. Adicionou-se, a cada tubo, 1 a 2 gotas do Reagente Nessler, e examinaram-se os tubos quanto à produção de amônia. A reação foi caracterizada pela mudança de cor que variou do amarelo ao vermelho-tijolo, dependendo da concentração [21].

Realizou-se o teste oxidase nas subculturas provenientes das colônias vermelhas-acastanhadas. Para realização do teste da oxidase, num papel de filtro, colocaram-se 2 a 3 gotas de reagente oxidase, para cada colônia. Com uma ansa repicou-se cada colônia proveniente do meio de cultura TSA, e colocou-se sob o papel de filtro com o reagente oxidase. Todas as subculturas que se manifestaram oxidase positiva, repicaram-se para tubos do meio King's B. Incubou-se cada tubo a (36±2) °C até um máximo de 5 dias. Examinou-se o crescimento sob a radiação UV, e verificou-se a presença de fluorescência. Registaram-se como resultados positivos, tubos com fluorescência que apareceu até ao 5º dia [21].

Enumeração

Consideraram-se colónias positivas de *Pseudomonas aeruginosa*, todas as colónias que produziram piocianina (pigmento azul/verde), ou que foram oxidase positiva, que apresentaram fluorescência sob radiação UV, e que foram capazes de produzir amónia através do meio de acetamida [21].

7.3. Ensaios Físico-Químicos de Águas de Consumo Humano e Piscina

7.3.1. pH – Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 4500-H+ B. Electrometric Method

7.3.1.1. Calibração Analítica do medidor de pH

O instrumento foi calibrado em cada dia de trabalho, utilizando para tal 3 padrões de calibração. A cada calibração do aparelho, substituíram-se os padrões e efetuou-se uma manutenção apropriada do elétrodo. Os três padrões de calibração foram os padrões de pH igual a 4,00, 7,00 e 10,00 na escala de *Sorensen* (Figura 38) [34, 36].

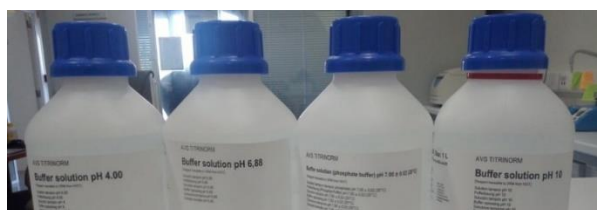


Figura 38 – Padrões de pH de valor 4,00; 6,88; 7,00; e 10,00.

A calibração em 3 pontos foi efetuada da seguinte maneira:

Ligou-se o equipamento na tecla *ON/OFF*, introduziu-se o cabo referente à sonda do pH e deixou-se estabilizar durante alguns minutos. Enxaguou-se a sonda com água desionizada e limpou-se cuidadosamente o elétrodo com um papel seco e limpo. Mergulhou-se o elétrodo de pH, na solução padrão de pH 4,00 correspondente ao 1º ponto de calibração, e agitou-se cuidadosamente. Pressionou-se “*CAL*”. Apareceu a etiqueta “*CAL*” e foi visualizado no ecrã o padrão “7,01” na terceira linha do ecrã do aparelho. Premiram-se as teclas de setas para selecionar o padrão “4,01”. Apareceu o símbolo “⌚” em conjunto com a etiqueta “*STIR*” e “*WAIT*”, a intermitente no ecrã, até a leitura estabilizar. Quando a leitura estabilizou e se aproximou do padrão selecionado, surgiu a etiqueta “*CFM*” a intermitente. Pressionou-se “*CFM*” para confirmar a calibração. Uma vez confirmado o primeiro ponto de calibração, o valor calibrado apareceu na primeira linha do ecrã e o valor previsto para o segundo padrão

na terceira linha do ecrã. O mesmo se sucedeu para 2º ponto correspondente ao pH 7 e para o 3º ponto correspondente ao pH 10. No final da calibração, premiu-se “CAL”. O instrumento indicou “SAVING”, guardou o valor da calibração e regressou ao modo de medição normal. Após a calibração, os valores do declive, assim como do *offset* apareceram no ecrã (Figura 39) [34, 36].



Figura 39 – Leitura do valor de pH de uma amostra. Visualização do valor do declive e de *offset*, obtidos após a calibração.

7.3.1.2. Padrão de Controlo (PC) de pH com valor igual a 6,88

Após a calibração do equipamento, seguiu-se para a leitura do padrão de controlo de pH com valor igual a 6,88 na escala de *Sorensen*. Essa leitura foi realizada da seguinte forma: enxaguou-se o sensor de pH com água destilada e posteriormente com PC 6,88; mergulhou-se a extremidade do elétrodo no PC 6,88 e agitou-se a solução com suavidade; deixou-se passar algum tempo até que o elétrodo estabilizou; por fim, o pH e a temperatura da leitura apareceram na primeira e segunda linha do ecrã, respetivamente. A leitura do PC 6,88 foi realizada em duplicado, tendo sido a 1ª leitura do PC 6,88 realizada após a calibração do equipamento, e antes da leitura das amostras; e a 2ª leitura do PC 6,88 (duplicado) foi realizada após a leitura das amostras, no fim do ensaio [34, 36].

7.3.1.3. Leitura de Amostras

A leitura do pH das amostras de água foi feita da seguinte maneira: assegurou-se que o elétrodo foi calibrado antes de realizar medições; enxaguou-se o sensor pH

com água destilada, e com parte da amostra; mergulhou-se a extremidade do eléctrodo na amostra, em que se mediu o pH, e agitou-se a amostra com suavidade; deixou-se passar algum tempo até que o eléctrodo estabilizou; por fim, o pH e a temperatura da leitura apareceram na primeira e segunda linha do ecrã, respetivamente (Figura 40) [34, 36].



Figura 40 – Medição do valor de pH de uma amostra de água.

Para medições sucessivas

Quando se realizaram sucessivamente medições em amostras diferentes, enxaguou-se completamente o eléctrodo com água destilada. Limpou-se cuidadosamente o eléctrodo com um papel seco e limpo. De seguida, enxaguou-se novamente o eléctrodo com parte da seguinte amostra, de modo a evitar possíveis contaminações. Por fim, realizou-se a medição da amostra seguinte [34, 36].

7.3.2. Condutividade – Norma Portuguesa EN 27 888:1996 - “Qualidade da Água – Determinação da condutividade eléctrica” (ISO 7888:1985)

7.3.2.1. Verificação do equipamento

O instrumento foi verificado a cada dia de trabalho utilizando o padrão de condutividade 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$, pré-preparado. A cada calibração do instrumento, substituiu-se o padrão e efetuou-se uma manutenção apropriada do eléctrodo [36-38].

Alteração da temperatura de leitura para os padrões

Para a leitura dos padrões de condutividade alterou-se a temperatura de referência para 25°C. Para tal, pressionou-se “*SETUP*” e utilizaram-se as setas ▲▼ até encontrar “*T. Ref*”; premiu-se “*MODIFY*” e selecionou-se 25°C usando as setas ▲▼; finalmente, quando a temperatura atingiu o valor correto, premiu-se “*CFM*”, seguido de “*SETUP*” para voltar ao ecrã principal [36-38].

Verificação de 2 pontos

Ligou-se o equipamento na tecla *ON/OFF*, introduziu-se o cabo referente à sonda da condutividade e deixou-se estabilizar durante alguns minutos. Pressionou-se “*CAL*” para aceder à calibração. Na terceira linha do ecrã, apareceu a etiqueta “*CAL*” e o valor do padrão reconhecido. Para o 1º ponto, premiram-se as teclas de setas para selecionar a condutividade de 0,00 µS/cm (sonda ao ar) para uma calibração da compensação. Para o 2º ponto, selecionou-se a condutividade de 1413 µS/cm e verteu-se um pouco da solução padrão de condutividade 1413 µS/cm para um copo; enxaguou-se a sonda com água desionizada, e limpou-se cuidadosamente o eletrodo com um papel seco e limpo; mergulhou-se então a sonda no copo com a solução padrão; quando a leitura estabilizou e se aproximou do padrão selecionado, a etiqueta “*CFM*” apareceu a intermitente, assim como o valor; pressionou-se “*CFM*” para confirmar a calibração; o instrumento indicou “*SAVING*”, guardou os valores da calibração e regressou ao modo de medição normal. Após a calibração, apareceu no visor o parâmetro C.F. (cm⁻¹), correspondente ao valor do fator da célula [36-38].

7.3.2.2. Padrão de Controlo (PC) 1413 µS/cm e PC 84 µS/cm

Para além do padrão de condutividade 1413 µS/cm, preparou-se um padrão de condutividade 84 µS/cm, que serviu apenas como padrão de controlo e não de verificação. Para tal, pipetaram-se 5,945 mL da solução padrão de 1413 µS/cm, e perpez-se com água destilada/desionizada num balão volumétrico de 100 mL [36-38].

Após a calibração do equipamento, seguiu-se para a leitura em duplicado do PC 1413 µS/cm a 25°C e, posteriormente, do PC 84 µS/cm a 25°C. A 1ª leitura do PC 1413 µS/cm foi feita após a verificação de 2 pontos; a 2ª leitura do PC 1413 µS/cm (duplicado) foi realizada após a 1ª leitura do PC 1413 µS/cm; a 1ª leitura do PC 84 µS/cm foi efetuada após a 2ª leitura do PC 1413 µS/cm, e antes da leitura das amostras; por fim, a 2ª leitura do PC 84 µS/cm (duplicado) foi executada após a leitura das amostras, no fim do ensaio [36-38].

7.3.2.3. Leitura de amostras

Alteração da temperatura de leitura para as amostras

De modo a efetuar a leitura do valor de condutividade das amostras de água, alterou-se a temperatura de referência para 20°C, da mesma forma que referido em 7.3.2.1. [36-38].

A leitura da condutividade das amostras de água foi feita da seguinte maneira: enxaguou-se a sonda com a amostra e eliminou-se a solução em excesso; mergulhou-se a sonda na amostra; e após estabilização do aparelho, o valor da condutividade apareceu na primeira linha do ecrã (Figura 41) [36-38].



Figura 41 – Leitura da condutividade de uma amostra de água.

Em medições sucessivas

Aquando da realização de medições sucessivas em amostras diferentes, lavou-se o eléctrodo com água destilada e com parte da seguinte amostra, de modo a evitar possíveis contaminações [36-38].

7.3.3. Turvação – ISO 7027-1:2016

O turbidímetro portátil TB 211 IR, permitiu medir a turvação num intervalo de 0,01 a 1100 UNT. Utilizou como fonte luminosa um díodo emissor de luz de infravermelhos. A luz emitida foi refletida pelas partículas existentes (turvação). A dispersão de luz foi medida por um fotodetector, que estava disposto em ângulo reto relativamente à fonte luminosa/feixe incidente [55].

7.3.3.1. Verificação/Calibração do equipamento

A cada dia de trabalho: Leu-se apenas o padrão de calibração “*T-CAL 20 UNT*”, da mesma forma que se efetuou a leitura das amostras, para verificação do aparelho. Efetuaram-se leituras em duplicado [42, 43, 55].

Trimestralmente: O instrumento foi calibrado utilizando os quatro padrões de calibração *T-CAL* <0,1, 20, 200 e 800 UNT (Figura 42), e estes foram lidos posteriormente como amostras. Efetuaram-se leituras em duplicado [42, 43, 55].



Figura 42 – Turbidímetro com os 4 padrões de calibração.

Aceder ao modo de calibração/Calibração em 4 pontos:

Premiu-se a tecla “*MODE*” de forma contínua; ligou-se o aparelho, na tecla *ON/OFF*; no visor surgiram 3 pontos decimais, e nesse momento soltou-se a tecla “*MODE*”; de seguida a tecla “[!]” permitiu selecionar a opção 4 do menu, designada por calibração do utilizador; premiu-se a tecla “*MODE*” e confirmou-se a seleção. Após a confirmação da seleção, surgiu alternadamente no visor: 0,10/StAn; colocou-se o padrão de calibração < 0,1 UNT na câmara de medição, e posicionou-se \bar{x} ; colocou-se a tampa da câmara de medição; premiu-se a tecla “*READ*”; aguardou-se que a contagem decrescente automática, de duração de 1 minuto, terminasse; após a conclusão da contagem decrescente, a medição processou-se automaticamente e apareceu no ecrã durante aproximadamente 8 segundos. O mesmo se sucedeu para os padrões de 20, 200 e 800 UNT. Depois das medições, surgiu alternadamente no visor “*USEr/Stor*”; confirmou-se a calibração efetuada carregando na tecla “[!]”; e surgiu sequencialmente no visor “*Stng*”, que significou a guardar, e depois “*StEd*”, que significou guardado [42, 43, 55].

7.3.3.2. Padrão de Controlo (PC) de 1 UNT

Além da leitura do PC 20 UNT, aquando da verificação do equipamento, este também funcionou como padrão de controlo. Preparou-se ainda a cada dia de trabalho, o PC de 1 UNT; para tal, pipetaram-se 25 μ L da solução padrão pré-preparada de formazina de 4000 UNT, e perpez-se com água destilada/desionizada num balão volumétrico de 100 mL. Este padrão serviu apenas de controlo, e não de verificação [42, 43, 55].

A ordem correta de leitura dos padrões de controlo foi a seguinte: a 1ª leitura do PC 20 UNT foi realizada como verificação do equipamento a cada dia de trabalho; a 2ª leitura do PC 20 UNT (duplicado) foi feita após a 1ª leitura do PC 20 UNT; a 1ª leitura do PC 1 UNT foi executada após a 2ª leitura do PC 20 UNT, e antes da leitura das amostras; e a 2ª leitura do PC 1 UNT (duplicado) foi realizada após a leitura das amostras, no fim do ensaio (Figura 43) [42, 43, 55].



Figura 43 – Leitura do PC de 1 UNT e do 20 UNT.

7.3.3.3. Leitura de Amostras

A leitura da turvação das amostras de água foi feita da seguinte maneira: premiu-se a tecla *ON/OFF*; lavou-se o tubo três vezes com a amostra a testar; encheu-se o tubo com a amostra; fechou-se o tubo com a tampa e certificou-se de que o tubo estava limpo e seco do lado de fora; colocou-se o tubo na câmara de medição e posicionou-se o mesmo nas marcas \bar{x} ; colocou-se a tampa da câmara de medição; iniciou-se a medição premindo a tecla “*READ*” e fez-se a leitura do valor da turvação da amostra [42, 43, 55].

7.3.4. Cloro Residual Livre - Método Interno 01 do Laboratório de Química - Cloro Residual Livre e Total (local)

7.3.4.1. Verificação do Equipamento

A cada dia de trabalho, realizou-se a verificação do(s) fotómetro(s), da seguinte maneira: ligou-se o equipamento na tecla *ON/OFF*; seguiu-se o “tutorial” do equipamento; colocou-se a cuvete referente ao padrão “Branco” e efetuou-se a leitura. Procedeu-se de igual modo para o padrão referente ao “Cloro residual livre”. Os valores de leitura do padrão devem-se encontrar entre 0,97 e 1,03 mg/L Cl₂ [56].

7.3.4.2. Leitura de Amostras

A leitura do cloro residual livre das amostras de água, pelos diferentes fotómetros foi feita da seguinte forma: ligou-se o equipamento na tecla *ON/OFF*; seguiu-se o “tutorial” do equipamento; encheu-se a cuvete até à marca de 10 mL com a amostra, e colocou-se a respetiva tampa; encaixou-se a cuvete no compartimento; realizou-se o *ZERO* e aguardou-se até aparecer “0.0”; adicionou-se uma saqueta de reagente “*Free chlorine reagent*” e agitou-se a cuvete; inseriu-se a cuvete de novo e aguardou-se pelo resultado. De referir, que as amostras usadas nestas medições, encontravam-se limpas, não contendo, qualquer tipo de sedimentos ou matéria em suspensão [56].

Capítulo 4 – Resultados

8. Apresentação e Discussão dos Resultados

Os resultados aqui apresentados, em relação a 2021 foram efetuados durante o período de estágio, e comparados com os resultados anteriormente obtidos em 2020.

8.1. Géneros Alimentícios

O número de microrganismos presentes em cada amostra foi calculado pela seguinte fórmula [57]:

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d} \quad (3)$$

Onde:

- N - Número de colónias em ufc/g;
- $\sum C$ é o somatório de colónias contadas em duas placas de Petri consecutivas;
- V é o volume inoculado em cada placa de Petri, em mL;
- d corresponde à 1^a diluição de placas contáveis.

Casos particulares:

- Em situações, onde a primeira e segunda placas inoculadas apresentaram um número de colónias superior a 300, como no caso dos microrganismos totais a 30°C, os resultados foram expressos da seguinte forma [57]:

$N = > 300/V \times d$; onde neste caso d será a última diluição inoculada

- Em situações, onde a primeira e segunda placas inoculadas apresentaram um número de colónias superior a 150, como no caso da família de bactérias *Enterobacteriaceae*, os resultados foram expressos da seguinte forma [57]:

$N = > 150/V \times d$; onde neste caso d será a última diluição inoculada

Nos casos em que após a análise comparativa entre os resultados/valores em ufc/g obtidos para cada alimento, e os valores-guia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) para os respetivos grupos e subgrupos de alimentos, se concluiu um alimento estar insatisfatório para consumo, ou em estado questionável, averiguaram-se as causas que levaram a um resultado insatisfatório ou questionável, para que fosse possível implementar um conjunto de ações corretivas, conforme essas mesmas causas. Essas podem se ter devido: ao tempo e temperatura inadequados, durante o tratamento térmico; ao tempo e temperatura inadequados, entre a preparação e o consumo; a equipamentos com funcionamento incorreto; incumprimento por parte do manipulador das boas práticas de higiene e fabrico; expiração de prazos de validade; separação inadequada entre circuitos limpos e sujos; a incumprimento do plano de higienização e limpeza; etc [5].

De referir ainda que, nos casos em que um resultado foi insatisfatório e potencialmente perigoso, que este indicou a presença de microrganismos patogénicos ou toxinas que poderiam constituir um risco para a saúde [5].

A separação dos alimentos por grupos e subgrupos, para que fosse possível uma análise comparativa, com valores de referência, foi feita pelo INSA, de acordo com a tabela 5 [5].

Tabela 5 – Separação de alimentos em grupos e subgrupos de acordo com o INSA.

Grupos	Subgrupos	
1: Alimentos que sofreram tratamento térmico	1A	Alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após o tratamento térmico; e alimentos reconstituídos a partir de um produto desidratado
	1B	Alimentos totalmente cozinhados, manuseados após o tratamento térmico
	1C	Alimentos com componentes totalmente cozinhados adicionados de componentes pasteurizados conservados em refrigeração
	1D	Fórmulas desidratadas para lactentes reconstituídas
2: Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus ou carne ou peixe crus, prontos para consumo	2A	Alimentos compostos, em que estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados adicionados de frutos/produtos hortícolas crus, em que os crus constituem apenas um apontamento, ou estavam congelados
	2B	Alimentos compostos, em que estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de frutos crus com ou sem molhos
	2C	Alimentos compostos, em que estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus
	2D	Alimentos compostos e/ou com queijo, fabricado com leite cru, carne/peixe crus, em que estão incluídos carne/peixe/marisco crus/marinados/fumados/salgados acompanhados ou não de alimentos totalmente cozinhados ou frutos/produtos hortícolas crus
3: Frutos e produtos hortícolas crus	3A	Frutos e produtos hortícolas crus cortados, ou preparados para consumo no próprio dia; Sumos de frutos e/ou de produtos hortícolas frescos, para consumo no próprio dia
	3B	Frutos e produtos hortícolas crus minimamente processados
4 : Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria	Não aplicável	Nesta categoria pertencem todos os alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria

Cada grupo e subgrupo tem por microrganismo, valores-guia associados, que permitiram definir se um alimento se encontrava satisfatório, questionável, não satisfatório ou até potencialmente perigoso. Esses valores estiveram presentes no acompanhamento de resultados de um alimento (Anexos 2 a 16) [5].

8.1.1. Microrganismos totais a 30°C

Procedeu-se à análise do número de amostras suspeitas em relação ao número total de amostras, para os anos de 2020 e 2021, para o período trimestral de outubro a dezembro (Figura 44).

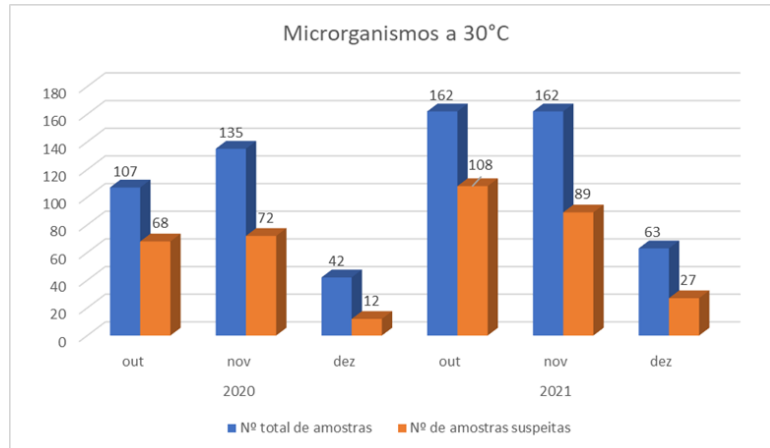


Figura 44 – Gráfico do número total de amostras, em relação ao número de amostras passíveis de estarem contaminadas, devido à presença de colónias em meio PCA, para o período trimestral de outubro a dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

O número de amostras alimentares passíveis de estarem contaminadas, foi maior no período trimestral de outubro a dezembro de 2021, em relação a 2020 (Figura 44).

Após a obtenção do número de amostras passíveis de estarem contaminadas, foi-se analisar, para cada mês, nos anos de 2020 e 2021, quais as amostras que estariam de facto contaminadas e qual o grupo e subgrupo a que pertenciam (Figuras 45, 46 e 47). Para que esta análise fosse possível, nos Microrganismos a 30°C, foram recolhidas para cada amostra o número de colónias a 10^{-1} e a 10^{-2} e foi calculado o número de colónias em ufc/g. Também foi analisada o tipo de matriz do alimento para que fosse possível efetuar a sua divisão por grupo e subgrupo, e concluir sobre o estado microbiológico do alimento (Anexos 2 a 7).

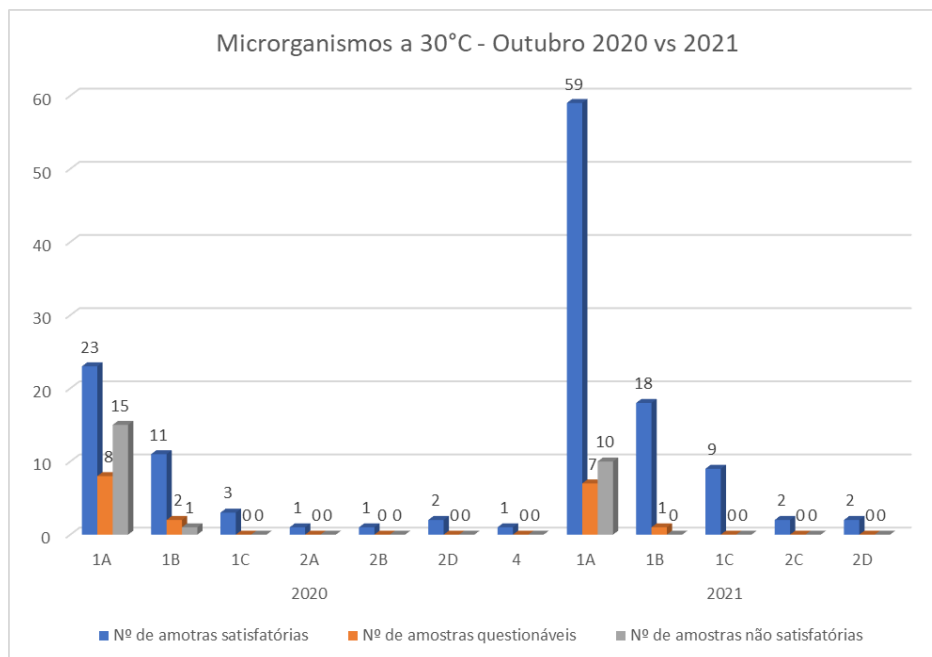


Figura 45– Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação aos microrganismos totais a 30°C, para o mês de outubro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

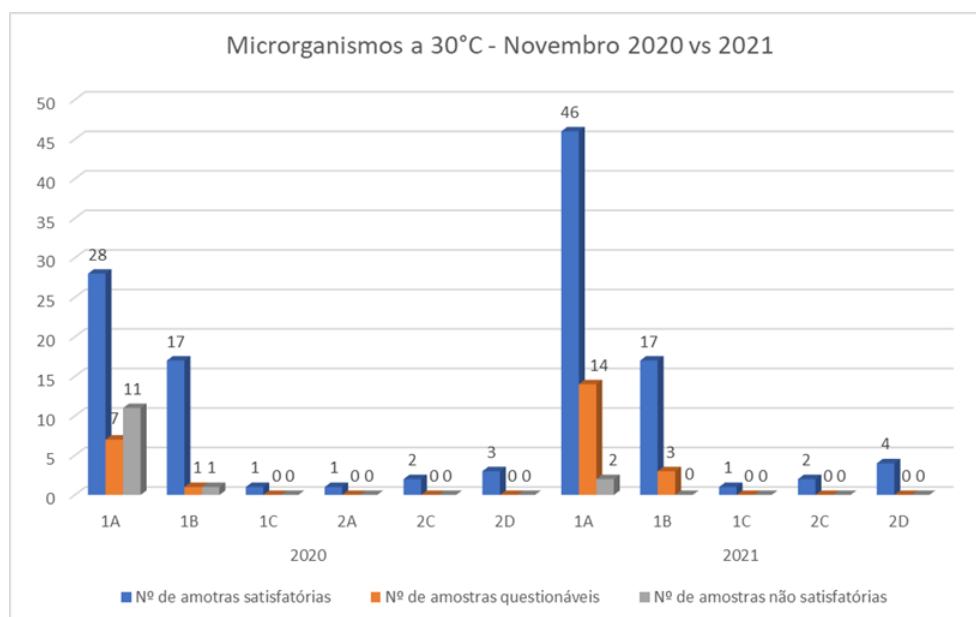


Figura 46– Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação aos microrganismos totais a 30°C, para o mês de novembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

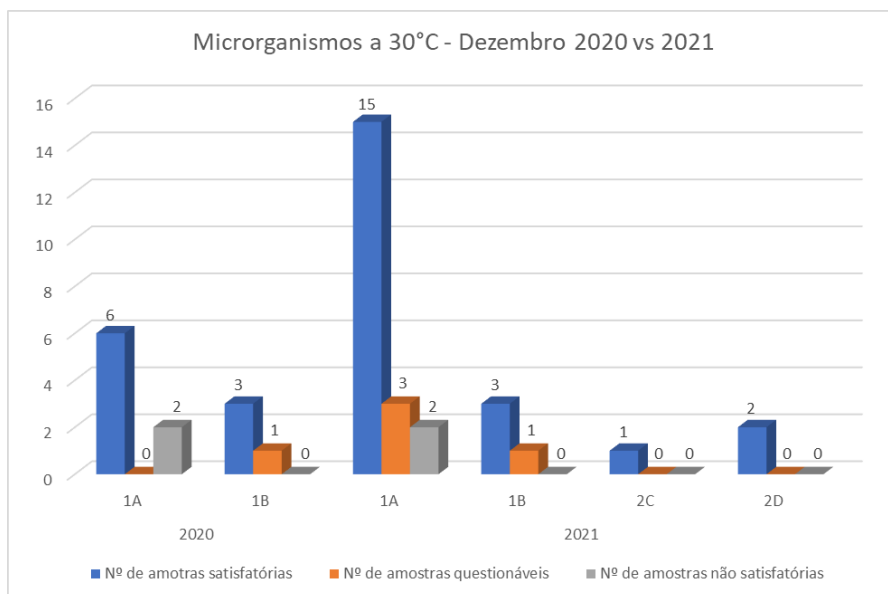


Figura 47 – Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação aos microrganismos totais a 30°C, para o mês de dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Após análise comparativa entre o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021 (Figuras 45, 46, e 47), foi notório que a maioria dos alimentos questionáveis ou não satisfatórios pertenceram ao grupo 1, nomeadamente ao subgrupo 1A, cuja maioria dos alimentos analisados no laboratório, foram alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após o tratamento térmico. O que significa que nos casos, em que ocorreu contaminação dos géneros alimentícios, a mesma se deverá provavelmente a uma ineficiente confeção, ou ainda devido a temperaturas inadequadas de armazenamento e temperaturas de exposição críticas [5].

Para que a confeção de um género alimentício seja realizada de forma adequada, o alimento deve atingir uma temperatura de cozedura de 70°C. Durante a confeção a prova de alimentos, deve ser feita em prova única por utensílio, e distante da zona de confeção. Após a preparação dos alimentos estes devem ser mantidos a uma temperatura de 60°C, e caso não sejam servidos de imediato, e a intenção seja de consumo à noite ou no dia seguinte, devem ser guardados num frigorífico à temperatura de $\pm 5^\circ\text{C}$ [58].

No subgrupo 1B, também se visualizou alguma contaminação alimentar, ainda que escassa (Figuras 45, 46, e 47). Neste subgrupo foram analisados os alimentos totalmente cozinhados e manuseados após tratamento térmico, portanto, as contaminações deste subgrupo podem ter advindo de incumprimento das boas práticas de higiene e fabrico por parte do manipulador, ou de limpeza ineficaz das zonas e utensílios relativos à preparação dos produtos [5].

Os restantes grupos e subgrupos contiveram menor quantidade de alimentos não contaminados, pois para além de terem sido analisadas menos amostras, a carga microbiana permissível por grupo/subgrupo é maior [5].

8.1.2. *Enterobacteriaceae*

Procedeu-se à análise do número de amostras suspeitas em relação ao número total de amostras, para os anos de 2020 e 2021, para o período trimestral de outubro a dezembro (Figura 48).

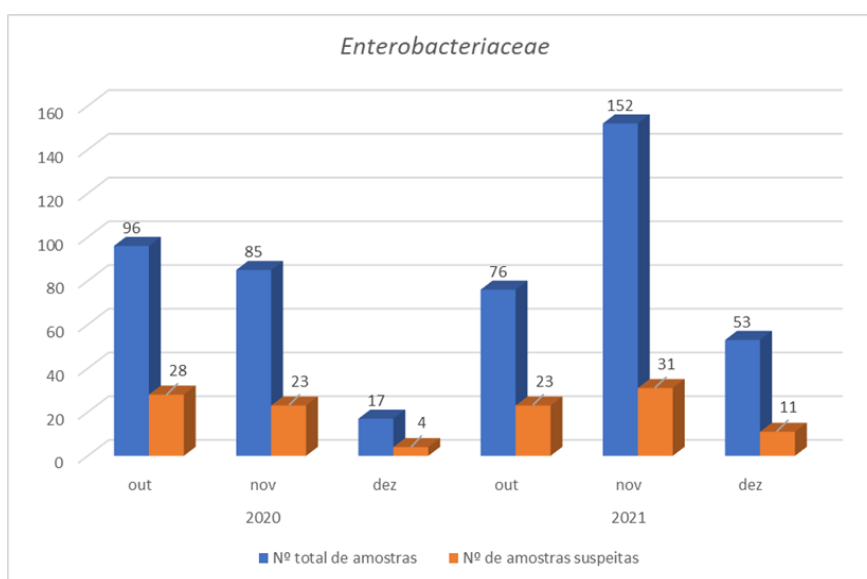


Figura 48 – Gráfico do número total de amostras, em relação ao número de amostras passíveis de estarem contaminadas, devido à presença de colónias da família *Enterobacteriaceae*, para o período trimestral de outubro a dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

O número de amostras alimentares passíveis de estarem contaminadas, foi superior no período trimestral de outubro a dezembro de 2021 (Figura 48).

Após a obtenção do número de amostras passíveis de estarem contaminadas, foi-se analisar, para cada mês, nos anos de 2020 e 2021, quais as amostras que estariam de facto contaminadas e qual o grupo e subgrupo a que pertenciam (Figuras 49, 50 e 51). Para que esta análise fosse possível, em relação às *Enterobacteriaceae*, foram recolhidas para cada amostra o número de colónias a 10^{-1} e a 10^{-2} e foi calculado o número de colónias em ufc/g. Também foi analisada o tipo de matriz do alimento para que fosse possível efetuar a sua divisão por grupo e subgrupo, e concluir sobre o estado microbiológico do alimento (Anexos 8 a 13).

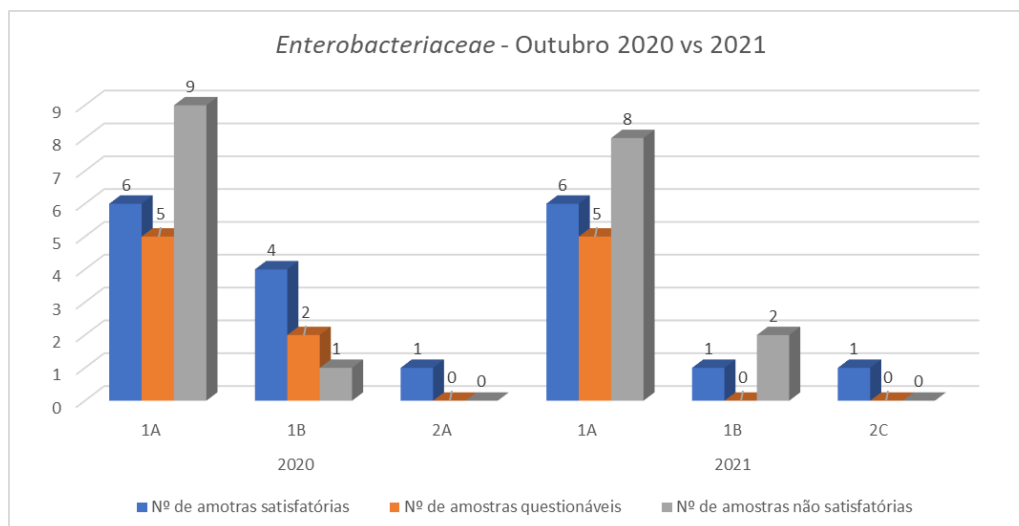


Figura 49– Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação às bactérias da família *Enterobacteriaceae*, para o mês de outubro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

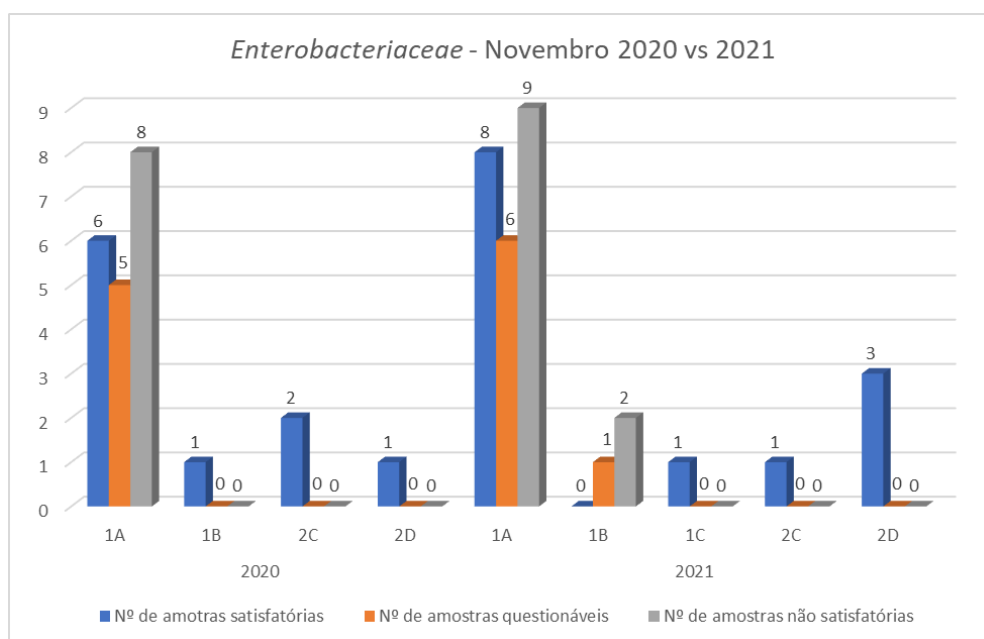


Figura 50 – Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação às bactérias da família *Enterobacteriaceae*, para o mês de novembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

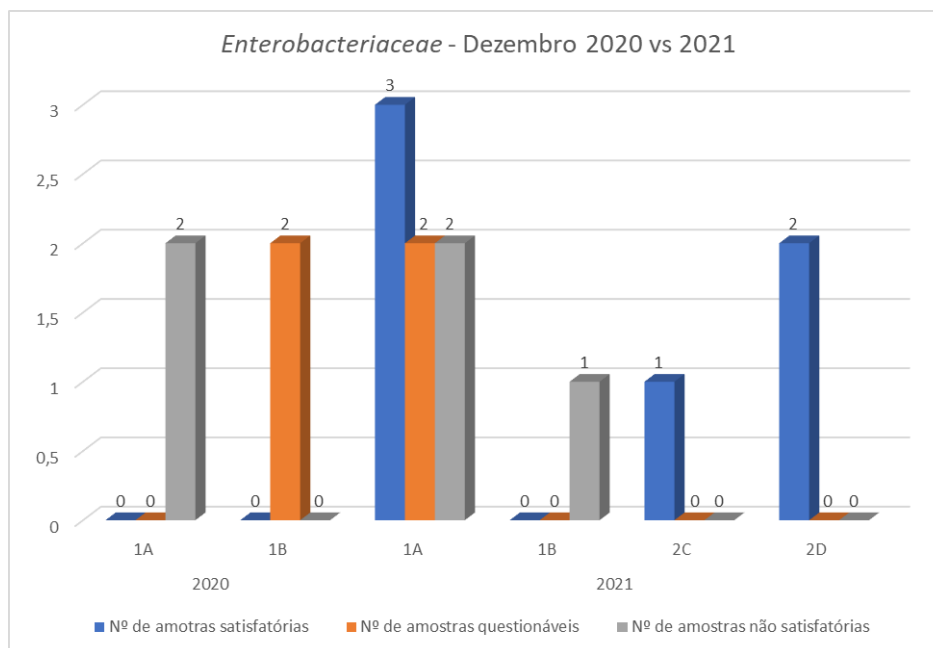


Figura 51 – Gráfico dos grupos e subgrupos de alimentos, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação às bactérias da família *Enterobacteriaceae*, para o mês de dezembro dos anos 2020 e 2021, respetivamente.

Após análise comparativa entre o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021 (Figuras 49, 50, e 51), foi notório que a maioria dos alimentos questionáveis ou não satisfatórios pertenceram ao grupo 1, nomeadamente ao subgrupo 1A. No subgrupo 1B, também se visualizou alguma contaminação alimentar, ainda que escassa (Figuras 49, 50, e 51). Os restantes grupos e subgrupos contiveram menor quantidade de alimentos não contaminados, pelas razões referidas em 8.1.1. [5].

As recomendações aplicáveis aos microrganismos totais a 30°C, referidas acima, também foram aplicáveis a esta família de bactérias, pois a distribuição de alimentos por grupos e subgrupos foi feita da mesma forma, só ocorreu alteração na carga microbiana permitida por grupo/subgrupo [5].

8.1.3. *Escherichia coli*

As contaminações alimentares por *E. coli*, têm baixa frequência, mas quando presentes funcionam como um indicador do incumprimento das boas práticas de higiene [5].

Procedeu-se à análise e confirmação do número de amostras suspeitas em relação ao número total de amostras, para os anos de 2020 e 2021, durante o período trimestral de outubro a dezembro. Avaliou-se também o estado do género alimentício (Figura 52). Esta análise foi possível, para a *Escherichia coli*, porque foram recolhidas para cada amostra o número de colónias a 10^{-1} e a 10^{-2} , e foi calculado o número de colónias em ufc/g. Também foi analisada o tipo de matriz do alimento para que fosse

possível efetuar a sua divisão por grupo, e concluir sobre o estado microbiológico do alimento (Anexo 14).

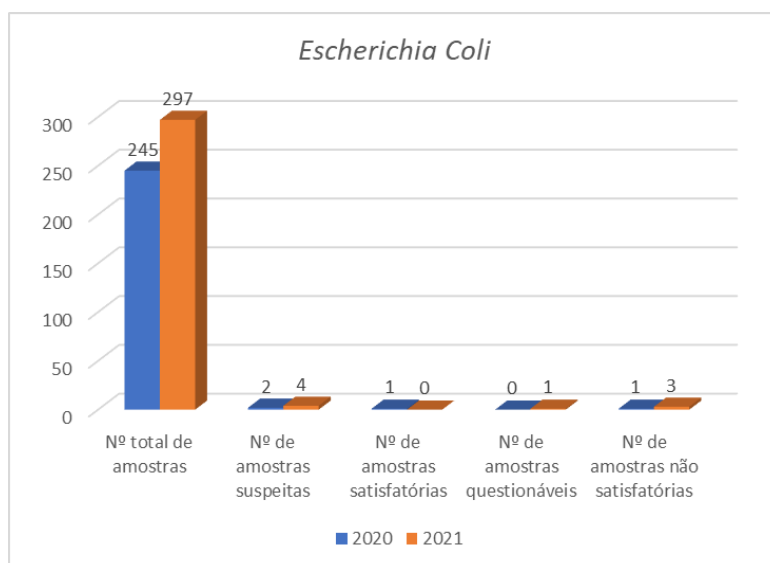


Figura 52 – Gráfico do número de amostras alimentares, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, em relação à bactéria *Escherichia coli*, para os anos 2020 e 2021.

O número de amostras alimentares passíveis de estarem contaminadas, foi superior em 2021. De destacar, no entanto, que o número de amostras suspeitas para este microrganismo foi muito reduzido (Figura 52).

O grupo alimentar que apresentou mais contaminações por este microrganismo foi o grupo 1, que corresponde a alimentos que sofreram tratamento térmico (Anexo 14). Estas contaminações podem ter derivado de uma confeção incorreta do género alimentício, ou de contaminações cruzadas, por exemplo, do alimento cru com o manipulador, e com as superfícies com as quais este esteve em contacto [5].

As recomendações aplicáveis a este microrganismo, são novamente as referidas para os microrganismos totais a 30°C, sendo, no entanto, de enfatizar que uma boa higiene por parte do manipulador, e das superfícies de preparação de um alimento são essenciais [5].

8.1.4. *Salmonella* spp. – Método VIDAS Easy SLM – AFNOR BIO 12/16-09/05, confirmação de resultados positivos pela ISO 6579-1:2017

A bactéria *Salmonella* spp. foi analisada por 2 métodos: ISO 6579-1 e imunoensaio pelo Mini-Vidas (Figura 53).

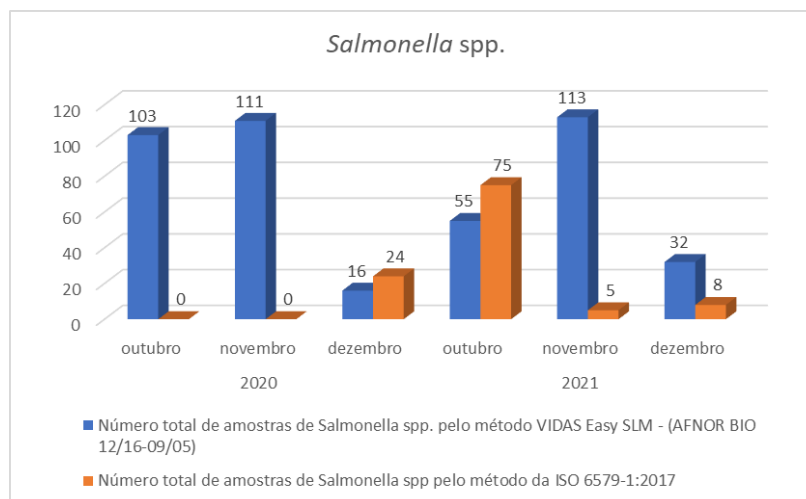


Figura 53 – Gráfico do número de amostras alimentares analisadas pelas 2 metodologias (ISO e imunoensaio pelo Mini-Vidas), para o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021.

O número de amostras alimentares analisadas pelo método Vidas *Easy SLM* foi superior ao número de amostras analisadas pelo método da ISO 6579-1 (Figura 53).

Durante o período trimestral de outubro a dezembro dos anos 2020 e 2021, não houve nenhuma amostra com resultado positivo para *Salmonella* spp.. Houve 2 amostras suspeitas de conter este microrganismo, devido à sua reação positiva no imunoensaio feito pelo Mini-Vidas, no entanto após a realização dos ensaios de confirmação, através dos testes bioquímicos pelo API 20E (do qual faz parte o teste da oxidase) confirmou-se estarmos na presença da bactéria *Klebsiella pneumoniae* (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise de 2 géneros alimentícios, quanto à presença de *Salmonella* spp.

Data	Nº da amostra	Matriz/Género Alimentício	Vidas SLM Resultado	Oxidase		API 20E Resultado
				P	N	
07/10/2020	1917197	Chouriço tradicional	Positivo		N	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
07/10/2020	1917199	Chouriço tradicional	Positivo		N	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Legenda: P – Positiva; N- Negativa.

No entanto, durante o restante período de estágio, foi possível verificar que a presença deste género de bactérias, ocorreu sobretudo em queijos e enchidos.

8.1.5. *Listeria monocytogenes*

Em relação à bactéria *Listeria monocytogenes*, foi-se analisar, para cada mês, nos anos de 2020 e 2021, quais as amostras que estariam de facto contaminadas (Figura 54).

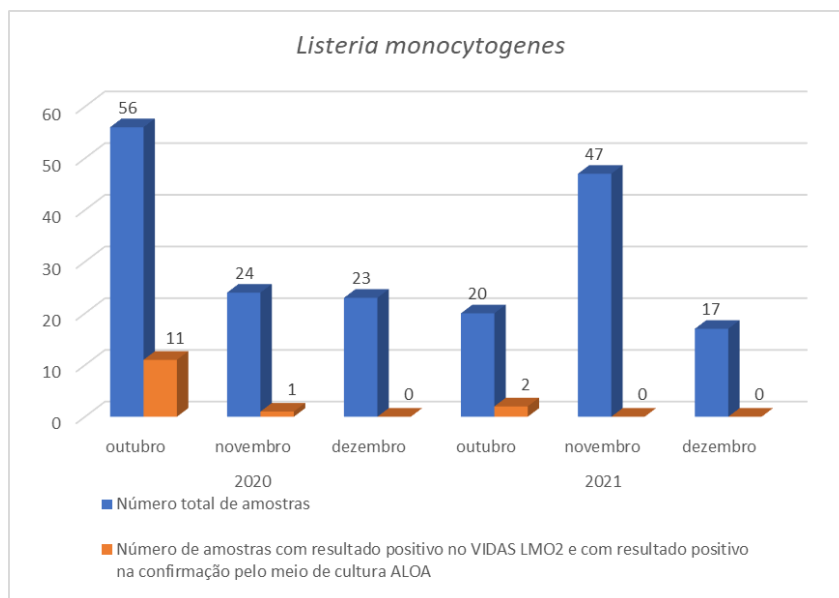


Figura 54 – Gráfico do número de amostras alimentares analisadas vs. número de amostras com resultado positivo após os ensaios de confirmação, em relação ao microrganismo *Listeria monocytogenes*, para o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021.

Em outubro de 2020, as amostras com resultado positivo no imunoenensaio pelo Mini-Vidas e com confirmação do mesmo pelo meio ALOA, foram: 5 chouriças, 5 chouriços de carne e 1 amostra com carne de novilho; em novembro de 2020, foi uma amostra com carne de porco; e em outubro de 2021, foram novamente 2 chouriças. Os enchidos revelaram assim ser os principais portadores de *Listeria monocytogenes*.

8.1.6. *Staphylococcus coagulase-positiva*

A bactéria *Staphylococcus coagulase-positiva* não necessitou de distribuição por grupo alimentar, devido a esta ser patogénica (Anexos 15 e 16). Das amostras suspeitas, foi-se avaliar quais as satisfatórias e não satisfatórias para consumo, e quais as potencialmente perigosas para a saúde humana (Figura 55) [5].

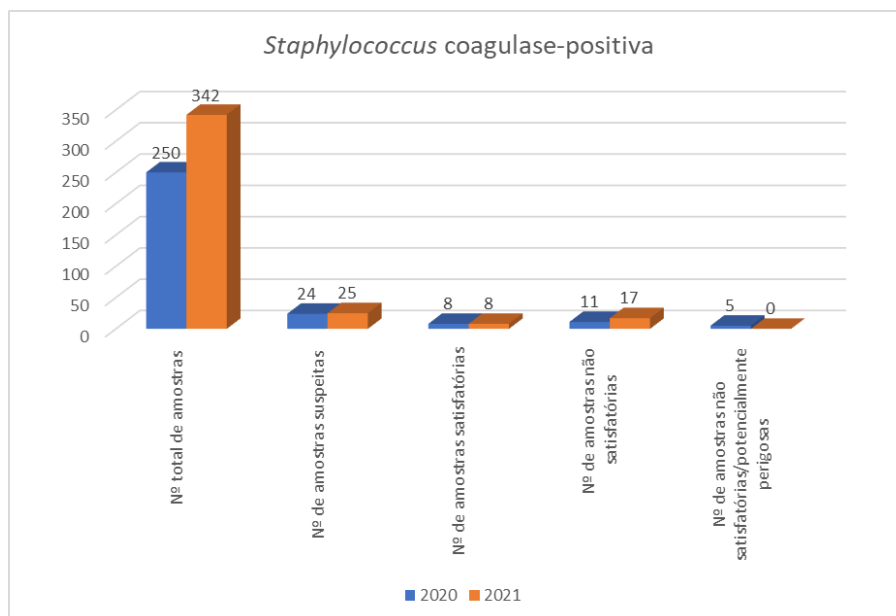


Figura 55– Gráfico do número de amostras alimentares, conforme o seu estado satisfatório, questionável ou não satisfatório, devido à presença de *Staphylococcus coagulase-positiva*, para os anos 2020 e 2021.

O método por espalhamento utilizou uma quantidade de 100 µL de meio, pelo que nas situações de resultado “leitoso”, o resultado quantitativo deverá ser de <100 ufc/g (Anexos 15 e 16).

Todos os alimentos que tiveram uma contagem superior a 10 ufc/g, já não foram considerados como satisfatórios, à exceção de alimentos com resultado “leitoso” (Anexos 15 e 16). Os alimentos considerados como não satisfatórios e potencialmente perigosos para a saúde humana (Figura 55), foram mercearias e um queijo curado (Anexos 15 e 16). As contaminações destes géneros alimentícios podem ter originado de contaminações cruzadas, devido à manipulação das amostras com mãos não higienizadas [5].

8.2. Microbiologia de Águas de Consumo Humano e de Piscina

Os resultados referentes a análises microbiológicas de águas, apenas serão relativos aos parâmetros acreditados, para águas, referidos no anexo 1.

Todas as amostras, cujo número de colónias típicas, ultrapasse o valor limite legislado, devem ser considerados como águas microbiologicamente impróprias.

8.2.1. Microrganismos viáveis a 22±2°C e a 36±2°C

No que diz respeito aos microrganismos a 22±2°C e aos microrganismos a 36±2°C foi-se avaliar quais as águas com valor paramétrico recomendado acima do

limite (Figuras 56 e 57) [39-40]. De referir que uma água apenas será considerada insatisfatória, quando as colónias obtidas não forem características dos microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e dos microrganismos a $36\pm 2^{\circ}\text{C}$, mesmo que se encontrem em valores inferiores aos recomendados. Quando ocorrem alterações anormais, é desejável que uma entidade gestora averigue as respetivas causas [39].

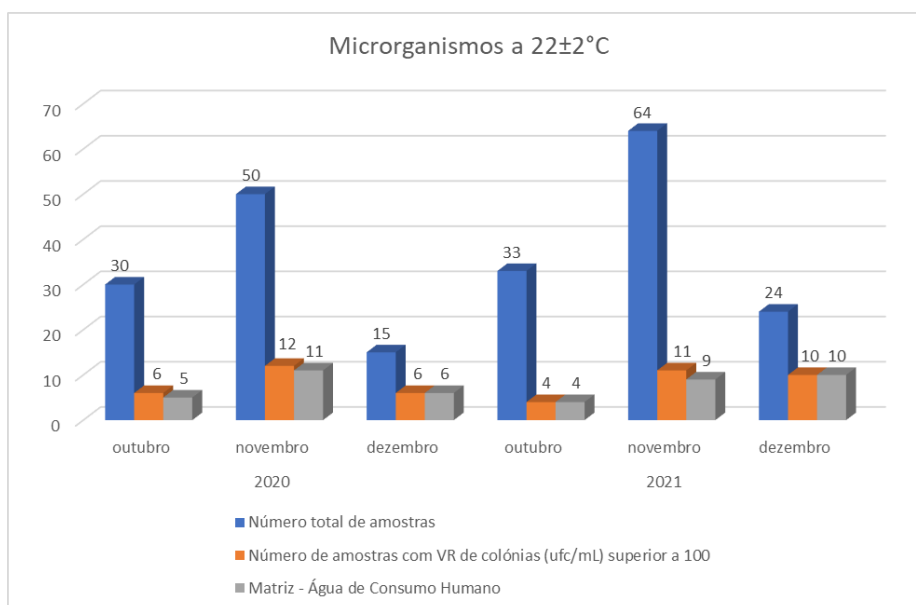


Figura 56 – Gráfico do número de amostras com o valor recomendado superior a 100 para os Microrganismos a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente. Legenda: VR – Valor Recomendado.

No que diz respeito, aos Microrganismos a 22°C , foram analisadas 95 amostras em 2020, e 121 amostras em 2021. Houve 22 amostras, de água de consumo humano, com valor superior ao recomendado em 2020, e em 2021 houve 23 amostras (Figura 56).

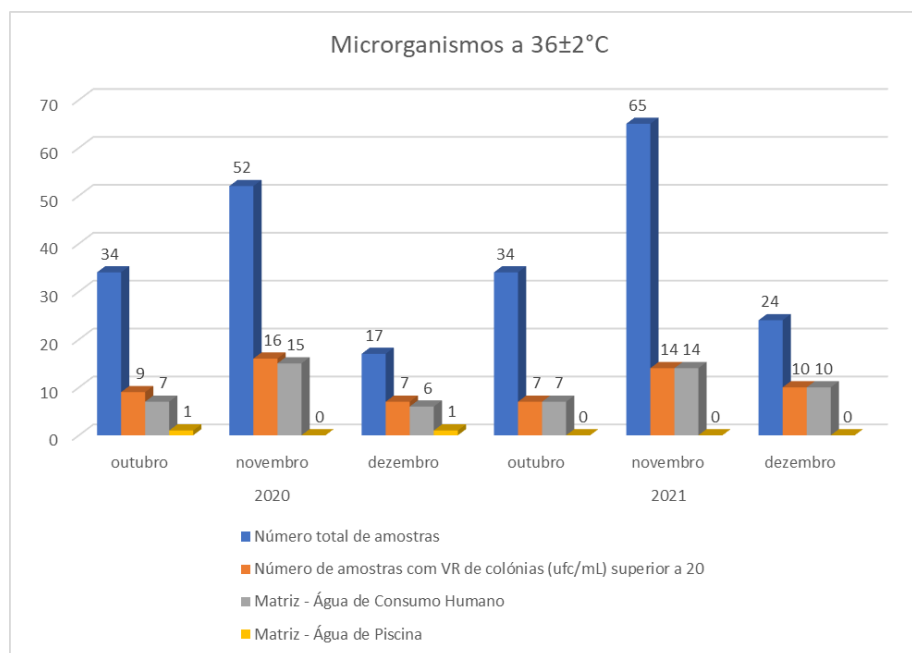


Figura 57 – Gráfico para os Microrganismos a 36±2°C, do número de amostras com o valor recomendado superior a 20 para águas de consumo humano, e do número de amostras com o valor recomendado superior a 100 para águas de piscina, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente. Legenda: VR – Valor Recomendado.

Em relação aos Microrganismos a 36°C, foram analisadas 103 amostras em 2020, e 123 amostras em 2021. Relativamente, às águas destinadas a consumo humano houve 28 amostras com valor superior ao recomendado em 2020, e em 2021 houve 31 amostras. Relativamente, às águas de piscina houve 2 amostras com valor superior ao recomendado em 2020, e em 2021 não se registou qualquer amostra com valor superior ao recomendado (Figura 57).

8.2.2. Bactérias coliformes e *Escherichia coli*

A maior parte das águas de consumo humano com contaminações microbiológicas por Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, são águas não tratadas, ou também designadas por águas de captação própria.

8.2.2.1. Águas de Rede

No que diz respeito a Bactérias coliformes e *Escherichia coli* foi-se avaliar quais as águas com valor limite superior ao imposto por lei (Figura 58) [39-40], e posteriormente confirmar-se quais dessas se encontravam realmente contaminadas.

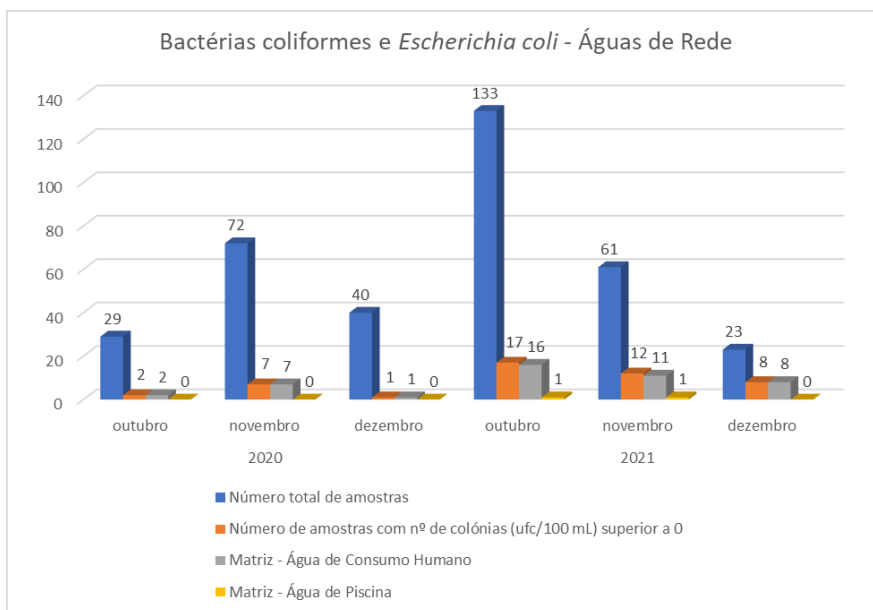


Figura 58 - Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de rede, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, o número de amostras com colónias suspeitas, foi superior no ano 2021 em relação ao ano 2020, quer para águas de consumo humano, quer para águas de piscina (Figura 58).

Na análise de águas de consumo humano para a deteção de Bactérias coliformes e *E. coli*, verificou-se que as águas analisadas em 2021 possuíam mais colónias suspeitas do que as águas analisadas em 2020, havendo 35 amostras com colónias suspeitas em 2021, em relação às 10 amostras em 2020. Verificou-se a mesma tendência, na análise de águas de piscina, existindo 2 amostras com colónias suspeitas em 2021, e nenhuma amostra suspeita em 2020 (Figura 58 e Anexos 17 e 18).

Depois de identificadas quais as amostras de águas de consumo humano, presumíveis de serem Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, passou-se à sua confirmação (Figura 59).

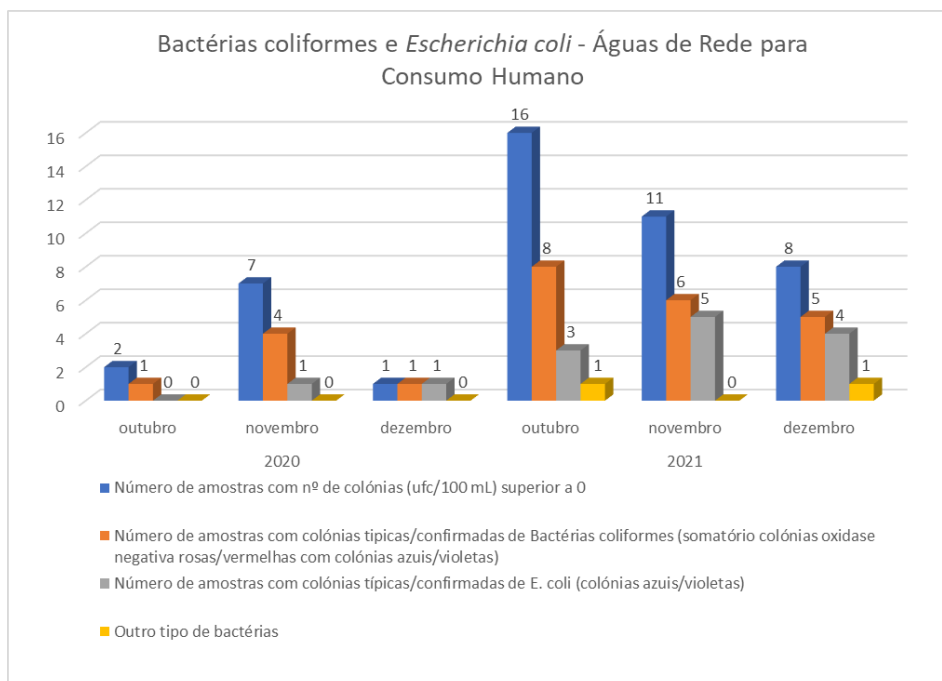


Figura 59 - Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de rede para consumo humano, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Nos resultados referentes às águas de consumo humano de 2020, verificou-se que das 10 amostras contaminadas, 6 tinham colónias típicas de Bactérias coliformes e 2 tinham colónias típicas de *E. coli*. Nas águas de consumo de 2021, verificou-se que das 35 amostras contaminadas, 19 continham colónias típicas de Bactérias coliformes e 12 continham colónias típicas de *E. coli* (Anexos 17 e 18, e Figura 59).

Depois de identificadas quais as amostras de águas de piscina, presumíveis de serem Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, passou-se à sua confirmação (Figura 60).

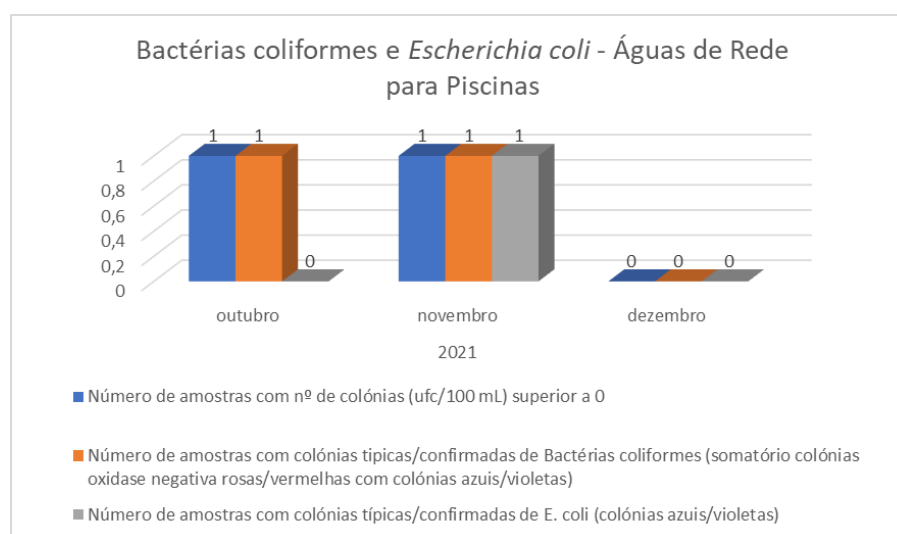


Figura 60 - Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de rede para piscinas, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021.

Nos resultados referentes às águas de piscina de 2021 (Figura 60), verificou-se que das 2 amostras com colónias suspeitas, 2 continham colónias típicas de Bactérias coliformes e apenas 1 amostra continha colónias típicas de *E. coli*. Em relação às 2 amostras com colónias suspeitas de Bactérias coliformes, a amostra 1927269, continha 56 colónias suspeitas, e as 10 que se confirmaram deram positivo, pelo que ultrapassou o valor recomendado de 0 ufc/100 mL, e ultrapassou também o valor limite de 10 ufc/100 mL; e que a amostra 1927918 continha 3 colónias suspeitas, que foram confirmadas como positivas, pelo que ultrapassou o valor recomendado de 0 ufc/100 mL, mas não o valor limite de 10 ufc/100mL (Anexo 18) [40].

8.2.2.2. Águas de Captação Própria

No que diz respeito a Bactérias coliformes e *Escherichia coli* foi-se avaliar quais as águas de consumo humano com valor limite superior ao imposto por lei (Figura 61) [39], e posteriormente confirmar-se quais dessas se encontravam realmente contaminadas.

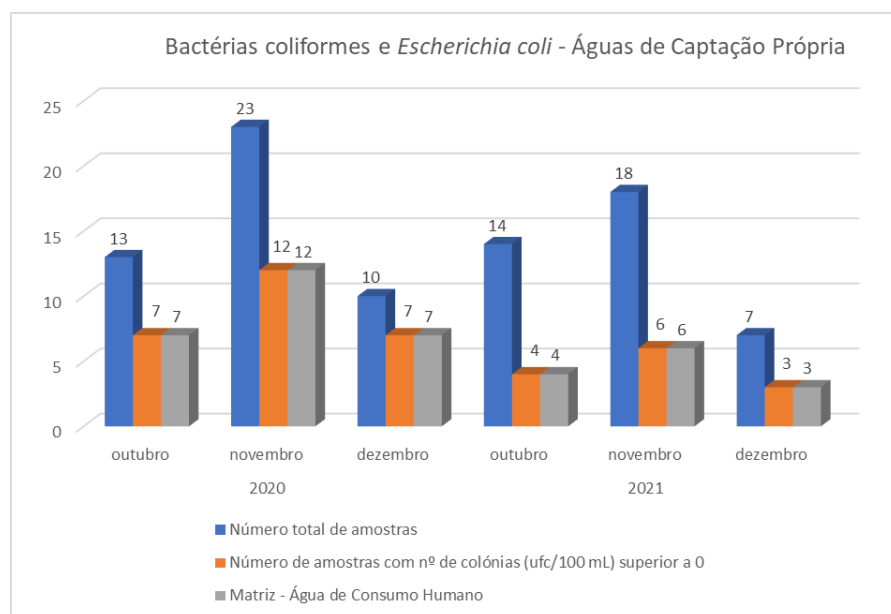


Figura 61 - Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de captação própria, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Para a deteção de Bactérias coliformes e *E. coli* em águas de consumo humano, foram analisadas 46 amostras em 2020 e 39 amostras em 2021 (Figura 61). Verificou-se que, das 46 amostras de 2020, 26 amostras possuíam colónias suspeitas, e das 39 amostras de 2021, 13 possuíam colónias suspeitas (Anexos 19 e 20).

Depois de identificadas quais as amostras de águas de consumo humano, presumíveis de serem Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, passou-se à sua confirmação (Figura 62).

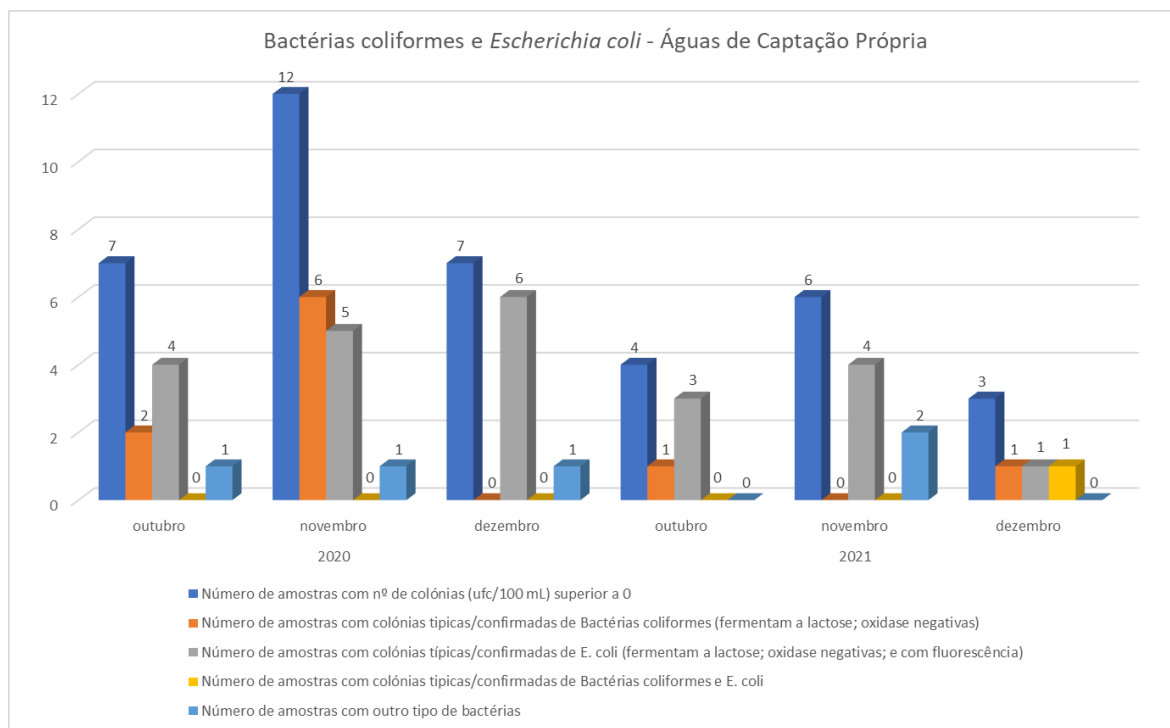


Figura 62 - Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, em águas de captação própria, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Das 26 amostras com colónias suspeitas em 2020, confirmou-se que 8 amostras continham colónias típicas de Bactérias coliformes, 15 amostras continham colónias típicas de *E. coli* e 3 amostras continham outro tipo de bactérias (Anexo 19 e Figura 62).

Das 13 amostras com colónias suspeitas em 2021, confirmou-se que 2 amostras continham colónias típicas de Bactérias coliformes, 8 amostras continham colónias típicas de *E. coli*, 2 amostras continham outro tipo de bactérias e 1 amostra, com o número 1929036, continha tanto colónias típicas de Bactérias coliformes como de *Escherichia coli* (Anexo 20 e Figura 62).

Na amostra 1929036, para além do crescimento de colónias típicas de Bactérias coliformes e de *Escherichia coli*, houve crescimento inespecífico, pois 1 das colónias que passou pelo processo de confirmação era não típica (Anexo 20).

8.2.3. *Enterococcus*

Para os *Enterococcus* foi-se avaliar quais as águas com valor limite superior ao imposto por lei (Figura 63) [39-40], e posteriormente confirmar-se quais dessas se encontravam realmente contaminadas.

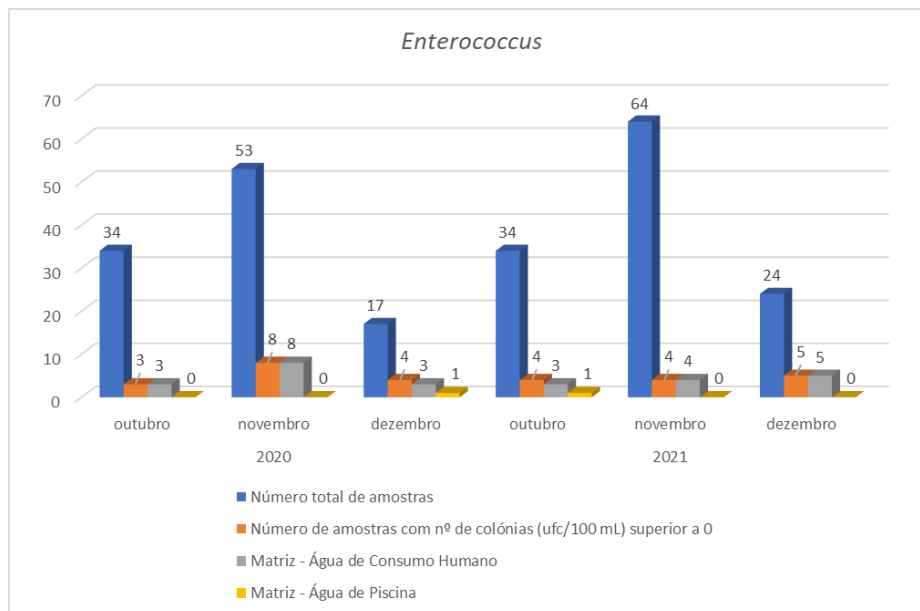


Figura 63 - Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para *Enterococcus*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Quanto aos *Enterococcus*, foram analisadas 104 amostras em 2020 e 122 amostras em 2021 (Figura 63).

Para águas de consumo humano, foram detetadas foram 14 amostras com colónias suspeitas em 2020, e em 2021 foram detetadas 12 amostras com colónias suspeitas. Para águas de piscina, foi detetada 1 amostra presumível de estar contaminada em 2020 e foi detetada 1 amostra presumível de apresentar contaminação em 2021 (Figura 63 e Anexos 21 e 22).

Depois de identificadas quais as amostras de águas de consumo humano e piscina, presumíveis de serem *Enterococcus*, passou-se à sua confirmação (Figura 64).

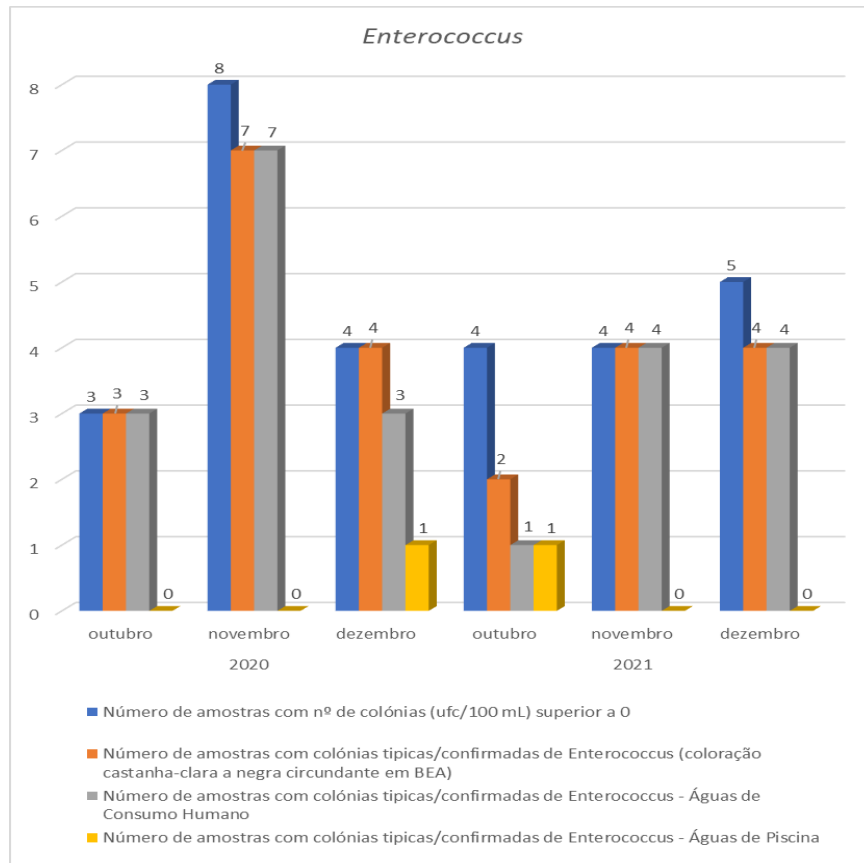


Figura 64 - Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de *Enterococcus*, em águas de consumo humano e de piscina, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Em relação às amostras referentes a águas de consumo humano, das 14 amostras presumíveis de estarem contaminadas em 2020, confirmou-se que 13 amostras continham colónias típicas de *Enterococcus*. Das 12 amostras presumíveis de estarem contaminadas em 2021, confirmou-se que 9 amostras continham colónias típicas de *Enterococcus* (Anexos 21 e 22, e Figura 64).

Para as amostras referentes às águas de piscina, verificou-se que ambas as amostras, quer do ano 2020, quer do ano 2021, continham colónias típicas de *Enterococcus* (Anexos 21 e 22, e Figura 64).

8.2.4. *Clostridium perfringens*

No que diz respeito ao *Clostridium perfringens* foi-se avaliar quais as águas com valor limite superior ao imposto por lei (Figura 65) [39], e posteriormente confirmar-se quais dessas se encontravam realmente contaminadas.

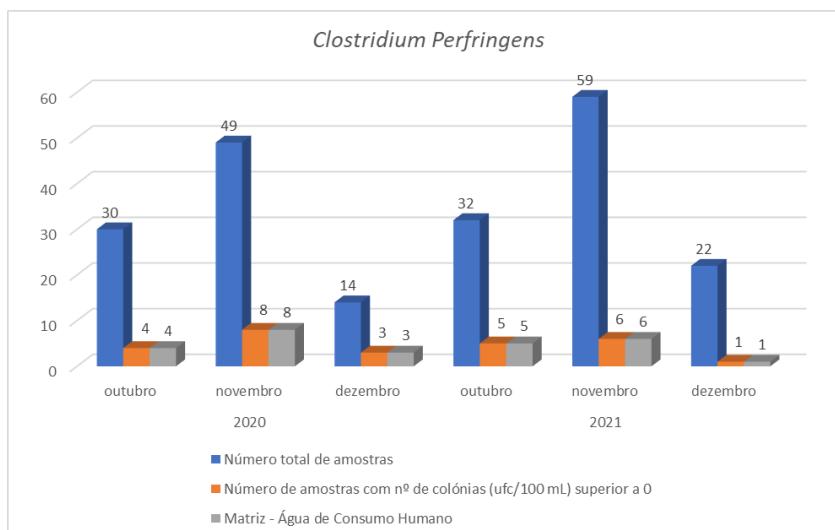


Figura 65 - Gráfico do número de amostras com o valor limite superior a 0 para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Em relação ao *C. perfringens*, foram analisadas 93 amostras em 2020 e 113 amostras em 2021 (Figura 65).

Na análise de águas de consumo humano, foram detetadas 15 amostras com colónias suspeitas em 2020 e 12 amostras com colónias suspeitas em 2021 (Figura 65 e Anexos 23 e 24).

Depois de identificadas quais as amostras de águas de consumo humano, presumíveis de serem *C. perfringens*, passou-se à sua confirmação (Figura 66).

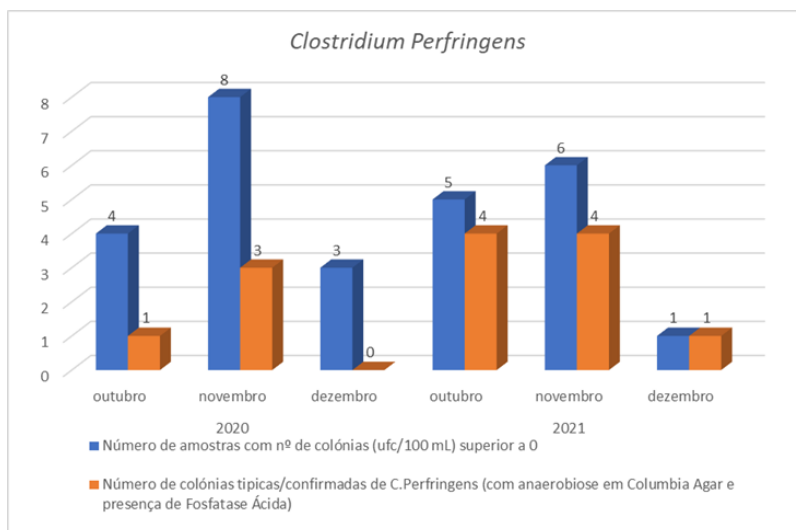


Figura 66 - Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Das 15 amostras com colónias suspeitas em 2020, confirmou-se que 4 amostras continham colónias típicas de *C. perfringens*. Das 12 amostras com colónias suspeitas

em 2021, confirmou-se que 9 amostras continham colónias típicas de *C. perfringens* (Anexos 23 e 24, e Figura 66).

As contaminações por este microrganismo dos diferentes tipos de águas, tal como para os *Enterococcus*, poderão estar relacionadas, com o ambiente circundante, como por exemplo a existência de vacarias, que contribuem para a poluição fecal associada a este microrganismo [19-20].

8.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

No que toca à *Pseudomonas aeruginosa* foi-se avaliar quais as águas com valor limite superior ao imposto por lei (Figura 67) [40], e posteriormente confirmar-se quais dessas se encontravam realmente contaminadas.

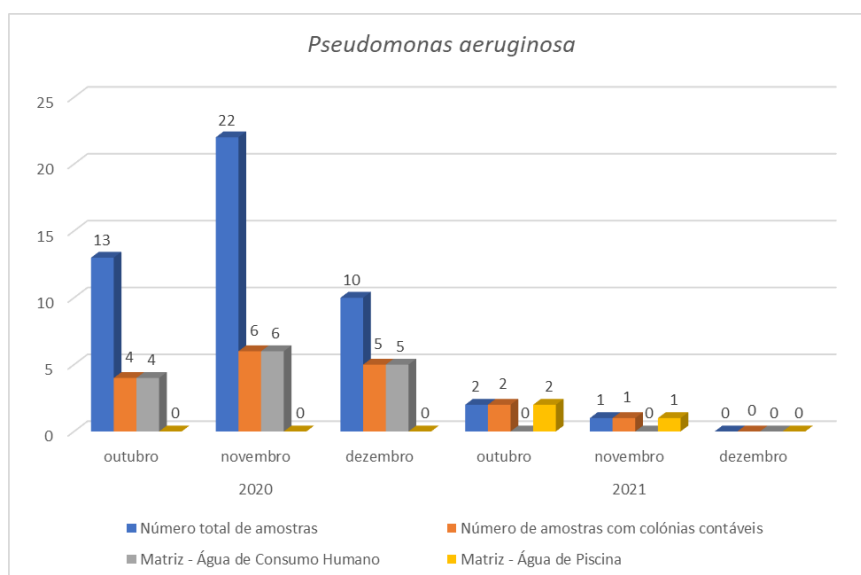


Figura 67 - Gráfico do número de amostras com colónias contáveis de *P. aeruginosa*, em águas de consumo humano e águas de piscina, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Em relação à *P. aeruginosa*, foram analisadas 45 amostras em 2020, apenas para águas de consumo humano e 3 em 2021, apenas para águas de piscina (Figura 67). Tal se deveu ao facto de que, em 2020 os ensaios realizados estiveram associados à validação e experiência no método, para cumprimento dos requisitos da extensão do âmbito da acreditação.

Para águas de consumo humano, o número de amostras presumíveis de serem *Pseudomonas aeruginosa* foi 15 e para águas de piscina 3 (Figura 67 e Anexos 25 e 26).

Depois de identificadas quais as amostras de águas de consumo humano e piscina, presumíveis de serem *P. aeruginosa* passou-se à sua confirmação (Figura 68).

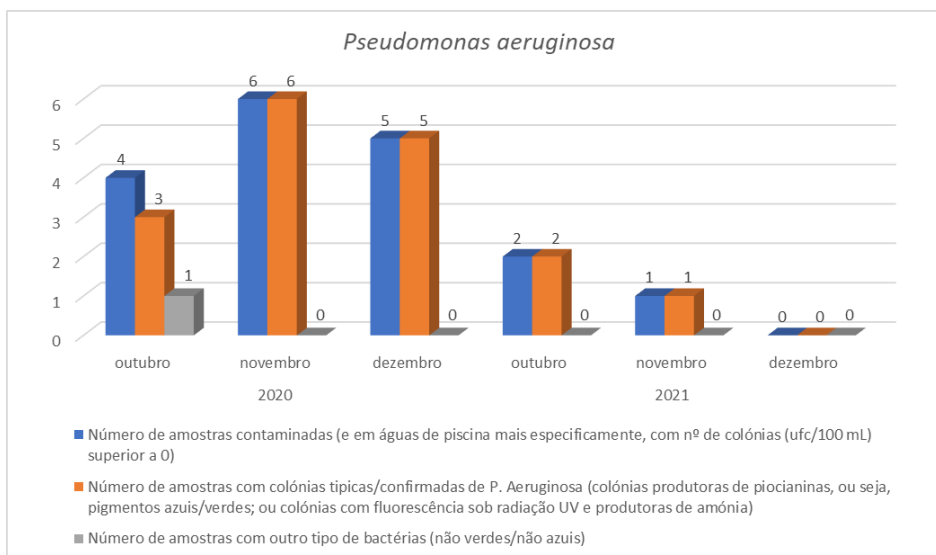


Figura 68 - Gráfico do número de amostras confirmadas quanto à existência de *P. aeruginosa*, em águas de consumo humano (2020) e águas de piscina (2021), referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020 e de 2021, respetivamente.

Das 15 amostras com colónias características de *Pseudomonas aeruginosa*, no que respeita a matriz de águas de consumo humano, confirmaram-se como positivas 14 amostras (Anexo 25 e Figura 68).

Relativamente à matriz de água de piscina, das 3 amostras com colónias suspeitas de *Pseudomonas aeruginosa*, confirmou-se que todas eram positivas (Anexo 26 e Figura 68).

9. Ensaio Físico-Químicos de Águas de Consumo Humano e de Piscina

Os resultados alusivos a amostras reais, aqui debatidos, são referentes ao período de estágio de setembro de 2021 a abril de 2022.

9.1. pH

Os resultados do pH foram expressos em unidades de pH, juntamente com a temperatura a que foram lidos. No entanto, o aparelho medidor de pH, estabeleceu uma compensação entre a temperatura real a que amostra foi medida, e a temperatura padrão de 25°C, o que permitiu a apresentação de resultados de pH a 25°C, conforme o estipulado nos decretos-lei e nas circulares normativas [33, 39, 40].

Para as águas de consumo humano, os valores de pH devem estar contidos no intervalo de 6,5 a 9,5 (Tabela 7) [39].

Tabela 7 – Valores de pH, medidos à temperatura real, para águas de consumo humano.

Data	Valor de pH a 25°C	T°C real
22/09/2021	6,24	22
22/09/2021	6,54	22
14/10/2021	6,60	22
21/10/2021	7,12	24
09/11/2021	7,85	20
09/11/2021	7,74	20
09/11/2021	7,59	20
09/11/2021	7,91	20
12/11/2021	7,97	23
16/11/2021	7,65	20
17/11/2021	8,27	20
23/11/2021	8,17	20
23/11/2021	7,77	20
30/11/2021	9,16	18
03/12/2021	9,65	19
14/12/2021	9,21	20
14/12/2021	8,82	20
14/12/2021	8,59	20
16/12/2021	7,87	19
16/12/2021	7,55	20
12/01/2022	7,55	17
12/01/2022	7,15	18
08/02/2022	6,87	19
08/02/2022	8,66	20
22/02/2022	8,26	18
23/02/2022	5,85	21
23/02/2022	6,2	22
23/02/2022	5,69	21
08/03/2022	8,15	21
08/03/2022	8,13	19
08/03/2022	8,02	19
08/03/2022	7,91	19
08/03/2022	7,76	19
09/03/2022	8,83	18
09/03/2022	9,56	19
09/03/2022	9,41	18
09/03/2022	8,27	18
09/03/2022	9,60	18
30/03/2022	6,14	18
31/03/2022	7,44	18
31/03/2022	7,31	18
06/04/2022	7,16	19
06/04/2022	7,10	19
06/04/2022	7,20	19
06/04/2022	7,36	19
06/04/2022	7,28	19
06/04/2022	7,26	19
19/04/2022	7,79	17
21/04/2022	7,14	18
21/04/2022	7,49	17
22/04/2022	6,91	17

Para as águas de piscina, os valores de pH devem estar contidos no intervalo de 6,9 a 8,0 (Tabela 8) [40].

Tabela 8 – Valores de pH, medidos à temperatura real, para águas de piscina com água doce.

Data	Valor de pH a 25°C	T°C real
21/09/2021	6,33	23
21/09/2021	6,72	22
21/09/2021	6,93	22
21/09/2021	6,31	21
21/09/2021	7,11	23
24/09/2021	6,58	24
24/09/2021	6,73	24
25/10/2021	8,35	22
25/10/2021	8,95	23
09/11/2021	7,57	20
12/01/2022	6,47	18
15/02/2022	6,98	19
15/02/2022	6,89	18
22/02/2022	7,11	22
12/04/2022	7,09	21
12/04/2022	7,28	21
19/04/2022	7,63	17
19/04/2022	7,81	17
19/04/2022	6,82	23

Para cada tipo de amostra analisou-se o valor de pH, em comparação ao estipulado por lei (Figura 69) [39-40].

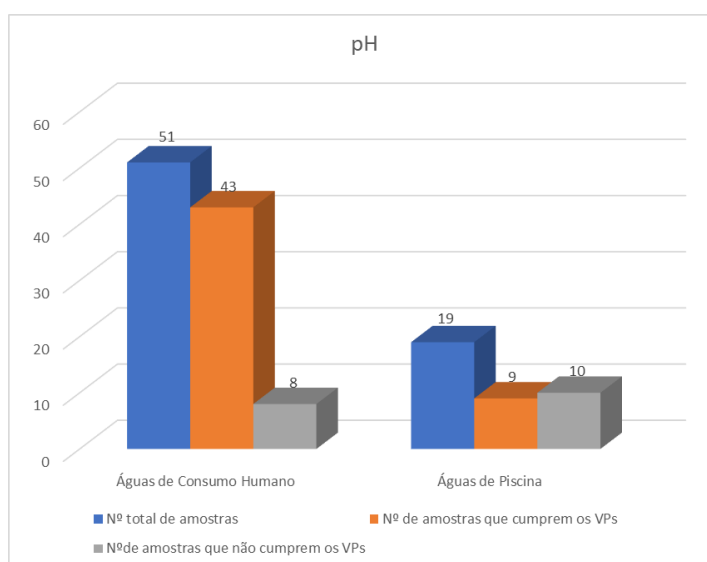


Figura 69 – Gráfico representativo do número de amostras que cumprem e que não cumprem os valores paramétricos (VPs) no que diz respeito ao pH, para águas de consumo humano e águas de piscina com água doce.

No que diz respeito ao pH, no período de setembro de 2021 a abril de 2022, verificou-se que o número de amostras satisfatórias para águas destinadas ao consumo humano, foi bastante superior em relação ao número de amostras insatisfatórias. Em

relação às águas de piscina, o número amostras insatisfatórias foi superior ao número de amostras satisfatórias (Figura 69).

9.2. Condutividade

Os resultados de condutividade foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}$, a uma temperatura de 20°C , que foi pré-definida, antes do início da leitura das amostras no aparelho medidor de condutividade.

Para as águas de consumo humano, os valores de condutividade devem estar contidos abaixo do limite superior de $2500 \mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabela 9) [39].

Tabela 9 – Valores de condutividade, medidos a 20°C , para águas de consumo humano.

Data	Valor da Condutividade a 20°C ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Data	Valor da Condutividade a 20°C ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
22/09/2021	539	23/02/2022	68,9
22/09/2021	795	23/02/2022	253,7
14/10/2021	1283	08/03/2022	72,5
21/10/2021	246,7	08/03/2022	43,9
09/11/2021	452	08/03/2022	72,1
09/11/2021	309	08/03/2022	103,6
09/11/2021	466	08/03/2022	346
09/11/2021	404	09/03/2022	81,3
12/11/2021	175,2	09/03/2022	379
16/11/2021	478	09/03/2022	366
17/11/2021	862	09/03/2022	381
23/11/2021	142,8	09/03/2022	389
23/11/2021	601	30/03/2022	55,8
30/11/2021	36,6	31/03/2022	368
03/12/2021	48,4	31/03/2022	687,5
14/12/2021	592	06/04/2022	270,2
14/12/2021	590	06/04/2022	262,3
14/12/2021	579	06/04/2022	269,3
16/12/2021	325	06/04/2022	271,6
16/12/2021	388	06/04/2022	272,1
12/01/2022	136,4	06/04/2022	267,9
12/01/2022	155,7	19/04/2022	44,0
08/02/2022	226,1	21/04/2022	722
08/02/2022	33,6	21/04/2022	234,4
22/02/2022	87,9	22/04/2022	731
23/02/2022	69,9		

Para as águas de piscina, os valores de condutividade devem estar contidos abaixo do limite superior de $1500 \mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabela 10) [40].

Tabela 10 – Valores de condutividade, medidos a 20°C, para águas de piscina com água doce.

Data	Valor da Condutividade a 20°C (µS/cm)
21/09/2021	8490
21/09/2021	304
21/09/2021	6170
21/09/2021	941
21/09/2021	634
24/09/2021	575
24/09/2021	3520
25/10/2021	192,1
25/10/2021	1067
09/11/2021	663
12/01/2022	736
15/02/2022	698
15/02/2022	134,3
22/02/2022	157,5
12/04/2022	920
12/04/2022	273,1
19/04/2022	279,4
19/04/2022	135,5
19/04/2022	622

Para cada tipo de amostra analisou-se o valor de condutividade, em comparação ao estipulado por lei (Figura 70) [39-40].

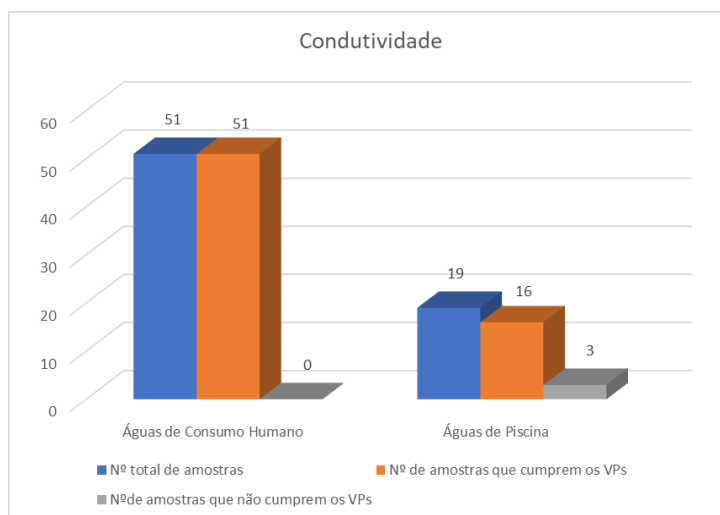


Figura 70 – Gráfico representativo do número de amostras que cumprem e que não cumprem os valores paramétricos (VPs) no que diz respeito à condutividade, para águas de consumo humano e águas de piscina com água doce.

No que diz respeito à condutividade, no período de setembro de 2021 a abril de 2022, verificou-se que todas as amostras de água destinadas ao consumo humano, se encontravam satisfatórias. Em relação às águas de piscina, o número de amostras satisfatórias foi bastante superior ao número de amostras insatisfatórias (Figura 70).

9.3. Turvação

Os resultados de turvação foram expressos em UNT. A medição da turvação não necessita de ser acompanhada da medição da temperatura.

Para as águas de consumo humano, os valores de turvação devem estar contidos abaixo do limite superior de 4 UNT (Tabela 11) [39].

Tabela 11 – Valores de turvação, para águas de consumo humano.

Data	Valor da Turvação (UNT)	Data	Valor da Turvação (UNT)
22/09/2021	0,35	23/02/2022	0,34
22/09/2021	0,26	08/03/2022	2,30
14/10/2021	0,23	08/03/2022	8,32
21/10/2021	0,10	08/03/2022	1,17
09/11/2021	0,23	08/03/2022	0,84
12/11/2021	0,24	08/03/2022	0,33
16/11/2021	0,21	09/03/2022	2,28
17/11/2021	0,21	09/03/2022	0,40
23/11/2021	3,95	09/03/2022	0,30
23/11/2021	0,69	09/03/2022	0,30
30/11/2021	0,11	09/03/2022	0,43
03/12/2021	1,46	30/03/2022	2,23
14/12/2021	5,28	31/03/2022	0,68
14/12/2021	4,33	31/03/2022	0,23
14/12/2021	7,52	06/04/2022	0,31
16/12/2021	0,60	06/04/2022	0,18
16/12/2021	0,21	06/04/2022	0,27
12/01/2022	5,08	06/04/2022	0,18
12/01/2022	3,15	06/04/2022	0,14
08/02/2022	0,68	06/04/2022	0,28
08/02/2022	3,76	19/04/2022	0,21
22/02/2022	2,53	21/04/2022	0,38
23/02/2022	0,21	21/04/2022	0,49
23/02/2022	0,30	22/04/2022	0,27

Para as águas de piscina, os valores de turvação devem estar contidos no intervalo de 0,5 a 4 UNT (Tabela 12) [40].

Tabela 12 – Valores de turvação, para águas de piscina com água doce.

Data	Valor da Turvação (UNT)
21/09/2021	0,17
21/09/2021	2,13
21/09/2021	0,57
21/09/2021	0,78
21/09/2021	0,12
24/09/2021	0,76
24/09/2021	0,39
25/10/2021	1,46
25/10/2021	1,74
09/11/2021	0,19
12/01/2022	1,79
15/02/2022	2,87
15/02/2022	2,15
22/02/2022	0,21
12/04/2022	1,31
12/04/2022	1,48
19/04/2022	0,33
19/04/2022	0,34
19/04/2022	0,10

Para cada tipo de amostra analisou-se o valor de turvação, em comparação ao estipulado por lei (Figura 71) [39-40].

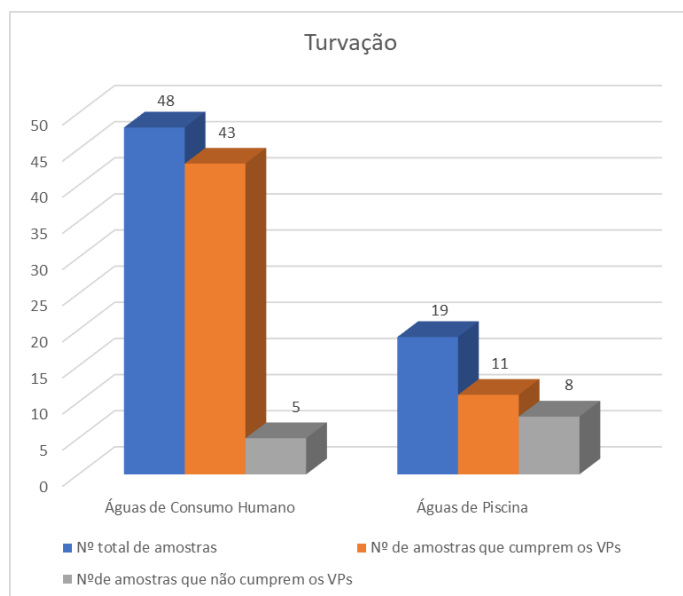


Figura 71 – Gráfico representativo do número de amostras que cumprem e que não cumprem os valores paramétricos (VPs) no que diz respeito à turvação, para águas de consumo humano e águas de piscina com água doce.

No que diz respeito à turvação, no período de setembro de 2021 a abril de 2022, verificou-se que o número de amostras satisfatórias para águas destinadas ao consumo

humano, foi bastante superior ao número de amostras insatisfatórias. Em relação às águas de piscina, o número amostras satisfatórias foi superior ao número de amostras insatisfatórias (Figura 71).

10. Controlo de Qualidade Interno dos Parâmetros Físico-Químicos

Devido à grande quantidade de dados, apenas foram exemplificados dados referentes ao período de estágio de janeiro a abril de 2022; sendo que alguns exemplos se referiram apenas a dias específicos; e em situações que os ensaios não foram realizados até à data de 29 de abril de 2022, foram utilizados exemplos referentes a 2021.

10.1. pH

No pH, não existem ensaios de linearidade nem se efetua a realização de um limite de quantificação mensal, basta executar o controlo dos padrões de pH.

10.1.1. Carta de Controlo

A carta de controlo do pH (Tabela 13) seguiu o método “4500-H⁺ B. *Electrometric Method*”, do livro *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [34].

Tabela 13 – Carta de controlo com os parâmetros do medidor de pH, medidos a cada dia de trabalho.

Ensaio	Data	Offset (mV)	Slope (%)	PC 6.88 (Escala Sorensen)
1	12/01/2022	-0,2	95,3	6,88 a 18°C
2	08/02/2022	5,3	97,1	6,89 a 21°C
3	15/02/2022	-0,5	95,3	7,01 a 20°C
4	22/02/2022	2,7	94,9	7,07 a 21°C
5	23/02/2022	0,6	94,9	7,02 a 21°C
6	08/03/2022	7,5	92,1	6,79 a 20°C
7	09/03/2022	3,2	91,3	6,80 a 20°C
8	30/03/2022	2,6	94,6	6,72 a 19°C
9	31/03/2022	2,6	94,6	6,74 a 20°C
10	06/04/2022	-5,0	93,9	6,96 a 20°C
11	12/04/2022	-6,9	92,7	6,96 a 20°C
12	19/04/2022	-6,3	94,7	7,01 a 20°C
13	21/04/2022	-6,3	94,4	7,00 a 20°C
14	22/04/2022	-6,8	94,8	7,01 a 20°C
15	27/04/2022	-8,2	95,4	6,94 a 20 °C
16	29/04/2022	-8,6	95,3	6,81 a 21 °C

Os valores de *offset* do aparelho medidor de pH, durante o período apresentado na tabela 13, estiveram sempre contidos dentro do intervalo de -30 a 30 mV, que corresponde ao critério de aceitação pré-definido [59].

O critério de aceitação do valor do declive está contido no intervalo de 85 a 105% (Figura 72) [59].

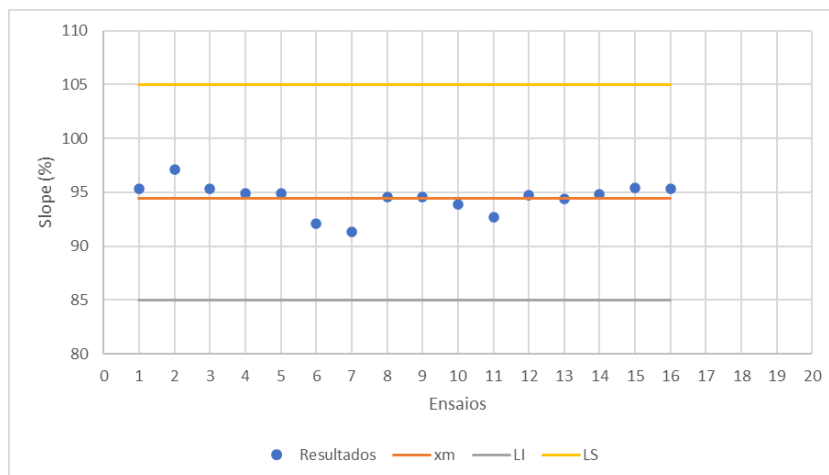


Figura 72 – Gráfico correspondente aos valores do declive do aparelho medidor de pH. Legenda: x_m - valor médio; LI: Limite Inferior do intervalo; LS: Limite Superior do intervalo.

Os valores do declive estiveram sempre contidos dentro do intervalo de aceitação (Figura 72).

O critério de aceitação do valor do PC de 6,88 está contido no intervalo de 6,59 a 7,25; valores que correspondem respectivamente ao LIC e LSC. Após 15 ensaios, trancam-se os valores da média, e dos 4 limites: LSC, LSA, LIA e LIC e apenas se acrescentam as medições efetuadas a cada dia de trabalho do PC de 6,88 (Figura 73).

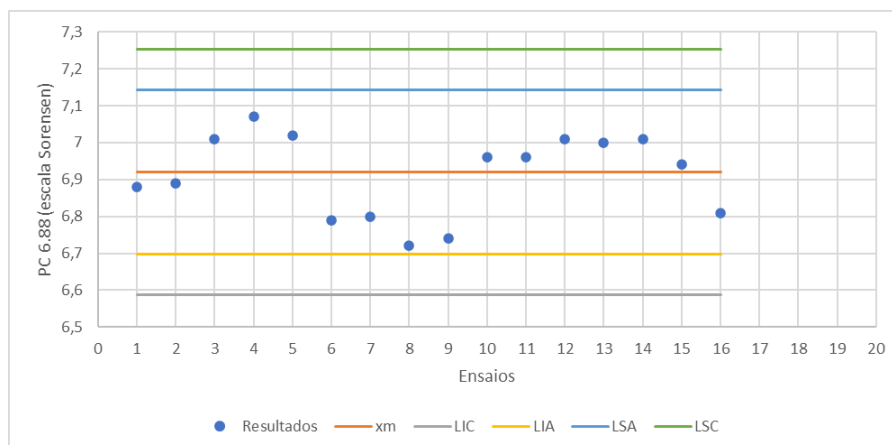


Figura 73 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 6,88 na Escala de Sorensen. Legenda: x_m - valor médio; LSC: Limite Superior de Controlo; LSA: Limite Superior de Aviso; LIA: Limite Inferior de Aviso; LIC: Limite Inferior de Controlo.

Através da obtenção dos valores do padrão de controlo, verificou-se a correta leitura por parte do aparelho e conseqüentemente, o seu bom funcionamento (Figura 73).

Após análise de todos os parâmetros, confirmou-se que os valores dos parâmetros do medidor de pH cumpriram com os respectivos critérios de aceitação.

10.1.2. Duplicados

Na carta de controlo, basta indicar apenas o 1º valor do padrão de pH, medido antes da leitura da 1ª amostra; no entanto a cada dia de trabalho efetuam-se 2 leituras do PC de 6,88, uma antes da leitura da 1ª amostra e outra no final da leitura de todas as amostras. Estas 2 leituras são designadas por duplicados. Os duplicados permitem que haja uma garantia da correta leitura das amostras, do início ao fim, através da leitura de uma determinada solução padrão. Na emissão de resultados, deve-se colocar a média dos 2 valores como valor a emitir.

O critério de aceitação de 10% do valor do PC de 6,88 está contido no intervalo de 6,19 a 7,57 (Tabela 14).

Tabela 14 – Duplicados do PC 6,88, medidos à temperatura real.

Ensaio	Data	PC 6.88 (Escala Sorensen)	
1	12/01/2022	6,88	18°C
2	12/01/2022	6,87	18°C
3	08/02/2022	6,89	21°C
4	08/02/2022	6,90	21°C
5	15/02/2022	7,01	20°C
6	15/02/2022	7,02	20°C
7	22/02/2022	7,07	21°C
8	22/02/2022	7,07	21°C
9	23/02/2022	7,02	21°C
10	23/02/2022	7,03	21°C
11	08/03/2022	6,79	20°C
12	08/03/2022	6,80	20°C
13	09/03/2022	6,80	20°C
14	09/03/2022	6,82	20°C
15	30/03/2022	6,72	19°C
16	30/03/2022	6,77	19°C
17	31/03/2022	6,74	20°C
18	31/03/2022	6,77	20°C
19	06/04/2022	6,96	20°C
20	06/04/2022	6,97	20°C
21	12/04/2022	7,06	21°C
22	12/04/2022	7,05	21°C
23	19/04/2022	7,01	20°C
24	19/04/2022	7,00	20°C
25	21/04/2022	7,00	20°C
26	21/04/2022	6,93	20°C
27	22/04/2022	7,01	20°C
28	22/04/2022	6,94	20°C
29	27/04/2022	6,94	20°C
30	27/04/2022	6,77	20°C
31	29/04/2022	6,81	21°C
32	29/04/2022	6,63	21°C

Os valores dos duplicados cumpriram com os critérios de aceitação (Tabela 14).

10.1.3. Ensaio em Paralelo

A calibração diária do aparelho medidor de pH encontrava-se conforme, pelo que se pode avançar na realização dos respetivos ensaios em paralelo (Tabela 15). As leituras das amostras são efetuadas à temperatura real.

Tabela 15 – Excerto da tabela com várias leituras de pH por operador, da amostra 1930121, cuja matriz é referente a uma Água de Consumo Humano.

Amostra	Operador	Leituras de pH (escala de Sorensen)					
		1		2		3	
1930121 Água de Consumo Humano	AG	8,68	20°C	8,64	20°C	8,54	20°C
	AR	8,39	20°C	8,38	20°C	8,32	20°C
	JT	8,20	20°C	8,23	20°C	8,18	20°C
	TD	8,06	20°C	8,02	20°C	8,00	20°C
	LS	7,90	20°C	7,91	20°C	7,96	20°C

A média das leituras de pH dos operadores foi de $\bar{x} \approx 8,23$, pelo que o critério de aceitação das amostras foi calculado pela média da amostra $\pm 10\%$ e obteve-se o intervalo de valores contido entre 7,41 e 9,05. Verificou-se que todas as leituras obtidas pelos diferentes operadores se encontraram dentro deste intervalo (Tabela 15). Os técnicos/operadores cumpriram com os critérios de aceitação.

10.2. Condutividade

10.2.1. Carta de Controlo

A carta de controlo da condutividade seguiu a NP EN 27 888, de 1996 [37]. Os Padrões (PC) têm o seu valor medido a uma temperatura de 25°C (Tabela 16).

Tabela 16 - Carta de controlo com os parâmetros do medidor de condutividade, medidos a cada dia de trabalho.

Ensaio	Data	C.F. (cm ⁻¹)	PC 1413 μS/cm	PC 84 μS/cm
1	12/01/2022	0,982	1418	84,0
2	08/02/2022	0,977	1411	82,0
3	15/02/2022	0,982	1413	84,6
4	22/02/2022	0,990	1413	84,3
5	23/02/2022	0,987	1418	83,2
6	08/03/2022	1,025	1408	85,9
7	09/03/2022	1,099	1412	85,1
8	30/03/2022	0,974	1412	84,2
9	31/03/2022	0,974	1412	84,3
10	06/04/2022	0,972	1412	84,0
11	12/04/2022	1,022	1412	84,8
12	19/04/2022	0,982	1420	86,1
13	21/04/2022	0,977	1407	86,2
14	22/04/2022	0,977	1413	86,9
15	27/04/2022	1,000	1429	88,2
16	29/04/2022	0,978	1412	87,9

Legenda: C.F. – fator de célula.

O critério de aceitação do valor de C.F. do aparelho está contido no intervalo calculado a 10% do valor alvo de 1,0 cm⁻¹, sendo este compreendido entre os valores 0,9 a 1,1 cm⁻¹ (Figura 74) [36].

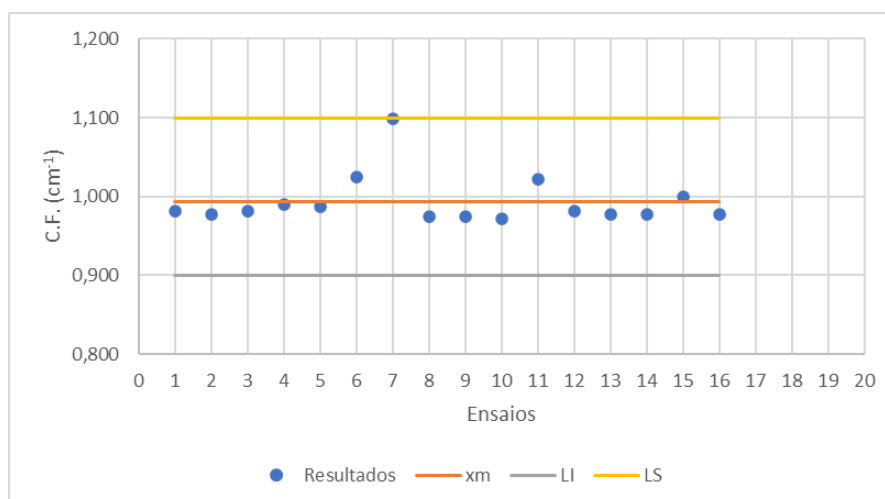


Figura 74 – Gráfico correspondente aos valores do fator de célula medido a cada dia de trabalho. Legenda: x_m - valor médio; LI: Limite Inferior do intervalo; LS: Limite Superior do intervalo.

Os valores de C.F., durante o período apresentado na Figura 74, estiveram sempre contidos dentro do intervalo de aceitação.

O critério de aceitação do valor do PC de 1413 μS/cm está contido no intervalo de 1398 a 1430 μS/cm; valores que correspondem respetivamente ao LIC e LSC. Após 15 ensaios, trancam-se os valores da média, e dos 4 limites: LSC, LSA, LIA e LIC e

apenas se acrescentam as medições efetuadas a cada dia de trabalho do PC de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Figura 75).

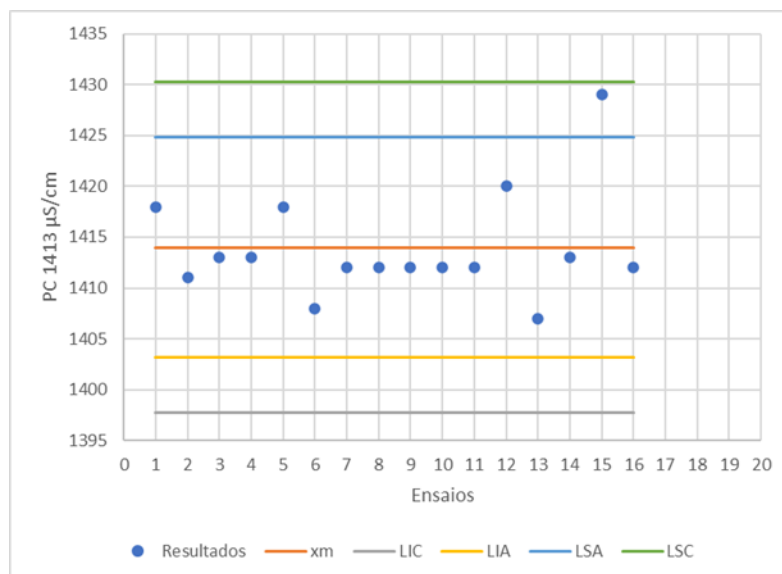


Figura 75 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Legenda: x_m - valor médio; LSC: Limite Superior de Controle; LSA: Limite Superior de Aviso; LIA: Limite Inferior de Aviso; LIC: Limite Inferior de Controle.

O ponto correspondente ao ensaio 15 ultrapassou o LSA pelo que esse ponto foi considerado como incorreto em relação aos restantes que se encontravam dentro do intervalo LIA-LSA, contudo não foi rejeitado pois não ultrapassou o LSC; serviu como uma chamada de atenção para a ocorrência de possíveis erros experimentais, funcionou assim como uma “zona de perigo”. Os restantes pontos estiveram contidos dentro do intervalo calculado (Figura 75).

O critério de aceitação do valor do PC de 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ está contido no intervalo de 80 a 90 $\mu\text{S}/\text{cm}$; valores que correspondem respetivamente ao LIC e LSC. Após 15 ensaios, trancam-se os valores da média, e dos 4 limites: LSC, LSA, LIA e LIC e apenas se acrescentam as medições efetuadas a cada dia de trabalho do PC de 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Figura 76).

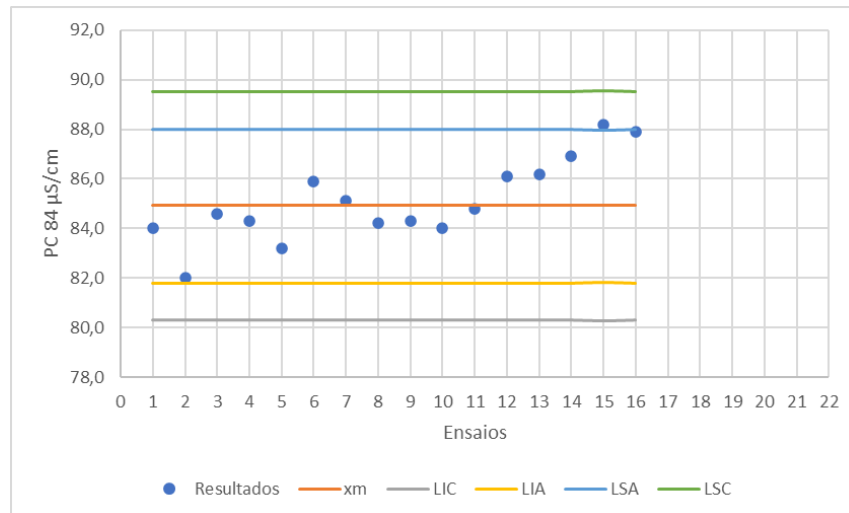


Figura 76 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Legenda: x_m - valor médio; LSC: Limite Superior de Controle; LSA: Limite Superior de Aviso; LIA: Limite Inferior de Aviso; LIC: Limite Inferior de Controle.

O ponto correspondente ao ensaio 15 ultrapassou o LSA pelo que esse ponto foi considerado como incorreto em relação aos restantes. Os restantes pontos estiveram de acordo com o critério de aceitação (Figura 76).

Assim, após análise de todos os parâmetros, verificou-se que os valores dos parâmetros do medidor de condutividade cumpriram com os respectivos critérios de aceitação.

10.2.2. Duplicados

Na condutividade, os duplicados foram realizados da mesma forma como referido no ponto 10.1.2., mas neste caso para os padrões de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$; sendo que os duplicados do PC de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ foram lidos antes do início da medição dos resultados das amostras, e os duplicados do PC de 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$, foram medidos antes e no final da medição dos valores das amostras.

O critério de aceitação de 10% do valor do PC de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ está contido no intervalo de 1272 a 1554 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabela 17). O critério de aceitação de 10% do valor do PC de 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ está contido no intervalo de 75,6 a 92,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabela 18).

Tabela 17 – Duplicados do PC 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C.

Ensaio	Data	PC 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C
1	12/01/2022	1418
2	12/01/2022	1415
3	08/02/2022	1411
4	08/02/2022	1415
5	15/02/2022	1413
6	15/02/2022	1411
7	22/02/2022	1413
8	22/02/2022	1415
9	23/02/2022	1418
10	23/02/2022	1421
11	08/03/2022	1408
12	08/03/2022	1410
13	09/03/2022	1412
14	09/03/2022	1413
15	30/03/2022	1412
16	30/03/2022	1409
17	31/03/2022	1412
18	31/03/2022	1409
19	06/04/2022	1412
20	06/04/2022	1413
21	12/04/2022	1412
22	12/04/2022	1414
23	19/04/2022	1420
24	19/04/2022	1410
25	21/04/2022	1407
26	21/04/2022	1401
27	22/04/2022	1413
28	22/04/2022	1410
29	27/04/2022	1429
30	27/04/2022	1434
31	29/04/2022	1412
32	29/04/2022	1412

Tabela 18 - Duplicados do PC 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C.

Ensaio	Data	PC 84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C
1	12/01/2022	84,0
2	12/01/2022	84,2
3	08/02/2022	82,0
4	08/02/2022	83,1
5	15/02/2022	84,6
6	15/02/2022	84,5
7	22/02/2022	84,3
8	22/02/2022	84,4
9	23/02/2022	83,2
10	23/02/2022	84,0
11	08/03/2022	85,9
12	08/03/2022	85,9
13	09/03/2022	85,1
14	09/03/2022	84,9
15	30/03/2022	84,2
16	30/03/2022	83,8
17	31/03/2022	84,3
18	31/03/2022	84,4
19	06/04/2022	84,0
20	06/04/2022	83,2
21	12/04/2022	84,8
22	12/04/2022	84,3
23	19/04/2022	86,1
24	19/04/2022	85,1
25	21/04/2022	86,2
26	21/04/2022	85,8
27	22/04/2022	86,9
28	22/04/2022	86,5
29	27/04/2022	88,2
30	27/04/2022	87,5
31	29/04/2022	87,9
32	29/04/2022	88,4

Os valores dos duplicados cumpriram com os critérios de aceitação (Tabelas 17 e 18).

10.2.3. Limite de Quantificação (LQ)

O valor do LQ mensal da condutividade é de 14,12 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 20°C. Mensalmente este padrão é preparado a partir da solução padrão, pré-preparada de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

O valor do LQ mensal da condutividade deve ser medido como se fosse uma amostra, daí a temperatura a que é medido ser de $T^{\circ}\text{C} = 20$. O critério de aceitação de 10% do valor do LQ está contido no intervalo de 12,71 a 15,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabela 19).

Tabela 19 – Limite de quantificação mensal da condutividade, de valor 14,12 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 20°C.

Ensaio	Data	Resultado ($\mu\text{S}/\text{cm}$) a 20 °C
1	20/01/2022	14,61
2	18/02/2022	14,54
3	15/03/2022	14,59
4	21/04/2022	14,45

Os valores do LQ cumpriram com os critérios de aceitação (Tabela 19).

10.2.4. Ensaio em Paralelo

A calibração diária do condutímetro encontrava-se conforme, pelo que se pode avançar na realização dos respetivos ensaios em paralelo. As leituras das amostras foram efetuadas a 20°C (Tabela 20).

Tabela 20 – Excerto da tabela com várias leituras de condutividade por operador, da amostra 1930121, cuja matriz é referente a uma Água de Consumo Humano.

Amostra	Operador	Leituras de Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) a 20°C		
		1	2	3
1930121 Água de Consumo Humano	AG	33,6	33,6	32,9
	AR	33,4	33,5	33,5
	JT	33,8	34,1	33,8
	TD	33,6	33,0	34,0
	LS	33,6	33,7	33,4

A média das leituras de condutividade dos operadores foi de $\bar{x} \approx 33,6 \mu\text{S}/\text{cm}$, pelo que o critério de aceitação das amostras foi calculado pela média da amostra $\pm 10\%$ e deu o intervalo de valores contido entre 30,24 e 36,96 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Verificou-se que todas as leituras obtidas pelos diferentes operadores se encontravam dentro deste intervalo (Tabela 20). Os técnicos/operadores cumpriram com os critérios de aceitação.

10.2.5. Ensaio de Linearidade

O C.F. na realização deste ensaio foi de 0,979 cm^{-1} , pelo que o aparelho e nomeadamente a sonda de leitura da condutividade, se encontravam conformes.

A obtenção de soluções padrão com uma determinada condutividade teórica, requer a preparação de soluções de KCl. Estas são preparadas através de diluições da solução-mãe (Tabela 21) [35].

Tabela 21 - Concentrações das soluções de KCl, para obtenção das soluções padrão da gama de trabalho, cada uma com a sua respetiva condutividade.

Concentração das soluções padrão de KCl (M KCl)	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
0	0
1×10^{-4}	14,12
5×10^{-4}	73,9
1×10^{-3}	146,9
5×10^{-3}	717,5
1×10^{-2}	1413
2×10^{-2}	2765

Após a preparação das soluções padrão, estas foram lidas em triplicado. No fim das leituras experimentais, estabeleceu-se uma comparação entre os valores teóricos e práticos (Figura 77).

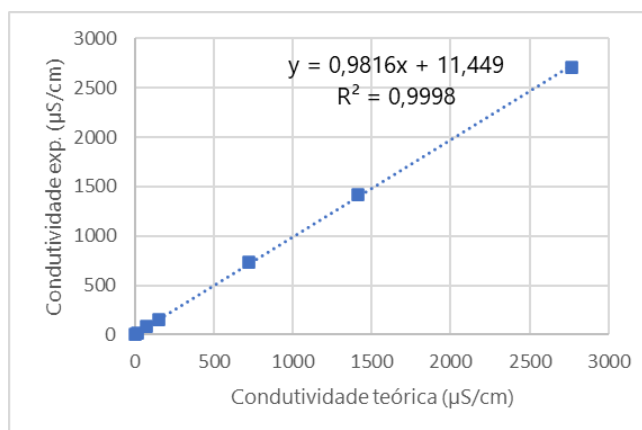


Figura 77– Gráfico da linearidade do condutímetro.

O valor de R^2 , encontrou-se próximo de 1, o que significou uma boa correlação e uma boa linearidade (Figura 77) [52].

Em $y=mx+b$.: $m = 0,9816$ está contido entre o valor inferior e superior do intervalo de confiança de 95%, de [0,9665 a 0,9968]; e $b = 11,449$ está contido entre o valor inferior e superior do intervalo de confiança de 95%, de [-6,7951; 29,6934] (Figura 77). A sonda de condutividade apresentou assim resultados num intervalo de confiança de 95%.

10.3. Turvação

10.3.1. Carta de Controlo

A carta de controlo da turvação seguiu a ISO 7027-1, de 2016 (Tabela 22) [42].

Tabela 22– Carta de controlo com os parâmetros do Turbidímetro, medidos a cada dia de trabalho.

Ensaio	Data	PC 20 UNT	PC 1 UNT
1	12/01/2022	20,1	1,02
2	08/02/2022	20,2	0,99
3	15/02/2022	20,3	0,99
4	22/02/2022	20,2	0,97
5	23/02/2022	20,5	0,96
6	08/03/2022	20,0	1,01
7	09/03/2022	20,2	0,97
8	30/03/2022	20,2	0,97
9	31/03/2022	20,1	0,98
10	06/04/2022	20,0	0,98
11	12/04/2022	20,1	0,99
12	19/04/2022	19,3	1,01
13	21/04/2022	19,8	1,06
14	22/04/2022	19,8	0,94
15	27/04/2022	20,1	0,97
16	29/04/2022	20,1	1,05

O critério de aceitação do valor do PC de 20 UNT está contido no intervalo de 19 a 21 UNT; valores que correspondem respetivamente ao LIC e LSC. Após 15 ensaios, trancam-se os valores da média, e dos 4 limites: LSC, LSA, LIA e LIC e apenas se acrescentam as medições efetuadas a cada dia de trabalho do PC de 20 UNT (Figura 78).

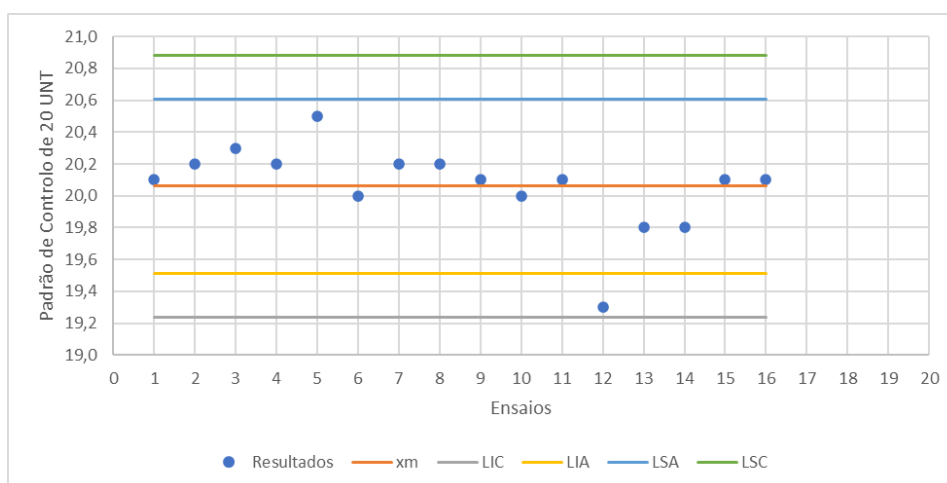


Figura 78 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 20 UNT. Legenda: x_m - valor médio; LSC: Limite Superior de Controlo; LSA: Limite Superior de Aviso; LIA: Limite Inferior de Aviso; LIC: Limite Inferior de Controlo.

O ponto correspondente ao ensaio 12 ultrapassou o LIA pelo que esse ponto foi considerado como incorreto em relação aos restantes que se encontravam dentro do intervalo LIA-LSA, contudo não foi rejeitado pois não ultrapassou o LIC. Os restantes pontos estiveram dentro do intervalo do critério de aceitação (Figura 78).

O critério de aceitação do valor do PC de 1 UNT está contido no intervalo de 0,90 a 1,07 UNT; valores que correspondem respectivamente ao LIC e LSC. Após 15 ensaios, trancam-se os valores da média, e dos 4 limites: LSC, LSA, LIA e LIC e apenas se acrescentam as medições efetuadas a cada dia de trabalho do PC de 1 UNT (Figura 79).

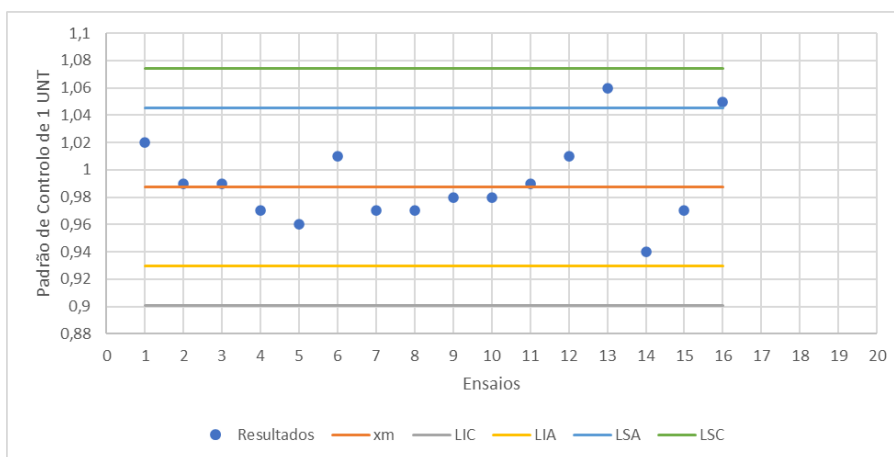


Figura 79 – Gráfico correspondente aos valores do PC de 1 UNT. Legenda: x_m - valor médio; LSC: Limite Superior de Controle; LSA: Limite Superior de Aviso; LIA: Limite Inferior de Aviso; LIC: Limite Inferior de Controle.

Os pontos correspondentes aos ensaios 13 e 16 ultrapassaram o LSA pelo que esses pontos foram considerados como incorretos em relação aos restantes que se encontravam dentro do intervalo LIA-LSA, contudo não foram rejeitados pois não ultrapassaram o LSC. Os restantes pontos estiveram de acordo o intervalo calculado (Figura 79).

Após análise de todos os parâmetros, verificou-se que os valores dos parâmetros do turbidímetro cumpriram com os respectivos critérios de aceitação.

10.3.2. Duplicados

Na turvação, os duplicados foram realizados da mesma forma como referido no ponto 10.1.2., mas neste caso para os padrões de 20 UNT e 1 UNT; sendo que os duplicados do PC de 20 UNT foram lidos antes do início da medição dos resultados das amostras, e o os duplicados do PC de 1 UNT, foram medidos antes e no final da medição dos valores das amostras.

O critério de aceitação de 10% do valor do PC de 20 UNT está contido no intervalo de 18 a 22 UNT (Tabela 23). O critério de aceitação de 10% do valor do PC de 1 UNT está contido no intervalo de 0,9 a 1,1 UNT (Tabela 24).

Tabela 23 – Duplicados do PC de 20 UNT.

Ensaio	Data	PC 20 UNT
1	12/01/2022	20,1
2	12/01/2022	20,0
3	08/02/2022	20,2
4	08/02/2022	20,1
5	15/02/2022	20,3
6	15/02/2022	20,1
7	22/02/2022	20,2
8	22/02/2022	20,1
9	23/02/2022	20,5
10	23/02/2022	20,6
11	08/03/2022	20,0
12	08/03/2022	20,1
13	09/03/2022	20,2
14	09/03/2022	20,1
15	30/03/2022	20,2
16	30/03/2022	20,1
17	31/03/2022	20,1
18	31/03/2022	20,1
19	06/04/2022	20,0
20	06/04/2022	20,2
21	12/04/2022	20,1
22	12/04/2022	20,1
23	19/04/2022	19,3
24	19/04/2022	19,4
25	21/04/2022	19,8
26	21/04/2022	19,6
27	22/04/2022	19,8
28	22/04/2022	19,9
29	27/04/2022	20,1
30	27/04/2022	20,2
31	29/04/2022	20,1
32	29/04/2022	20,0

Tabela 24 - Duplicados do PC de 1 UNT.

Ensaio	Data	PC 1 UNT
1	12/01/2022	1,02
2	12/01/2022	1,03
3	08/02/2022	0,99
4	08/02/2022	1,01
5	15/02/2022	0,99
6	15/02/2022	1,02
7	22/02/2022	0,97
8	22/02/2022	0,98
9	23/02/2022	0,96
10	23/02/2022	0,96
11	08/03/2022	1,01
12	08/03/2022	0,99
13	09/03/2022	0,97
14	09/03/2022	0,98
15	30/03/2022	0,97
16	30/03/2022	0,98
17	31/03/2022	0,98
18	31/03/2022	0,98
19	06/04/2022	0,98
20	06/04/2022	0,99
21	12/04/2022	0,99
22	12/04/2022	0,99
23	19/04/2022	1,01
24	19/04/2022	1,02
25	21/04/2022	1,06
26	21/04/2022	1,08
27	22/04/2022	0,94
28	22/04/2022	0,95
29	27/04/2022	0,97
30	27/04/2022	1,04
31	29/04/2022	1,05
32	29/04/2022	0,98

Os valores dos duplicados cumpriram com os critérios de aceitação (Tabelas 23 e 24).

10.3.3. Limite de Quantificação (LQ)

O valor do LQ mensal da turvação é de 1 UNT. Mensalmente este padrão é preparado a partir da solução padrão de 4000 UNT.

O critério de aceitação de 10% do valor do LQ mensal da turvação está contido no intervalo de 0,9 a 1,1 UNT (Tabela 25).

Tabela 25 – Limite de quantificação mensal da turvação, de valor 1 UNT.

Ensaio	Data	Resultado (UNT)
1	12/01/2022	1,02
2	22/02/2022	0,97
3	15/03/2022	1,01
4	27/04/2022	1,04

Os valores do LQ cumpriram com os critérios de aceitação (Tabela 25).

10.3.4. Ensaio em Paralelo

A calibração diária do turbidímetro encontrava-se conforme, pelo que se pode avançar na realização dos respetivos ensaios em paralelo (Tabela 26).

Tabela 26 – Excerto da tabela com várias leituras de turvação por operador, da amostra 1930121, cuja matriz é referente a uma Água de Consumo Humano.

Amostra	Operador	Leituras de Turvação (UNT)		
		1	2	3
1930121 Água de Consumo Humano	AG	3,72	3,79	3,83
	AR	3,84	3,80	3,75
	JT	3,76	3,82	3,85
	TD	3,85	3,78	3,79
	LS	3,76	3,86	3,78

A média das leituras de turvação dos operadores foi de $\bar{x} \approx 3,80$ UNT, pelo que o critério de aceitação das amostras foi calculado pela média da amostra $\pm 10\%$ e deu o intervalo de valores contido entre 3,42 e 4,18 UNT. Verificou-se que todas as leituras obtidas pelos diferentes operadores se encontravam dentro deste intervalo (Tabela 26). Os técnicos/operadores cumpriram com os critérios de aceitação.

10.3.5. Ensaio de Linearidade

A obtenção de soluções padrão de formazina, foi feita a partir de diluições da solução pré-preparada padrão de formazina de 4000 UNT (Tabela 27).

Tabela 27 – Volumes a pipetar da solução padrão de formazina de 4000 UNT para obtenção das soluções padrão da gama de trabalho.

Turvação (UNT)	Volume Solução Padrão de Formazina 4000 UNT (mL)
0	-
1	0,025
4	0,1
20	0,5
200	5
800	20
1000	25

Após a preparação das soluções padrão, estas foram lidas em triplicado. A solução de formazina, assim como os padrões derivados da mesma, são soluções altamente instáveis, pelo que tendem a coagular-se e depositar-se no fundo do recipiente. Por conseguinte, para que tal seja evitado, depois de efetuadas as diluições, as soluções devem ser utilizadas num período máximo de até 72 horas [55].

No fim das leituras experimentais, estabeleceu-se uma comparação entre os valores teóricos e práticos (Figura 80).

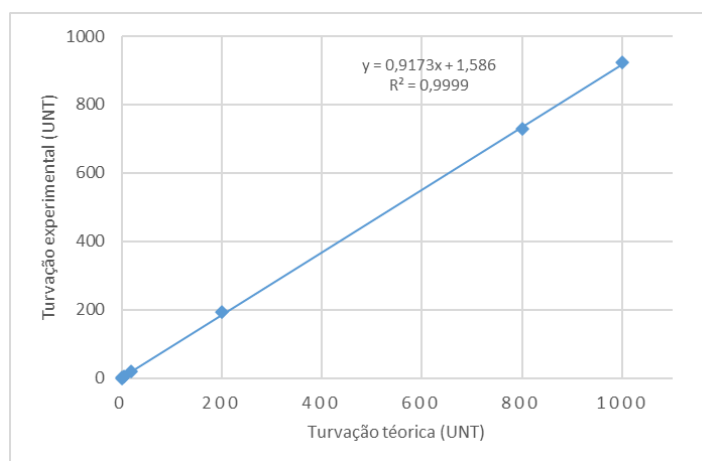


Figura 80 – Gráfico da linearidade do turbidímetro.

O valor de R^2 , encontrou-se próximo de 1, o que significou uma boa correlação e uma boa linearidade (Figura 80) [52].

Em $y=mx+b$: $m = 0,9173$ está contido entre o valor inferior e superior do intervalo de confiança de 95%, de [0,9061 a 0,9285]; e $b = 1,586$ está contido entre o valor inferior e superior do intervalo de confiança de 95%, de [-3,898; 7,070] (Figura 80). O turbidímetro apresentou assim resultados num intervalo de confiança de 95%.

10.4. Cloro Residual Livre

A carta de controlo, os duplicados, os ensaios em paralelo, e os resultados de cloro residual livre de cada amostra de água, estão associados à amostragem, uma vez que as suas leituras são feitas no local de recolha.

10.4.1. Ensaios de Linearidade

Os ensaios de linearidade requereram a preparação de soluções de trabalho de KMnO_4 . Estas soluções foram preparadas através de diluições da solução-mãe (Tabela 28) [45].

Tabela 28 - Volumes a pipetar de solução-mãe para obtenção das restantes soluções padrão da gama de trabalho.

[Soluções padrão] (mg/L Cl_2)	Volume solução-mãe (mL)
0	-
0,05	1
0,1	2
0,3	6
0,5	10
1	20
2	40
2,5	50
5	Corresponde à solução-mãe

Após a preparação das soluções padrão, estas foram lidas em triplicado no fotómetro (incluindo a solução-mãe). Nestas leituras, o branco/zero será a própria solução sem adição da saqueta contendo DPD. A leitura das soluções padrão foi feita, como se as mesmas fossem amostras, então adicionou-se o pó da saqueta, e de seguida realizou-se a medição tendo em conta o tempo de reação de 1 minuto [56]. A saqueta com DPD, reagiu com o KMnO_4 , que ao possuir com concentrações equivalentes ao Cl_2 , permitiu a avaliação do correto funcionamento dos diferentes fotómetros, no que toca à deteção de diferentes concentrações de cloro residual livre [44-45].

No fim das leituras experimentais, estabeleceu-se uma comparação entre os valores teóricos e práticos (Figura 81).

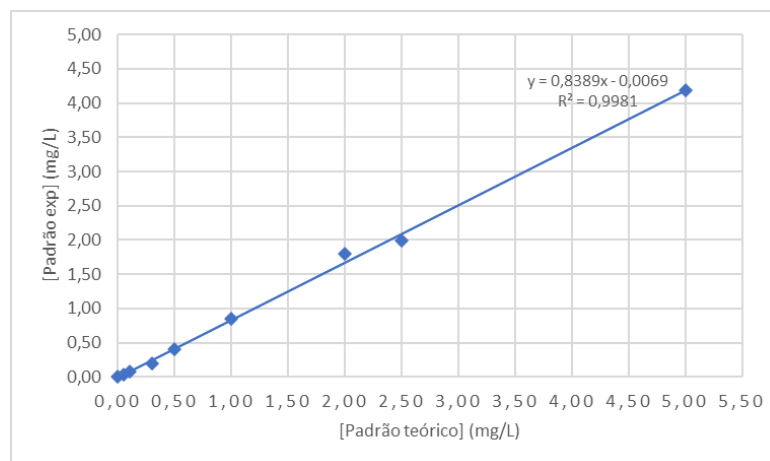


Figura 81 – Gráfico da linearidade de um fotómetro.

O valor de R^2 , encontrou-se próximo de 1, o que significou uma boa correlação e uma boa linearidade (Figura 81) [52].

Em $y=mx+b$.: $m = 0,8389$ está contido entre o valor inferior e superior do intervalo de confiança de 95%, de [0,8060 a 0,8719]; e $b = -0,0069$ está contido entre o valor inferior e superior de intervalo de confiança de 95%, de [0,0734; 0,0595] (Figura 81). O fotómetro apresentou assim resultados num intervalo de confiança de 95%.

10.4.2. Limite de Quantificação (LQ)

O padrão que permite a medição do valor de LQ mensal foi preparado de forma semelhante à sua preparação para os ensaios de linearidade. O valor do LQ mensal do cloro residual livre (Cl_2) é de 0,10 mg/L (Tabela 29).

Tabela 29 – LQ mensal, referente ao cloro residual livre, de valor 0,10 mg/L Cl_2 .

Ensaio	Data	Resultado (mg/L Cl_2)
1	21/01/2022	0,08
2	22/02/2022	0,08
3	16/03/2022	0,09
4	28/04/2022	0,09

O valor do LQ mensal referente ao cloro residual livre, apenas foi possível com o critério de aceitação de 20%; só com esse critério, é que os valores do LQ referentes ao cloro residual livre cumpriram os requisitos e estiveram contidos no intervalo de 0,08 a 0,12 mg/L Cl_2 (Tabela 29). Este alargamento do critério de aceitação, foi necessário devido à presença de humidade, no orifício de introdução das cuvets no fotómetro, que originou problemas nas leituras dos limites de quantificação mensais.

Capítulo 5 - Conclusão

Relativamente à área da microbiologia alimentar, a maior parte das contaminações foi causada pela presença de Microrganismos totais a 30°C e de *Enterobacteriaceae*. Os Microrganismos totais a 30°C permitiram refletir sobre as condições de higiene a que os géneros alimentícios podem ter sido sujeitos e sobre a possibilidade da presença de outros tipos de microrganismos no alimento [5]. A família de bactérias *Enterobacteriaceae* permitiu avaliar o cumprimento das boas práticas de higiene, pois a sua presença usualmente indica um tratamento térmico inadequado dos alimentos ou a ocorrência de contaminação após o processamento alimentar [5]. Quanto à *E. coli*, verificou-se que foram raros os géneros alimentícios contaminados por esta bactéria, no entanto, quando existentes funcionaram como um indicador do incumprimento das boas práticas de higiene [5]. Para a *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, ambas bactérias patogénicas [12-13], na maioria dos casos, os enchidos revelaram ser os principais portadores destas. No que diz respeito à espécie *Staphylococcus aureus* (coagulase-positiva), a maioria dos alimentos suspeitos de contaminação por esta bactéria, só se revelaram não satisfatórios, pois apesar desta ser patogénica, apenas revela ser um perigo para a saúde humana quando é testada para enterotoxinas e estas estão acima de uma determinada quantidade [16].

Na microbiologia de águas, a presença de Microrganismos a 22±2°C e a 36±2°C, permitiu-nos obter uma perspetiva geral sobre a qualidade das amostras de água e da eficiência dos processos de tratamento e monitorização destas [17]. As amostras de água contaminadas por *Escherichia coli* indicaram a presença de poluição fecal [18]. No que diz respeito a Bactérias coliformes, estas quando presentes, indicaram uma falha no sistema de tratamento e distribuição das águas [18]. As contaminações por *Enterococcus* e *Clostridium perfringens* revelaram a possibilidade de contaminação fecal nas águas em questão [19-20]. Para a *Pseudomonas aeruginosa*, as contaminações pela mesma em águas de piscina foram escassas, sendo que a maioria das contaminações esteve associada ao processo de implementação do método.

Para os parâmetros físico-químicos, as amostras de pH insatisfatório podem ter advindo da temperatura real a que estas se encontravam [32]. Na condutividade, as amostras encontraram-se praticamente todas satisfatórias, nomeadamente as amostras destinadas ao consumo humano. Por fim, para a turvação, as amostras de águas de consumo humano com valores elevados, podem ter ocorrido devido à presença de matéria suspensa nas mesmas [42]; e nas águas de piscina, a falta de tratamento das mesmas pode estar relacionada com os baixos valores apresentados. Em relação ao cloro residual livre, a maioria dos fotómetros apresentou um bom funcionamento,

porém, mensalmente verificaram-se leituras do limite de quantificação baixas devido à presença de humidade nos orifícios de medição.

O controlo de qualidade interno consistiu em procedimentos pré-elaborados para uma avaliação contínua do trabalho do laboratório. O objetivo foi assegurar a consistência de resultados e a sua conformidade relativamente aos critérios de aceitação. As verificações periódicas permitiram demonstrar que a variabilidade entre analistas, equipamentos e reagentes se encontrava sob controlo. Este controlo cobriu e deve continuar futuramente a cobrir, todos os ensaios incluídos no âmbito da acreditação do laboratório [3].

A nível de trabalho futuro, existe uma variada gama de matrizes a estudar relativamente aos parâmetros pH, condutividade e turvação, como por exemplo águas de processo e águas residuais. Como perspetivas futuras, há a possibilidade de implementação dos seguintes parâmetros físico-químicos: azoto amoniacal, ferro, carência química de oxigénio, cloretos, sulfatos e nitritos.

11. Bibliografia

- [1] <https://www.interprev.pt/empresa/> consultado em 26 de outubro de 2021.
- [2] Trindade, J. A. R. (2013). Métodos alternativos de deteção de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro.
- [3] Margarida Martins Carriço Proença, A. (2014). Implementação e validação de métodos de análises microbiológicas em águas de consumo humano. Dissertação de Mestrado, Universidade da Beira Interior, 1–103. https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/5943/1/3538_7195.pdf
- [4] <https://www.asae.gov.pt/laboratorio-de-seguranca-alimentar/estatuto-de-laboratorio-acreditado.aspx> consultado em 10 de agosto de 2022.
- [5] Margarida Saraiva, Cistina Belo Correia, Isabel Campos Cunha, Carla Maia, Conceição Costa Bonito, Rosália Furtado, M. A. C. (2019). *Interpretação de Resultados de Ensaios Microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar*. Valores-guia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge - Lisboa.
- [6] ISO 4833-1:2013. (2014). Microbiology of the food chain – enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. In *International Organization for Standardization* (Vol. 2013).
- [7] Don J. Brenner, J. J. F. (2015). Enterobacteriaceae. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00222>
- [8] ISO 16649-2:2001. (2009). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*- Part2: Colony-count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. In *International Organization for Standardization* (Vol. 2007, pp. 1–11).
- [9] Matthew Mueller, C. R. T. (2014). *Escherichia Coli*. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, 688–694. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00100-2>
- [10] Bula-Rudas, F. J., Rathore, M. H., & Maraqa, N. F. (2015). Salmonella Infections in Childhood. *Advances in Pediatrics*, 62(1), 29–58. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2015.04.005>
- [11] Agregán, R., Munekata, P. E. S., Zhang, W., Zhang, J., Pérez-Santaescolástica, C., & Lorenzo, J. M. (2021). High-pressure processing in inactivation of *Salmonella* spp.

- in food products. *Trends in Food Science and Technology*, 107(July 2020), 31–37.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.025>
- [12] Technical sheet, BD Difco Salmonella O Antisera 8085889(05).
- [13] Angelidis, A. S., Kalamaki, M. S., & Georgiadou, S. S. (2015). Identification of non-*Listeria* spp. bacterial isolates yielding a β -d-glucosidase-positive phenotype on Agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti (ALOA). *International Journal of Food Microbiology*, 193, 114–129.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.022>
- [14] Figueiredo, A. D. C. (2019). Avaliação da qualidade microbiológica e condições de manuseamento de alimentos servidos em Escolas Básicas de Lisboa, Portugal. Dissertação de Mestrado, *Universidade de Lisboa*.
- [15] Tracey A. Taylor, C. G. U. (2012). *Staphylococcus aureus*. 1–7.
- [16] Orwin, P. M., Fitzgerald, J. R., Leung, D. Y. M., Gutierrez, J. A., Bohach, G. A., & Schlievert, P. M. (2003). Characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin L. *Infection and Immunity*, 71(5), 2916–2919.
<https://doi.org/10.1128/IAI.71.5.2916-2919.2003>
- [17] ISO 6222:1999. (1999). *Water quality— Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium*. 1999.
- [18] ISO 9308-1:2014. (2014). *Water quality – Enumeration of Escherichia coli and coliform Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora*. 2014, 2014.
- [19] ISO 7899-2:2000. (2014). *Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method*. 61010-1 © Iec:2001, 2014, 13.
- [20] ISO 14189:2013. (2013). *Water quality – Enumeration of Clostridium perfringens – Method using membrane filtration*. 2013.
- [21] ISO 16266:2006. (2014). *Water quality – Detection and enumeration of Pseudomonas aeruginosa – Method by membrane filtration*. 61010-1 © Iec:2001, 2014, 13.
- [22] Alves Cunha, M. C. (2016). *Execução de ensaios microbiológicos e atividades conexas nas áreas alimentar, ambiental e técnica, em contexto empresarial*. 1–

140. Dissertação de Mestrado, Universidade do Porto.
- [23] AFNOR BRD 07/24-11/13. (n.d.). *AFNOR BRD 07/24 - 11/13 RAPID'Enterobacteriaceae method for the enumeration of Enterobacteriaceae in all human food, feed and environmental samples Expert. September 2019.*
- [24] Lange, B., Strathmann, M., & Oßmer, R. (2013). Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 57(6), 547–553. <https://doi.org/10.1111/lam.12147>
- [25] Johnson, R., Mills, J., & Colón-Reveles, J. (2009). VIDAS® *Salmonella* (SLM) assay method EasySLM with ChromID™ *Salmonella* (SM2) Agar. *Journal of AOAC International*, 92(6), 1861–1864. <https://doi.org/10.1093/jaoac/92.6.1861>
- [26] Technical sheet, © Liofilchem® - Chromatic™ *Salmonella* - Rev.5 / 08.11.2018
- [27] Technical sheet, Laborclin 172219 Rev. 02 – 06/2018
- [28] AFNOR BRD 07/09 – 02/05 Méthode RAPID' Staph pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.
- [29] Technical sheet, PASTOREX™ STAPH-PLUS Teste De Aglutinação Com Látex Para Identificação Do *Staphylococcus Aureus* Ref 56356 Ref 56353 – Bio-Rad França
- [30] Método Interno 01 – Pesquisa e Quantificação de Bactérias coliformes e *Escherichia coli*.
- [31] Technical sheet, KING B Meio Para Diferenciação de *Pseudomonas* Ref 55278 - Bio-Rad França.
- [32] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 4500-H+ A. Introduction. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.
- [33] Pereira, B. D. A. (2016). Medidor de pH com calibração de pH e compensação automática de temperatura. Dissertação de Mestrado, Universidade Nova de Lisboa.
- [34] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 4500-H+ B. Electrometric Method. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.

- [35] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 2510 A. Introduction. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.
- [36] Manual de Instruções do Medidor de pH-EC-OD edge® da Hanna Instruments.
- [37] Norma Portuguesa EN 27 888 – 1996. Qualidade da Água – Determinação da condutividade elétrica (ISO 7888:1985).
- [38] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 2510 B. Laboratory Method. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.
- [39] Anexo I do Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto, com alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro.
- [40] Circular Normativa da DGS n.º 14/DA de 21 de agosto de 2009.
- [41] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 2130 A. Introduction. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.
- [42] ISO 7027-1:2016. (2016). *Water quality – Determination of turbidity – Part 1: Quantitative methods. 2016, 2–7.*
- [43] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 2130 B. Nephelometric Method. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.
- [44] Laszakovits, J. R., Patterson, A., Hipsher, C., & MacKay, A. A. (2019). Diethyl phenylene diamine (DPD) oxidation to measure low concentration permanganate in environmental systems. *Water Research*, 151, 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.12.031>
- [45] R.B. Baird, A.D. Eaton, e E.W. Rice (2017). Standard methods for the Examination of Water and Wastewater - SM 4500-Cl G. Colorimetric Method. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23.^a edição.

- [46] OGCo01 – Guia para a aplicação da NP EN ISO/IEC 17025:2018 – IPAC.
- [47] Ramos Pires, A. (2004). Qualidade: Sistemas de gestão da qualidade – Secção 3 - Controlo Estatístico do Processo. Edições Sílabo, LDA. 3ª edição.
- [48] Guia Relacre 9 (Edição: julho 98). Alguns exemplos de cartas de controlo em laboratórios de análise química.
- [49] Guia Relacre 3 (Edição: janeiro 96). Validação de resultados em laboratórios químicos.
- [50] OGCo02. Guia para acreditação de laboratórios químicos. IPAC.
- [51] Guia Relacre 28 (Edição: janeiro 2017). Amostragem de águas.
- [52] Guia Relacre 13 (Edição: fevereiro 2000). Validação de métodos internos de ensaio em análise química.
- [53] AFNOR BIO 12/16-09/05. (2015). *VIDAS Easy Salmonella method for the detection of Salmonella in food, feed products, pet food and environmental samples (except primary production samples)*. 33.
- [54] AFNOR BIO 12/11-03/04. (2020). *VIDAS Listeria monocytogenes II for the detection of Listeria monocytogenes in human food products and in environmental samples*.
- [55] Manual de Instruções do Turbidímetro. Lovibond® Water Testing - Tintometer® Group – Turbidimeter.
- [56] Manual de Instruções – HI 97104 Fotómetro para pH, Alcalinidade, Cloro livre, Cloro total e Ácido Cianúrico – Hanna Instruments.
- [57] ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
- [58] Viegas, S. J. (2014). Segurança Alimentar - Guia de boas práticas do consumidor. In *Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge*.
- [59] pH Electrode Maintenance Guide – Hanna Instruments (877-MY-HANNA) – 8/2017 PRINTED IN USA.

Anexo 1- Anexo Técnico de Acreditação.

Âmbito de acreditação - Local: 6200-507 Covilhã			
Anexo técnico em vigor: 2021-12-20			
Produto	Ensaio	Método	Categoria
[Águas]			
Águas de consumo	Colheita de amostras (em torneira) para análise de parâmetros microbiológicos: Bactérias Coliformes, Escherichia coli, Enterococos, Clostridium perfringens, Número de colónias a (22±2) °C, Número de colónias a (36±2) °C, Pseudomonas aeruginosa	PT 01 V.02 ISO 19458:2006	1
Águas de consumo	Enumeração de microrganismos viáveis - número de colónias a (22±2) °C Incorporação	ISO 6222:1999	0
Águas de consumo	Pesquisa e Quantificação de Bactérias coliformes Método de filtração por membrana	MI 01 V.00	0
Águas de consumo	Pesquisa e Quantificação de Clostridium perfringens Filtração por membrana	ISO 14189:2013	0
Águas de consumo	Pesquisa e Quantificação de Escherichia coli Método de filtração por membrana	MI 01 V.00	0

Águas de consumo e de piscina	Enumeração de microrganismos viáveis - número de colónias a (36±2) °C Incorporação	ISO 6222:1999	0
Águas de consumo e de Piscina	Pesquisa e Contagem de Coliformes Totais Método de filtração por membrana	ISO 9308-1:2014/Amd1: 2016	0
Águas de consumo e de Piscina	Pesquisa e Contagem de Escherichia coli Método de filtração por membrana	ISO 9308-1:2014/Amd1: 2016	0
Águas de consumo e de piscina	Pesquisa e Quantificação de Enterococos Método de filtração por membrana	ISO 7899-2:2000	0
Águas de consumo e de piscina	Pesquisa e quantificação de Pseudomonas aeruginosa Membrana filtrante	ISO 16266:2006	0
[Alimentos e agro-alimentar]			
Géneros Alimentícios	Contagem de E.coli	ISO 16649-2:2001	0
Géneros Alimentícios	Contagem de Enterobacteriaceae	AFNOR BRD 07/24 - 11/13	0
Géneros Alimentícios	Contagem de microrganismos a 30°C	ISO 4833-1:2013	0
Géneros Alimentícios	Pesquisa de Listeria monocytogenes	VIDAS LMO2 - AFNOR BIO 12/11-03/04, confirmação de resultados positivos com ALOA	0
Géneros Alimentícios	Pesquisa de Salmonella spp	ISO 6579-1:2017	0
Géneros Alimentícios	Pesquisa de Salmonella spp.	VIDAS Easy SLM - AFNOR BIO 12/16 - 9/05, confirmação de resultados positivos pela ISO 6579-1:2017	0
Notas			
Local	Notas		
6200-507 Covilhã	PT xx v.x.x MI xx v.x.x são procedimentos internos do laboratório		
Categorias			
0 - ensaios realizados nas instalações permanentes do laboratório			
1 - ensaios realizados fora das instalações do laboratório ou em laboratórios móveis			
2 - ensaios realizados nas instalações permanentes do laboratório e fora destas			

Anexo 2: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B,4			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
01/10/2020	1917030	1	0	Caldeirada de Peixe	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
01/10/2020	1917026	90	9	Massa de Pizza	9,00E+02	4	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório
01/10/2020	1917027	8	0	Pastel de Nata	7,27E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
02/10/2020	1917039	INC	109	Arroz Doce	9,91E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
02/10/2020	1917044	INC	210	Sopa de Feijão Verde	1,91E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
02/10/2020	1915376	INC	176	Hamburger	1,60E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
02/10/2020	1917047	INC	144	Sopa de Legumes	1,31E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
07/10/2020	1914733	INC	190	Folhado de Peixe	1,73E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
07/10/2020	1917098	INC	171	Ovos Moles	1,55E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
07/10/2020	1917071	INC	121	Cabrito	1,10E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
07/10/2020	1917053	INC	137	Tofu	1,25E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
08/10/2020	1916485	20	0	Pão de Mistura	1,82E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
08/10/2020	1916321	INC	126	Massa de Vitela Legumes e Natas	1,15E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
08/10/2020	1917262	81	9	Mousse de chocolate	8,18E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
08/10/2020	1916565	7	0	Sopa Juliana	6,36E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
08/10/2020	1917310	INC	180	Serradura	1,64E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
08/10/2020	1917317	INC	176	Arroz de Cenoura	1,60E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
08/10/2020	1917320	2	0	Arroz de Pato	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
08/10/2020	1915373	INC	190	Bacalhau Cozido com Grão-de-Bico	1,73E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
08/10/2020	1917267	9	0	Arroz com Peito Frango e Molho de Cogumelos	8,18E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
08/10/2020	1912200	22	0	Carne de Peru com Massa	2,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
08/10/2020	1916491	249	31	Entrecosto com Migas	2,55E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável

08/10/2020	1917326	181	19	Tofu	1,82E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
08/10/2020	1917269	7	0	Tiras de sabor Framboesa	6,36E+01	2B	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
13/10/2020	1917584	29	2	Arroz Simples	2,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
14/10/2020	1911138	12	0	Arroz	1,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
14/10/2020	1917109	INC	19	Torta de Ovos	1,73E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
14/10/2020	1916972	INC	193	Batatas Fritas com Ovos	1,75E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
14/10/2020	1917611	INC	27	Tomatada	2,45E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
14/10/2020	1917612	INC	257	Risoto	2,34E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
15/10/2020	1917166	2	0	Sopa de Abóbora	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/10/2020	1917672	31	3	Sopa de Legumes	3,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/10/2020	1917649	INC	179	Febras de Porco	1,63E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
15/10/2020	1917650	INC	281	Novilho	2,55E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
15/10/2020	1917642	11	0	Esparguete Cozido com Frango Assado	1,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/10/2020	1917645	5	0	Filete Pescada Frito com Arroz Ervilha	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/10/2020	1917653	109	10	Esparregado	1,08E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
15/10/2020	1912277	INC	35	Sandes de Fiambre	3,18E+03	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
15/10/2020	1917659	78	7	Cornucópia	7,73E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
15/10/2020	1917656	INC	221	Cozido	2,01E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
16/10/2020	1917712	52	5	Papo-seco	5,18E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
16/10/2020	1917425	2	0	Sopa de Couve	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2020	1917210	INC	27	Sushi com Arroz	2,45E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
21/10/2020	1917211	INC	33	Arroz de Sushi	3,00E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
21/10/2020	1917335	INC	19	Tosta Mista	1,73E+03	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
21/10/2020	1917231	47	4	Merenda Mista	4,64E+02	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
22/10/2020	1914573	4	0	Feijoada com Arroz	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório

22/10/2020	1916285	5	0	Bolo Regional	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
22/10/2020	1913955	28	2	Arroz de Grelos com Rissóis	2,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
23/10/2020	1914487	2	0	Jesuíta	1,82E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
23/10/2020	1917303	8	0	Doce de Abóbora	7,27E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
28/10/2020	1917878	INC	27	Tofu	2,45E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
28/10/2020	1917879	INC	107	Tofu	9,73E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
28/10/2020	1912587	INC	90	Rolo de Salsicha	8,18E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
28/10/2020	1914212	6	0	Pizza	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2020	1916730	4	0	Papo-Seco	3,64E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
28/10/2020	1917817	INC	INC	Sopa de Legumes	> 3,00E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
28/10/2020	1917852	2	0	Sopa com Peru	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2020	1917861	84	8	Pão com Manteiga	8,36E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Não satisfatório
28/10/2020	1917846	56	5	Sopa de Ervilha com Ovo	5,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
29/10/2020	1917551	53	5	Lulas Estufadas com Batata e Salada de Alface	5,27E+02	2A	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
29/10/2020	1917554	86	8	Arroz de Pato	8,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
29/10/2020	1917567	1	0	Cozido à Portuguesa	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
29/10/2020	1917490	16	0	Creme de Brócolos	1,45E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
29/10/2020	1917440	47	4	Grãozada	4,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
29/10/2020	1917504	126	12	Vitela Estufada	1,25E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
30/10/2020	1917964	63	3	Leite Creme	6,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
30/10/2020	1912966	4	0	Doce da Casa	3,64E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

Anexo 3: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B,4			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
01/10/2021	1922775	16	0	Massa de Peixe	1,45E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
01/10/2021	1907342	1	0	Mousse de Chocolate	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
01/10/2021	1926708	2	0	Filete Frito	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
01/10/2021	1912550	INC	94	Arroz Com Ervilhas	8,55E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
01/10/2021	1926691	INC	270	Filetes de Peixe	2,45E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
01/10/2021	1926703	INC	194	Arroz com Ovo e Legumes	1,76E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
01/10/2021	1919349	10	0	Carne Picada	9,09E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
01/10/2021	1926695	INC	131	Esparguete	1,19E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
01/10/2021	1922993	4	0	Pastel de Nata	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
06/10/2021	1926913	91	9	Arroz de Legumes com Pataniscas	9,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
06/10/2021	1926904	63	6	Doce da Casa	6,27E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
08/10/2021	1927153	8	0	Broa de Milho	7,27E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
12/10/2021	1926916	73	7	Bocata de Atum	7,27E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
12/10/2021	1926604	66	6	Malha Vegetais e Queijo	6,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/10/2021	1926924	22	2	Croissant Folhado	2,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/10/2021	1926928	41	4	Malha de Vegetais	4,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1926601	32	3	Feijão Frade com Atum e Brócolos	3,18E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
13/10/2021	1926595	INC	221	Arroz de Peixe	2,01E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
13/10/2021	1926598	47	4	Fricassé de Frango com Esparguete	4,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1924442	18	1	Carne de Vaca Guisada com Puré de Batata	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1927185	27	2	Massa com Atum	2,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1926585	2	0	Batatas Assadas com Lombo	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1910863	13	0	Mousse de Manga	1,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1911802	2	0	Empadão de Carne	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1926885	19	1	Compota de Amora Silvestre	1,82E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

13/10/2021	1927179	INC	123	Tarte de Bolacha e Natas	1,12E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
13/10/2021	1926316	26	2	Merenda Mista	2,55E+02	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -<10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
13/10/2021	1926361	INC	27	Donut	2,45E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
13/10/2021	1926320	INC	41	Empada de Legumes	3,73E+03	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
13/10/2021	1926262	7	0	Donut com Chocolate	6,36E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
13/10/2021	1926203	63	6	Empada de Galinha	6,27E+02	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1926282	INC	37	Bola de Berlim	3,36E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
13/10/2021	1926278	2	0	Milanesa Mista	1,82E+01	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -<10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
13/10/2021	1926207	5	0	Pastel de Nata	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
13/10/2021	1926940	14	0	Pão com Chouriço	1,27E+02	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -<10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
13/10/2021	1926246	INC	32	Donut	2,91E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
13/10/2021	1926345	17	0	Donut	1,55E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
14/10/2021	1926935	5	0	Donut Açucarado	4,55E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
14/10/2021	1915801	19	0	Empada de Galinha	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
14/10/2021	1926290	32	3	Pastel de Atum	3,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
14/10/2021	1926959	11	0	Donut Açucarado	1,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
14/10/2021	1915805	25	2	Milanesa Mista	2,45E+02	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -<10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
14/10/2021	1927197	INC	222	Massa	2,02E+04	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
14/10/2021	1927201	57	5	Salmão com Batata e Feijão Verde	5,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
14/10/2021	1927203	4	0	Bacalhau Panado com Feijão Verde	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
14/10/2021	1922139	INC	73	Sopa de Legumes	6,64E+03	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
15/10/2021	1922457	229	21	Massa com Costeleta	2,27E+03	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
19/10/2021	1920755	INC	209	Canja	1,90E+04	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/10/2021	1926899	43	4	Bolo Seco	4,27E+02	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1923890	1	0	Sopa de Repolho	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1926747	INC	41	Bacalhau à Brás	3,73E+03	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
21/10/2021	1926721	5	0	Bacalhau com Natas	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório

21/10/2021	1927214	3	0	Creme de Abóbora	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1921024	INC	198	Arroz de Cenoura com Filetes de Pescada Fritos	1,80E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/10/2021	1926752	6	0	Massa com Almôndegas	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1927013	2	0	Abrótea Cozida	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1927244	INC	213	Sopa de Peixe	1,94E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/10/2021	1907497	INC	27	Peru Assado com Massa	2,45E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
21/10/2021	1927248	5	0	Massa com Frango	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1926294	27	2	Malha de Queijo e Vegetais	2,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1927006	1	0	Empada	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1927251	63	6	Pastel de Nata	6,27E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1926341	3	0	Empada	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/10/2021	1926298	19	0	Pastel de Nata	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/10/2021	1927296	34	3	Frango com Molho de Teriyaki	3,36E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/10/2021	1927094	2	0	Esparguete à Bolonhesa	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/10/2021	1927093	6	0	Creme de Legumes	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/10/2021	1927125	INC	29	Sandes de Queijo	2,64E+03	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
26/10/2021	1925758	INC	36	Dot. Glace	3,27E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
26/10/2021	1927129	INC	31	Sandes de Queijo de Cereais	2,82E+03	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
26/10/2021	1927141	INC	46	Sandes de Queijo e Presunto	4,18E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
27/10/2021	1926254	INC	131	Donuts	1,19E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
27/10/2021	1926233	3	0	Rissol de Carne	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
27/10/2021	1926241	7	0	Merenda Mista	6,36E+01	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
27/10/2021	1925774	INC	40	Dot. Glace	3,64E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
27/10/2021	1926196	16	0	Hamburger de Frango	1,45E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
27/10/2021	1926833	INC	143	Empada	1,30E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
27/10/2021	1925754	4	0	Milanesa Mista	3,64E+01	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
27/10/2021	1927133	INC	126	Folhado de Queijo	1,15E+04	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório

27/10/2021	1927137	INC	134	Croissant de Queijo	1,22E+04	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
27/10/2021	1926829	5	0	Pastel de Nata	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
27/10/2021	1927319	11	0	Sandes de Manteiga	1,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
27/10/2021	1927322	57	5	Arroz Branco	5,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
27/10/2021	1925596	28	2	Esquecido	2,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
27/10/2021	1927326	2	0	Filete de Sardinha Estufado com Massa Espiral	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
27/10/2021	1927310	13	0	Pastel de Nata	1,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
27/10/2021	1921605	94	2	Arroz com Lombrinhos de Porco e Vinho do Porto	8,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927161	63	5	Rissol de Camarão	6,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927361	15	0	Almôndega, Carne de Vaca com Esparguete	1,36E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927358	1	0	Pastel de Nata	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1926817	2	0	Empada	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1926821	19	0	Napolitana de Chocolate	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1914285	2	0	Pizza de Chouriço	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1924574	52	4	Frango Assado	5,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1926138	16	0	Bife de Porco de Cebolada com Batata Cozida	1,45E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1926896	11	0	Pão Papo-Seco	1,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
28/10/2021	1927349	3	0	Arroz de Bacalhau	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927350	27	1	Frango	2,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927351	19	0	Esparguete	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927339	245	22	Salada de Legumes	2,43E+03	2C	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório
28/10/2021	1928906	10	0	Mousse de Manga	9,09E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1922916	107	10	Sopa de Legumes	1,06E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
28/10/2021	1927371	7	0	Creme de Legumes	6,36E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927368	18	0	Sopa de Abóbora	1,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927367	9	0	Sopa de Agrião	8,18E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927369	25	1	Sopa de Courgette	2,36E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
28/10/2021	1927372	18	4	Miolo de Amêndoa	2,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

Anexo 4: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B,4			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
03/11/2020	1918161	INC	INC	Tofu Escaldado	> 3,00E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
03/11/2020	1918162	INC	INC	Tofu Escaldado	> 3,00E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
03/11/2020	1918163	INC	INC	Tofu	> 3,00E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
03/11/2020	1918164	INC	103	Tofu Escaldado	9,36E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
04/11/2020	1918341	INC	18	Salmão Fresco com Sushi	1,64E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
04/11/2020	1913351	INC	41	Pudim Flan	3,73E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
05/11/2020	1915357	31	3	Farófias	3,09E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
05/11/2020	1918223	1	0	Abrótea no Forno com Arroz Feijão, Brócolos e Couve-Flor	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2020	1917690	6	0	Entrecosto Estufado com Batatas	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2020	1916241	INC	162	Carne à Portuguesa	1,47E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
11/11/2020	1918536	68	6	Bacalhau à Gomes de Sá	6,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2020	1917683	INC	21	Salada de Feijão Frade com Ovo	1,91E+03	2C	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório
11/11/2020	1917164	INC	112	Vitela Estufada	1,02E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
11/11/2020	1913437	INC	26	Peru com Batata	2,36E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
11/11/2020	1916712	9	0	Bolo	8,18E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2020	1916572	INC	31	Arroz-Doce	2,82E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
11/11/2020	1917687	71	7	Bolo de Avelã, Chocolate e Banana	7,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/11/2020	1918550	2	0	Arroz Doce	1,82E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
12/11/2020	1918577	83	8	<i>Merluccius Merluccin</i>	8,27E+02	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
12/11/2020	1917465	1	0	Salmão com Legumes e Batata	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório

12/11/2020	1917458	42	4	Salmão com Legumes e Batatas	4,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/11/2020	1917468	3	0	Massa com Frango	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/11/2020	1918562	12	0	Gelado de Morango	1,09E+02	2A	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
12/11/2020	1914720	INC	120	Arroz Branco	1,09E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
12/11/2020	1901818	27	2	Nata	2,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/11/2020	1912480	29	2	Arroz com Feijão Preto e Peru	2,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/11/2020	1918568	INC	21	Pro Chouriço	1,91E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
17/11/2020	1918475	INC	32	Pastel de Nata	2,91E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
17/11/2020	1918391	2	0	Merenda Mista	1,82E+01	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
17/11/2020	1918471	INC	23	Donut	2,09E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
17/11/2020	1918443	3	0	Empada de Galinha	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2020	1914641	6	0	Sopa de Alho Francês	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2020	1910845	9	0	Pão da Avó	8,18E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2020	1918620	1	0	Molotof	9,09E+00	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2020	1917987	3	0	Bolo Rei Escangalhado	2,73E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2020	1917994	17	1	Esparguete com Atum	1,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2020	1918610	104	10	Carapau Frito com Arroz de Tomate	1,04E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2020	1905121	2	0	Cebola Frita com Batata-Doce	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2020	1911709	19	1	Leite Creme	1,82E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2020	1917477	25	2	Solha Frita com Arroz de Tomate	2,45E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2020	1918423	29	2	Donut	2,82E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2020	1918631	3	0	Trança	2,73E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2020	1918515	INC	27	Torta de Chocolate	2,45E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
19/11/2020	1918487	11	0	Donut	1,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
19/11/2020	1918367	22	2	Croissant Folhado de Cereais	2,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
19/11/2020	1918419	14	0	Palmier Coberto	1,27E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
19/11/2020	1915899	4	0	Madalena	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
19/11/2020	1918636	6	0	Leitão Assado	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
19/11/2020	1918637	1	0	Leitão Assado	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
19/11/2020	1918640	3	0	Leitão Assado	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório

20/11/2020	1918652	INC	109	Salada Russa	9,91E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
20/11/2020	1918656	INC	117	Papas de Carolo	1,06E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
24/11/2020	1918415	5	0	Empada de Galinha Congelada	4,55E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
24/11/2020	1918693	INC	107	Frango com Massa e Vegetais	9,73E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
24/11/2020	1918690	INC	170	Jardineira	1,55E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
24/11/2020	1918683	INC	160	Arroz com Robalo	1,45E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
25/11/2020	1915874	6	0	Pastel de Nata	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2020	1918718	INC	107	Hamburger Grelhado	9,73E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
25/11/2020	1918711	INC	210	Pudim Flan	1,91E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
25/11/2020	1917422	INC	190	Salada de Pota	1,73E+04	2C	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório
25/11/2020	1914499	20	2	Leite Creme	2,00E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
25/11/2020	1918705	INC	150	Pão de Ló de Ovar	1,36E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
25/11/2020	1918700	25	3	Sopa de Legumes	2,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2020	1918715	INC	137	Frango com Esparguete	1,25E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
25/11/2020	1915310	1	0	Leite Creme	9,09E+00	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
25/11/2020	1912342	18	2	Esparguete à Bolonhesa	1,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2020	1918714	1	0	Massa com Bife de Vitela	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/11/2020	1918732	2	0	Guisado de Peixe com Batata	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/11/2020	1918729	4	0	Fatia de Pizza Pepperoni	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/11/2020	1918738	19	0	Pudim	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/11/2020	1918748	14	0	Rojões com Batata Frita	1,27E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
26/11/2020	1918652	INC	107	Salada Russa	9,73E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Não satisfatório

Anexo 5: Tabela – Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B,4			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
03/11/2021	1927150	3	0	Empada de Legumes	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
04/11/2021	1925624	14	0	Doce da Casa	1,27E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
04/11/2021	1926969	22	1	Pescada Cozida com Batata e Cenoura	2,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
04/11/2021	1927647	103	9	Sopa de Legumes	1,02E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
04/11/2021	1926972	12	0	Pizza	1,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
04/11/2021	1927701	19	0	Bola Pão (Farinha de Trigo T65)	1,73E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
04/11/2021	1903685	8	0	Bolo de Chocolate	7,27E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
05/11/2021	1925730	2	0	Sopa de Grão e Espinafres	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
10/11/2021	1927576	18	0	Massa com Feijão e Filetes Panados	1,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
10/11/2021	1927415	28	2	Vitela Estufada com Arroz Branco e Legumes	2,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
10/11/2021	1927529	INC	27	Puré com Lombinhos de Porco e Cogumelos	2,45E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
10/11/2021	1928133	96	9	Pão do Sabugueiro	9,55E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
10/11/2021	1919304	INC	63	Pão da Avó	5,73E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
10/11/2021	1928019	99	8	Peixe Cozido com Batata	9,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
10/11/2021	1922478	104	10	Frango Assado	1,04E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
10/11/2021	1925699	7	0	Queque de Requeijão	6,36E+01	1C	<10 ⁵	10 ⁵ -≤10 ⁶	>10 ⁶	Satisfatório
11/11/2021	1927424	2	0	Sopa de Feijão Verde	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1927552	17	0	Sopa de Legumes	1,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1927553	11	0	Rojões com Batatas Assadas e Arroz Branco	1,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1927554	34	2	Empadão de Carne	3,27E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1922685	141	13	Bolo de Centeio	1,40E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável

11/11/2021	1928161	INC	53	Grão Guisado	4,82E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
11/11/2021	1927400	11	0	Leitão Assado	1,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1921880	3	0	Leitão Assado	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1928162	6	0	Leitão Assado	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1928163	9	0	Leitão Assado	8,18E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
11/11/2021	1928164	4	0	Leitão Assado	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
12/11/2021	1928229	INC	63	Feijão Frade com Ovo Cozido	5,73E+03	2C	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório
12/11/2021	1921687	INC	79	Vitela com Arroz	7,18E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
12/11/2021	1918832	11	0	Borrachão	1,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/11/2021	1927117	20	0	Pão	1,82E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
16/11/2021	1928293	INC	32	Sobremesa Creme Brulée	2,91E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
16/11/2021	1928285	INC	57	Niguiiri de Salmão	5,18E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
16/11/2021	1928290	2	0	Arroz do Mar	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/11/2021	1928262	89	8	Tofu	8,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/11/2021	1928263	43	4	Tofu Embalado	4,27E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1928317	4	0	Creme de Abóbora e Gengibre	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1928320	2	0	Creme de Cenoura	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1928321	11	0	Sopa de Abóbora	1,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1923898	32	3	Batata com Peixe Cozido	3,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1927927	49	4	Entrecosto no Forno com Batatas	4,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1926757	26	2	Arroz	2,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1928307	1	0	Caldo Verde	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/11/2021	1928312	45	4	Panacota	4,45E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

18/11/2021	1927913	26	2	Bitoque	2,55E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1927903	7	0	Carapau com Arroz de Tomate	6,36E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1929455	INC	22	Baba de Camelo	2,00E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1927483	7	0	Frango Panado Frito	6,36E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1927964	12	0	Nata Brasileira	1,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1922008	27	2	Bacalhau à Gomes de Sá	2,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1928339	6	0	Nugets de Frango Fritos	5,45E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1927747	INC	72	Carnes do Cozido	6,55E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1928361	INC	44	Massa com Costeleta	4,00E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1928014	INC	27	Frango no Forno com Arroz Branco e Brócolos	2,45E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1927596	3	0	Arroz de Pescada	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1927460	147	14	Sopa de Legumes	1,46E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1928356	5	0	Panacota	4,55E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2021	1928333	19	0	Cabrito	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1926768	8	0	Biscoitos	7,27E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1927813	188	18	Jardineira de Vitela	1,87E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1927788	2	0	Arroz com Fiambre e Ovos Mexidos	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1928341	INC	69	Presa de Porco	6,27E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
18/11/2021	1927934	5	0	Arroz de Tomate com Carapaus Fritos	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
18/11/2021	1927616	INC	29	Pão	2,64E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
19/11/2021	1928374	26	2	Papo-seco	2,55E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
19/11/2021	1928380	7	0	Baba de Camelo	6,36E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
23/11/2021	1928401	22	1	Bolo de Gemas	2,09E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
23/11/2021	1928402	15	1	Bolo de Gemas	1,45E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
23/11/2021	1928403	15	1	Bolo de Gemas	1,45E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

23/11/2021	1928395	14	1	Pastel de Nata	1,36E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
23/11/2021	1928439	INC	130	Doce da Casa	1,18E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
24/11/2021	1927491	60	5	Palmier com Creme de Pasteleiro (Congelado)	5,91E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
24/11/2021	1927510	47	4	Vitela Recheada com Queijo, Fiambre e Alheira	4,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
24/11/2021	1927440	19	1	Leitão Assado com Batata Frita	1,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
24/11/2021	1927478	INC	99	Mousse de Manga	9,00E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
24/11/2021	1926000	INC	87	Arroz de Sushi	7,91E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
24/11/2021	1927882	INC	92	Peixe Grelhado com Nabo, Batata e Cebola	8,36E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
25/11/2021	1928211	3	0	Quiche de Espinafres	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928214	4	0	Nata	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928151	4	0	Tripa Enfarinhada	3,64E+01	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
25/11/2021	1928156	8	0	Tripa Enfarinhada	7,27E+01	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
25/11/2021	1928241	INC	77	Hamburger de Frango	7,00E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
25/11/2021	1928244	INC	114	Hamburger de Frango	1,04E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
25/11/2021	1922908	14	1	Arroz de Tomate	1,36E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928490	INC	179	Papas de Carolo	1,63E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
25/11/2021	1927678	4	0	Sobremesa	3,64E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
26/11/2021	1926764	INC	157	Carne Assada com Arroz Branco	1,43E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
30/11/2021	1928524	2	0	Pepino	1,82E+01	2C	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório

Anexo 6: Tabela – Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B,4			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
17/12/2020	1918944	INC	131	Leitão	1,19E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
17/12/2020	1918947	12	0	Bolinhos de Bacalhau com Batata Cozida	1,09E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/12/2020	1918950	15	1	Arroz Branco com Bolinhos de Bacalhau	1,45E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/12/2020	1918953	17	2	Massa à Lavrador	1,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/12/2020	1918956	INC	240	Quiche de Espinafres	2,18E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
17/12/2020	1918960	24	2	Nata	2,36E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/12/2020	1919182	5	0	Nata	4,55E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/12/2020	1919190	32	1	Sopa Creme de Abóbora	3,00E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
17/12/2020	1919066	INC	109	Hamburger com Bacon	9,91E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
17/12/2020	1919056	INC	99	Hamburger	9,00E+03	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
17/12/2020	1919171	INC	137	Hamburger de Frango	1,25E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
17/12/2020	1919174	18	0	Hamburger com Queijo	1,64E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

Anexo 7: Tabela – Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente aos microrganismos totais a 30°C, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B,4			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
10/12/2021	1928869	INC	124	Sopa de Couve	1,13E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
10/12/2021	1928871	1	0	Sopa de Creme de Legumes	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
10/12/2021	1928797	INC	133	Arroz com Filetes	1,21E+04	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
10/12/2021	1928884	INC	98	Carne Picada	8,91E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
14/12/2021	1928922	INC	152	Hamburger	1,38E+04	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Questionável
14/12/2021	1928554	9	0	Hamburger com Panado de Frango	8,18E+01	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
14/12/2021	1926845	INC	121	Sushi de Salmão	1,10E+04	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
15/12/2021	1928874	89	8	Frango Assado com Arroz Branco	8,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/12/2021	1928875	16	0	Cogumelos Estufados	1,45E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/12/2021	1928791	4	0	Bolo Seco Esquecido	3,64E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/12/2021	1920974	26	2	Bolinha	2,55E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
15/12/2021	1928937	2	0	Puré com Frango	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/12/2021	1928961	19	1	Massa com Carne e Salsichas	1,82E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório

15/12/2021	1928646	INC	41	Sushi	3,73E+03	2D	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁷	>10 ⁷	Satisfatório
15/12/2021	1928590	68	6	Arroz de Pato	6,73E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/12/2021	1928589	18	0	Batata Cozida com Ovo, Bacalhau e Grão	1,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
15/12/2021	1928949	32	3	Sopa de Legumes	3,18E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/12/2021	1928968	1	0	Creme de Feijão com Espinafres	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/12/2021	1928969	3	0	Sopa de Legumes com Batata	2,73E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/12/2021	1928970	2	0	Sopa de Ervilhas com Leite de Coco	1,82E+01	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/12/2021	1927156	47	4	Strogonoff de Peru	4,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/12/2021	1928548	49	4	Kebab de Frango	4,82E+02	1B	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
16/12/2021	1928587	INC	47	Migas de Bacalhau	4,27E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
16/12/2021	1928586	87	8	Bochechas de Porco	8,64E+02	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
16/12/2021	1928585	291	28	Migas de Tomate	2,90E+03	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Questionável
16/12/2021	1928584	INC	39	Salada de Polvo	3,55E+03	2C	<10 ⁶	10 ⁶ -≤10 ⁸	>10 ⁸	Satisfatório
22/12/2021	1928253	1	0	Hamburger Vitela	9,09E+00	1A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório

Anexo 8: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias *Enterobacteriaceae*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
02/10/2020	1919115	INC	109	Almôndegas com Esparguete	9,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
07/10/2020	1917053	10	1	Tofu	1,00E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
08/10/2020	1916485	1	0	Pão de Mistura	9,09E+00	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
08/10/2020	1917262	2	0	Mousse de chocolate	1,82E+01	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
08/10/2020	1916565	1	0	Sopa Juliana	9,09E+00	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
08/10/2020	1917310	INC	107	Serradura	9,73E+03	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
08/10/2020	1915373	13	0	Bacalhau Cozido com Grão-de-Bico	1,18E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
08/10/2020	1912200	9	0	Carne de Peru com Massa	8,18E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
08/10/2020	1917326	112	9	Tofu	1,10E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
08/10/2020	1917317	INC	109	Arroz de Cenoura	9,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
14/10/2020	1917109	34	1	Torta de Ovos	3,18E+02	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
14/10/2020	1916972	INC	109	Batatas Fritas com Ovos	9,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
14/10/2020	1917612	INC	190	Risoto	1,73E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
15/10/2020	1917649	INC	109	Febras de Porco	9,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
15/10/2020	1917650	INC	207	Novilho	1,88E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
15/10/2020	1917653	32	5	Esparregado	3,36E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
15/10/2020	1917659	1	0	Cornucópia	9,09E+00	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
15/10/2020	1917656	INC	125	Cozido	1,14E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
23/10/2020	1917303	13	0	Doce de Abóbora	1,18E+02	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
28/10/2020	1917878	1	0	Tofu	9,09E+00	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
28/10/2020	1917879	72	6	Tofu	7,09E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
28/10/2020	1912587	64	5	Rolo de Salsicha	6,27E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
28/10/2020	1917817	INC	INC	Sopa de Legumes	>1,50E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
28/10/2020	1917861	6	0	Pão com Manteiga	5,45E+01	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
28/10/2020	1917870	2	0	Feijoada de Marisco	1,82E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
28/10/2020	1917846	3	0	Sopa de Ervilha com Ovo	2,73E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
29/10/2020	1917551	11	0	Lulas Estufadas com Batata e Salada de Alface	1,00E+02	2A	<10 ³	10 ³ -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
29/10/2020	1917504	4	0	Vitela Estufada	3,64E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório

Anexo 9: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias *Enterobacteriaceae*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de outubro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
01/10/2021	1922775	13	0	Massa de Peixe	1,18E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
01/10/2021	1926687	INC	107	Feijoada	9,73E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
01/10/2021	1926695	INC	94	Esparguete	8,55E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
01/10/2021	1922993	4	0	Pastel de Nata	3,64E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
13/10/2021	1926595	INC	109	Arroz de Peixe	9,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
13/10/2021	1910863	4	0	Mousse de Manga	3,64E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
13/10/2021	1927179	INC	91	Tarte de Bolacha e Natas	8,27E+03	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
14/10/2021	1927197	INC	108	Massa	9,82E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
14/10/2021	1926903	29	1	Massa com Soja à Bolonhesa	2,73E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
14/10/2021	1927201	9	0	Salmão com Batata e Feijão Verde	8,18E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
14/10/2021	1927203	1	0	Bacalhau Panado com Feijão Verde	9,09E+00	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
14/10/2021	1922139	6	0	Sopa de Legumes	5,45E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
15/10/2021	1922457	INC	107	Massa com Costeleta	9,73E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
19/10/2021	1920755	INC	107	Canja	9,73E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
21/10/2021	1926747	33	1	Bacalhau à Brás	3,09E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
21/10/2021	1921024	INC	88	Arroz de Cenoura com Filetes de Pescada Fritos	8,00E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
21/10/2021	1927251	INC	94	Pastel de Nata	8,55E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
27/10/2021	1927302	5	0	Lombo Panado de Porco Preto	4,55E+01	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
27/10/2021	1921605	25	1	Arroz com Lombrinhos de Porco e Vinho do Porto	2,36E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
27/10/2021	1927315	INC	INC	Salsicha (Carne Frango e Peru, Peixe e Legumes)	>1,50E+04	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
28/10/2021	1927339	28	0	Salada de Legumes	2,55E+02	2C	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
28/10/2021	1928906	5	0	Mousse de Manga	4,55E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
28/10/2021	1922916	29	0	Sopa de Legumes	2,64E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável

Anexo 10: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias *Enterobacteriaceae*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
03/11/2020	1918161	INC	107	Tofu Escaldado	9,73E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
03/11/2020	1918162	INC	180	Tofu Escaldado	1,64E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
03/11/2020	1918163	INC	210	Tofu	1,91E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
03/11/2020	1918164	4	0	Tofu Escaldado	3,64E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
04/11/2020	1918341	90	9	Salmão Fresco com Sushi	9,00E+02	2D	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
04/11/2020	1913351	INC	27	Pudim Flan	2,45E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
11/11/2020	1916241	INC	104	Carne à Portuguesa	9,45E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
11/11/2020	1917683	10	0	Salada de Feijão Frade com Ovo	9,09E+01	2C	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
11/11/2020	1917164	INC	78	Vitela Estufada	7,09E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
12/11/2020	1914720	INC	58	Arroz Branco	5,27E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
12/11/2020	1918036	86	8	Carne de Porco	8,55E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
12/11/2020	1901818	8	0	Nata	7,27E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
12/11/2020	1912480	14	0	Arroz com Feijão Preto e Peru	1,27E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
18/11/2020	1918610	27	1	Carapau Frito com Arroz de Tomate	2,55E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
18/11/2020	1917477	2	0	Solha Frita com Arroz de Tomate	1,82E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
20/11/2020	1918652	2	0	Salada Russa	1,82E+01	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
24/11/2020	1918690	88	9	Jardineira	8,82E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
24/11/2020	1918693	INC	107	Frango Massa e Vegetais	9,73E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
25/11/2020	1918711	16	0	Pudim Flan	1,45E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
25/11/2020	1917422	INC	105	Salada de Pota	9,55E+03	2C	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
25/11/2020	1918700	2	0	Sopa de Legumes	1,82E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
26/11/2020	1918726	1	0	Cozido à Portuguesa	9,09E+00	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
26/11/2020	1918738	3	0	Pudim	2,73E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório

Anexo 11: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias *Enterobacteriaceae*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de novembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
04/11/2021	1926969	5	0	Pescada Cozida com Batata e Cenoura	4,55E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
10/11/2021	1927415	2	0	Vitela Estufada com Arroz Branco e Legumes	1,82E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
10/11/2021	1919304	INC	41	Pão da Avó	3,73E+03	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
10/11/2021	1928019	65	6	Peixe Cozido com Batata	6,45E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
10/11/2021	1922478	1	0	Frango Assado	9,09E+00	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
11/11/2021	1927552	2	0	Sopa de Legumes	1,82E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
11/11/2021	1927554	21	2	Empadão Carne	2,09E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
11/11/2021	1928161	INC	36	Grão Guisado	3,27E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
12/11/2021	1928229	INC	37	Feijão Frade com Ovo Cozido	3,36E+03	2C	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
12/11/2021	1921687	INC	43	Vitela com Arroz	3,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
16/11/2021	1928285	INC	28	Nigui de Salmão	2,55E+03	2D	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
16/11/2021	1928262	33	3	Tofu	3,27E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
16/11/2021	1928263	6	0	Tofu Embalado	5,45E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório

17/11/2021	1923898	12	1	Batata com Peixe Cozido	1,18E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
17/11/2021	1927927	29	2	Entrecosto no Forno com Batatas	2,82E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
18/11/2021	1929455	10	0	Baba de Camelo	9,09E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
18/11/2021	1927747	INC	58	Carnes do Cozido	5,27E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
18/11/2021	1928361	INC	21	Massa com Costeleta	1,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
18/11/2021	1923665	INC	42	Peito de Frango Cru	3,82E+03	2D	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
18/11/2021	1928014	9	0	Frango no Forno com Arroz Branco e Brócolos	8,18E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
18/11/2021	1927460	83	7	Sopa de Legumes	8,18E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
18/11/2021	1928333	6	0	Cabrito	5,45E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
18/11/2021	1927813	116	11	Jardineira de Vitela	1,15E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
18/11/2021	1928341	INC	46	Presa de Porco	4,18E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
18/11/2021	1927617	2	0	Fiambre	1,82E+01	1C	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
23/11/2021	1928439	INC	28	Doce da Casa	2,55E+03	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
24/11/2021	1928457	INC	44	Carne de Peru Fresca Picada	4,00E+03	2D	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
24/11/2021	1927491	28	2	Palmier com Creme de Pasteleiro (Congelado)	2,73E+02	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
24/11/2021	1927478	176	17	Mousse de Manga	1,75E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
25/11/2021	1928490	INC	56	Papas de Carolo	5,09E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
26/11/2021	1926764	INC	31	Carne Assada com Arroz Branco	2,82E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório

Anexo 12: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias *Enterobacteriaceae*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
10/12/2020	1919106	INC	107	Feijoada	9,73E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
10/12/2020	1919107	INC	201	Arroz de Ervilhas	1,83E+04	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
17/12/2020	1919056	10	9	Hamburger	1,73E+02	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
17/12/2020	1919066	38	4	Hamburger com Bacon	3,82E+02	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável

Anexo 13: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à família de bactérias *Enterobacteriaceae*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o mês de dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo e Subgrupos	Valores-guia INSA - Grupos e subgrupos 1A,1B,1C,1D,2A,2B,2C,2D,3A,3B			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
10/12/2021	1928797	7	0	Arroz com Filetes	6,36E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
10/12/2021	1928884	8	0	Carne Picada	7,27E+01	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
14/12/2021	1928922	INC	37	Hamburger	3,36E+03	1B	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
14/12/2021	1926845	17	1	Sushi de Salmão	1,64E+02	2D	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
15/12/2021	1928961	1	0	Massa com Carne e Salsichas	9,09E+00	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Satisfatório
15/12/2021	1928646	18	0	Sushi	1,64E+02	2D	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório
15/12/2021	1928590	15	0	Arroz de Pato	1,36E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
16/12/2021	1927156	11	0	<i>Stroganoff</i> de Peru	1,00E+02	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Questionável
16/12/2021	1928587	INC	32	Migas de Bacalhau	2,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
16/12/2021	1928585	INC	21	Migas de Tomate	1,91E+03	1A	<10 ²	10 ² -≤10 ³	>10 ³	Não satisfatório
16/12/2021	1928584	INC	27	Salada de Polvo	2,45E+03	2C	<10 ⁴	10 ⁴ -≤10 ⁵	>10 ⁵	Satisfatório

Anexo 14: Análise do estado de géneros alimentícios, relativamente à bactéria *Escherichia coli*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o período trimestral de outubro a dezembro, dos anos 2020 e 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Matriz	Resultado (ufc/g)	Grupo	Valores-guia INSA - Grupos 1,2,3			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²				Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	
08/10/2020	1917310	2	0	Serradura	1,82E+01	1	<10 (Não detetado)	Não aplicável	≥10	Não Satisfatório
15/10/2020	1917649	1	0	Febras de Porco	9,09E+00	1	<10 (Não detetado)	Não aplicável	≥10	Satisfatório
12/11/2021	1921687	122	12	Vitela com Arroz	1,22E+03	1	<10 (Não detetado)	Não aplicável	≥10	Não Satisfatório
18/11/2021	1923665	3	0	Peito de Frango Cru	2,73E+01	2	<10 (Não detetado)	10 - ≤ 10 ²	>10 ²	Questionável
26/11/2021	1926764	INC	22	Carne Assada com Arroz Branco	2,00E+03	1	<10 (Não detetado)	Não aplicável	≥10	Não Satisfatório
10/12/2021	1928797	5	0	Arroz com Filetes	4,55E+01	1	<10 (Não detetado)	Não aplicável	≥10	Não Satisfatório

Anexo 15: Análise do estado de géneros alimentícios, no que toca à presença de *Staphylococcus coagulase-positiva*, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o período trimestral de outubro a dezembro do ano 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Resultado		Resultado quantitativo (ufc/g)	Matriz	Valores-guia INSA - microrganismos patogénicos			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²	Confirmação				Satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório/potencialmente perigoso	
02/10/2020	1909115	INC	109	Leitoso	<100	Sopa de Legumes	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
02/10/2020	1917053	INC	86	Leitoso	<100	Tofu	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
08/10/2020	1917310	12	0	Leitoso	<100	Serradura	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
08/10/2020	1917326	INC	0	Leitoso	<100	Tofu	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
08/10/2020	1917317	INC	109	Aglutinação	9,91E+03	Arroz de Cenoura	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
15/10/2020	1917649	19	0	Aglutinação	1,73E+02	Febras de Porco	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
15/10/2020	1917650	15	0	Aglutinação	1,36E+02	Novilho	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
15/10/2020	1912277	31	3	Leitoso	<100	Sandes de Fiambre	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
21/10/2020	1917210	INC	22	Aglutinação	2,00E+03	Sushi com Arroz	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
03/11/2020	1918161	INC	36	Aglutinação	3,27E+03	Tofu Escaldado	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
03/11/2020	1918162	INC	29	Aglutinação	2,64E+03	Tofu Escaldado	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
03/11/2020	1918163	INC	27	Aglutinação	2,45E+03	Tofu	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
03/11/2020	1918164	INC	17	Aglutinação	1,55E+03	Tofu Escaldado	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
04/11/2020	1918341	INC	28	Aglutinação	2,55E+03	Salmão Fresco com Sushi	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
04/11/2020	1913351	37	3	Leitoso	<100	Pudim Flan	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
11/11/2020	1916241	48	4	Aglutinação	4,73E+02	Carne à Portuguesa	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
12/11/2020	1917458	1	0	Leitoso	<100	Salmão com Legumes e Batatas	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
12/11/2020	1914720	INC	32	Aglutinação	2,91E+03	Arroz Branco	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório	
18/11/2020	1918515	INC	37	Leitoso	<100	Torta de Chocolate	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório	
15/12/2020	1919131	INC	137	Aglutinação	1,25E+04	Queijo Curado	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório/potencialmente perigoso	
15/12/2020	1919156	INC	149	Aglutinação	1,35E+04	Merendeira	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório/potencialmente perigoso	
15/12/2020	1919157	INC	170	Aglutinação	1,55E+04	Merendeira	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório/potencialmente perigoso	
15/12/2020	1919158	INC	161	Aglutinação	1,46E+04	Merendeira	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório/potencialmente perigoso	
15/12/2020	1919159	INC	121	Aglutinação	1,10E+04	Merendeira	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório/potencialmente perigoso	

Anexo 16: Análise do estado de géneros alimentícios, no que toca à presença de *Staphylococcus* coagulase-positiva, por comparação dos resultados obtidos em ufc/g, com os valores-guia do INSA, para o período trimestral de outubro a dezembro do ano 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias		Resultado		Matriz	Valores-guia INSA - microrganismos patogénicos			Parecer/Conclusão
		10 ⁻¹	10 ⁻²	Confirmação	Resultado quantitativo (ufc/g)		Satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório/potencialmente perigoso	
01/10/2021	1926695	INC	107	Aglutinação	9,73E+03	Esparguete	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/10/2021	1907497	INC	107	Aglutinação	9,73E+03	Peru Assado com Massa	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
28/10/2021	1927339	29	0	Aglutinação	2,64E+02	Salada de Legumes	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
10/11/2021	1919304	INC	27	Aglutinação	2,45E+03	Pão da Avó	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
12/11/2021	1928229	24	2	Aglutinação	2,36E+02	Feijão Frade com Ovo Cozido	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
12/11/2021	1921687	18	1	Aglutinação	1,73E+02	Vitela com Arroz	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
18/11/2021	1927616	INC	27	Aglutinação	2,45E+03	Pão	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
23/11/2021	1928404	1	0	Aglutinação	9,09E+00	Gemas	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
24/11/2021	1927440	1	0	Leitoso	<100	Leitão Assado com Batata Frita	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928156	1	0	Aglutinação	9,09E+00	Tripa Enfarinhada	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1918008	1	0	Leitoso	<100	Sopa de Espinafres	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928241	1	0	Aglutinação	9,09E+00	Hamburger de Frango	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928244	5	0	Leitoso	<100	Hamburger de Frango	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1928490	INC	110	Leitoso	<100	Papas de Carolo	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
25/11/2021	1927678	1	0	Aglutinação	9,09E+00	Sobremesa	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Satisfatório
21/12/2021	1928783	INC	51	Aglutinação	4,64E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/12/2021	1928784	INC	41	Aglutinação	3,73E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/12/2021	1928785	INC	46	Aglutinação	4,18E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/12/2021	1928786	INC	37	Aglutinação	3,36E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
21/12/2021	1928787	INC	41	Aglutinação	3,73E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
29/12/2021	1928765	INC	32	Aglutinação	2,91E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
29/12/2021	1928766	INC	35	Aglutinação	3,18E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
29/12/2021	1928767	INC	29	Aglutinação	2,64E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
29/12/2021	1928768	INC	34	Aglutinação	3,09E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório
29/12/2021	1928769	INC	38	Aglutinação	3,45E+03	Queijo de Ovelha e Cabra	<10	10 ² -≤10 ⁴	>10 ⁴	Não satisfatório

Anexo 17: Ensaio iniciais e de confirmação, em águas de rede, para as amostras com valor limite superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Matriz	Ensaio Inicial		Confirmação		Confirmação - Oxidase (Colónias Rosas/Vermelhas)	
			Colónias Rosas/Vermelhas	Colónias Azuis/Violetas	S	N	P	N
13/10/2020	1917627	C	INC	0	S		10	
29/10/2020	1917969	C	4	0	S			4
03/11/2020	1918342	C	16	0	S		10	
04/11/2020	1918337	C	17	0	S			10
11/11/2020	1918576	C	66	0	S			10
17/11/2020	1918517	C	78	0	S		10	
17/11/2020	1918058	C	3	0	S			3
17/11/2020	1912807	C	18	0	S		10	
25/11/2020	1918706	C	INC	4	S		10	
15/12/2020	1919932	C	INC	3	S		10	

Legenda: C – Consumo; INC – Incontável; S – Sim; N – Não; P – Positivas; N – Negativas.

Anexo 18: Ensaios iniciais e de confirmação, em águas de rede, para as amostras com valor limite/recomendado superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Matriz	Ensaio Inicial		Confirmação		Confirmação - Oxidase (Colónias Rosas/Vermelhas)	
			Colónias Rosas/Vermelhas	Colónias Azuis/Violetas	S	N	P	N
13/10/2021	1926951	C	2	0	S		2	
13/10/2021	1926606	C	6	0	S			6
14/10/2021	1926329	C	1	0	S		1	
19/10/2021	1927229	C	1	0	S		Não cresceu	
19/10/2021	1927230	C	INC	0	S			10
19/10/2021	1927223	C	INC	0	S		10	
19/10/2021	1927043	C	INC	0	S		10	
19/10/2021	1927233	C	3	0	S			3
21/10/2021	1926342	C	18	0	S		10	
21/10/2021	1926299	C	INC	0	S		10	
22/10/2021	1927265	C	0	INC		N	---	---
22/10/2021	1927266	C	4	36	S		4	
25/10/2021	1927269	PIS	56	0	S			10
27/10/2021	1925783	C	2	0	S			2
27/10/2021	1925779	C	INC	0	S		10	
28/10/2021	1926312	C	0	INC		N	---	---
28/10/2021	1927355	C	4	0	S			4
09/11/2021	1927918	PIS	3	1	S			3
12/11/2021	1928218	C	0	INC		N	---	---
16/11/2021	1928257	C	1	0	S		1	
16/11/2021	1928258	C	INC	8	S			10
16/11/2021	1918789	C	4	0	S		4	
16/11/2021	1928287	C	7	INC	S			7
16/11/2021	1928271	C	3	0	S		3	
17/11/2021	1928294	C	3	6	S			3
18/11/2021	1928346	C	1	0	S		1	
18/11/2021	1928329	C	1	1	S			1
19/11/2021	1928367	C	3	0	S		3	
23/11/2021	1927950	C	1	0	S			1
03/12/2021	1928531	C	3	INC	S		3	
03/12/2021	1928530	C	38	0	S			10
15/12/2021	1928954	C	INC	INC	S		10	
16/12/2021	1928607	C	4	0	S		4	
16/12/2021	1928609	C	INC	0	S		10	
16/12/2021	1928988	C	1	0	S		Não cresceu	
20/12/2021	1929006	C	0	INC		N	---	---
29/12/2021	1928770	C	INC	36	S			10

Legenda: C – Consumo; PIS – Piscina; INC – Incontável; S – Sim; N – Não; P – Positivas; N – Negativas.

Anexo 19: Ensaios iniciais e de confirmação, em águas de captação própria, para as amostras com valor limite superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Colónias		Re-incubação (1)		Oxidase		Dev-Fluorocult		Re-incubação (2)		Dev-Fluorocult		Indol		Citrato	
		A	L	S	N	P	N	Ferm. Lactose	Fluor.	S	N	Fluor.	P	N	P	N	
07/10/2020	1917221	2	0		N		2	2P	2N	S		2N		2N	---	---	
08/10/2020	1917327	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
13/10/2020	1917630	INC	0		N	5		---	---	---	---	---	---	---	---	---	
13/10/2020	1917719	6	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
13/10/2020	1917720	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
28/10/2020	1917877	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
28/10/2020	1917895	3	0		N		3	3P	3N	S		3N		3N	---	---	
03/11/2020	1918281	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
03/11/2020	1918165	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
09/11/2020	1918364	1	0		N		1	1P	1N	S		1N		1N	---	---	
09/11/2020	1918529	5	0		N		5	5P	5N	S		5N		5N	---	---	
11/11/2020	1918580	9	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
16/11/2020	1918144	1	0		N		1	1P	1P		N	---	---	---	---	---	
17/11/2020	1918059	18	0		N	5		---	---	---	---	---	---	---	---	---	
19/11/2020	1918658	41	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
24/11/2020	1918696	4	0		N		4	4P	4N	S		4N		4N	---	---	
27/11/2020	1918763	10	0		N		5	5P	5N	S		5N		5N	---	---	
27/11/2020	1918764	INC	0		N		5	5P	5N	S		5N		5N	---	---	
27/11/2020	1918762	INC	0		N		5	5P	5N	S		5N		5N	---	---	
04/12/2020	1918924	INC	0		N	5		---	---	---	---	---	---	---	---	---	
10/12/2020	1919163	26	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
10/12/2020	1919166	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
16/12/2020	1918196	24	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
16/12/2020	1919192	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
16/12/2020	1919191	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	
16/12/2020	1919179	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---	

Legenda: A – Amarelas; L - Laranja; INC – Incontável; S – Sim; N – Não; P – Positivas; N – Negativas; Ferm. – Fermentação; Fluor. – Fluorescência.

Anexo 20: Ensaio iniciais e de confirmação, em águas de captação própria, para as amostras com valor limite superior a 0, para as Bactérias coliformes e *Escherichia coli*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Colônias		Re-incubação (1)		Oxidase		Dev-Fluorocult		Re-incubação (2)		Dev-Fluorocult	Indol		Citrato	
		A	L	S	N	P	N	Ferm. Lactose	Fluor.	S	N	Fluor.	P	N	P	N
26/10/2021	1927335	INC	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
28/10/2021	1926840	12	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
29/10/2021	1927525	27	0		N		5	5P	5N	S		5N		5N	---	---
29/10/2021	1927526	8	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
17/11/2021	1918203	37	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
17/11/2021	1928295	INC	0		N	5		---	---	---	---	---	---	---	---	---
23/11/2021	1928385	12	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
23/11/2021	1928964	6	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
30/11/2021	1928518	3	0		N		3	3P	3P		N	---	---	---	---	---
30/11/2021	1928889	6	0		N	5		---	---	---	---	---	---	---	---	---
03/12/2021	1928536	41	0		N		5	5P	5P		N	---	---	---	---	---
07/12/2021	1928967	3	0		N		3	3P	3N	S		3N		3N	---	---
20/12/2021	1929036	102	0		N	1	4	1P	1P		N	---	---	---	---	---
								3P	3N	S		3N		3N	---	---

Legenda: A – Amarelas; L - Laranja; INC – Incontável; S – Sim; N – Não; P – Positivas; N – Negativas; Ferm. – Fermentação; Fluor. – Fluorescência.

Anexo 21: Ensaio inicial e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *Enterococcus*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Matriz	Ensaio Inicial		Confirmação	
			Nº de colónias a (36±2)°C após (44±4)h	Confirmação S/N	Colónias 44±0,5°C por 2 h	Resultado
13/10/2020	1917630	C	1	S	+	1
13/10/2020	1917719	C	1	S	+	1
13/10/2020	1917720	C	22	S	+	22
03/11/2020	1918281	C	10	S	+	10
09/11/2020	1918364	C	3	S	+	3
09/11/2020	1918529	C	2	S	+	2
23/11/2020	1918674	C	1	S	-	Negativo
27/11/2020	1918763	C	INC	S	+	INC
27/11/2020	1918764	C	1	S	+	1
27/11/2020	1918765	C	3	S	+	3
27/11/2020	1918762	C	INC	S	+	INC
10/12/2020	1919163	C	3	S	+	3
10/12/2020	1919166	C	4	S	+	4
14/12/2020	1919160	PIS	INC	S	+	INC
16/12/2020	1919179	C	26	S	+	26

Legenda: C – Consumo; PIS – Piscina; INC – Incontável; S – Sim; N – Não.

Anexo 22: Ensaio iniciais e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *Enterococcus*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Matriz	Ensaio Inicial		Confirmação	
			Nº de colónias a (36±2)°C após (44±4)h	Confirmação S/N	Colónias 44±0,5°C por 2 h	Resultado
22/10/2021	1927266	C	30	S	-	Negativo
25/10/2021	1927269	PIS	1	S	+	1
26/10/2021	1927335	C	5	S	+	5
29/10/2021	1927526	C	3	S	-	Negativo
17/11/2021	1918203	C	4	S	+	4
17/11/2021	1928295	C	1	S	+	1
23/11/2021	1928385	C	10	S	+	10
23/11/2021	1928964	C	3	S	+	3
03/12/2021	1928536	C	8	S	-	Negativo
07/12/2021	1928967	C	2	S	+	1
15/12/2021	1928941	C	4	S	+	1
16/12/2021	1929030	C	3	S	+	3
29/12/2021	1928770	C	8	S	+	8

Legenda: C – Consumo; PIS – Piscina; INC – Incontável; S – Sim; N – Não.

Anexo 23: Ensaios iniciais e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias a (44±1)°C após (21±3)h em anaerobiose	Confirmação			
			Columbia Agar (Anaerobiose)		Fosfatase Ácida	
			P	N	P	N
13/10/2020	1917720	1		1	---	---
28/10/2020	1917835	7	7		7	
28/10/2020	1917877	INC		10	---	---
28/10/2020	1917895	1	1			1
03/11/2020	1918281	INC	10		10	
03/11/2020	1918165	INC	10		10	
11/11/2020	1918580	1	1		1	
24/11/2020	1918696	7		7	---	---
27/11/2020	1918763	INC		10	---	---
27/11/2020	1918764	9		9	---	---
27/11/2020	1918765	2		2	---	---
27/11/2020	1918762	20		10	---	---
04/12/2020	1918920	6		6	---	---
04/12/2020	1918924	INC		10	---	---
10/12/2020	1919163	16		10	---	---

Legenda: INC – Incontável; P – Positivas; N – Negativas.

Anexo 24: Ensaios iniciais e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *C. perfringens*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Nº de colónias a (44±1)°C após (21±3)h em anaerobiose	Confirmação			
			Columbia Agar (Anaerobiose)		Fosfatase Ácida	
			P	N	P	N
22/10/2021	1927266	8	8		8	
26/10/2021	1927335	INC	10		10	
27/10/2021	1901388	INC		10	---	---
28/10/2021	1927364	1	1		1	
29/10/2021	1927526	16	10		10	
17/11/2021	1918203	INC	10		10	
17/11/2021	1928295	INC	10		10	
23/11/2021	1928385	10	10		10	
23/11/2021	1928964	8	8		8	
30/11/2021	1928662	2		2	---	---
30/11/2021	1928518	4		4	---	---
03/12/2021	1928536	6	6		6	

Legenda: INC – Incontável; P – Positivas; N – Negativas.

Anexo 25: Ensaios iniciais e de confirmação, para as amostras que apresentaram colónias contáveis, para *P. aeruginosa*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2020.

Data	Nº de amostra	Matriz	Ensaio Inicial					Confirmação						
			Colónias a (36±2)°C (22±2)h ou (44±4)h			Fluor.		Oxidase		King's B 5 dias (36±2)°C		Acetamida (22±2)h a (36±2)°C		
			Azuis/Verdes	Não Verdes/Não Azuis	Verm. Acast.	S	N	P	N	Fluor.	Não Fluor.	Prod. Amónia	Não Prod. Amónia	
07/10/2020	1917221	C	0	12	0		N	---	---	---	---	---	---	
13/10/2020	1917630	C	53	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
13/10/2020	1917720	C	38	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
28/10/2020	1917877	C	43	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
03/11/2020	1918281	C	0	69	0	S		---	---	---	---	5x		
03/11/2020	1918165	C	74	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
17/11/2020	1918059	C	6	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
19/11/2020	1918658	C	0	24	0	S		---	---	---	---	5x		
27/11/2020	1918764	C	0	15	0	S		---	---	---	---	5x		
27/11/2020	1918762	C	0	32	0	S		---	---	---	---	5x		
04/12/2020	1918924	C	69	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
10/12/2020	1919166	C	0	99	0	S		---	---	---	---	5x		
16/12/2020	1919192	C	0	73	0	S		---	---	---	---	5x		
16/12/2020	1919191	C	24	0	0	S		---	---	---	---	---	---	
16/12/2020	1919179	C	49	0	0	S		---	---	---	---	---	---	

Legenda: INC – Incontável; S – Sim; N – Não; P – Positivas; N – Negativas; Fluor. – Fluorescência; Prod. – Produção.

Anexo 26: Ensaios iniciais e de confirmação, para as amostras com valor limite superior a 0, para *P. aeruginosa*, referente ao período trimestral de outubro a dezembro de 2021.

Data	Nº de amostra	Matriz	Ensaio Inicial					Confirmação					
			Colónias a (36±2)°C			Fluor.		Oxidase		King's B		Acetamida	
			Azuis/Verdes	Não Verdes/Não Azuis	Verm. Acast.	S	N	P	N	Fluor.	Não Fluor.	Prod. Amónia	Não Prod. Amónia
25/10/2021	1927271	PIS	6	0	0	S		---	---	---	---	---	---
25/10/2021	1927269	PIS	INC	0	0	S		---	---	---	---	---	---
09/11/2021	1927918	PIS	10	0	0	S		---	---	---	---	---	---

Legenda: INC – Incontável; S – Sim; N – Não; P – Positivas; N – Negativas; Fluor. – Fluorescência; Prod. – Produção.