

**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Ana Rita Sousa Ramoa e Silva

## **Implementação e Validação de Catiões por Cromatografia Iónica**

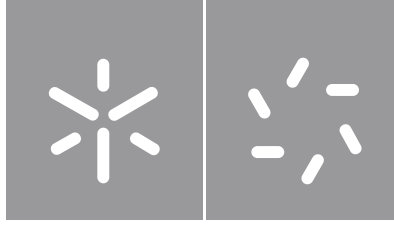
**Implementação e Validação de Catiões  
por Cromatografia Iónica**

Ana Rita Sousa Ramoa e Silva

UMinho | 2022

outubro de 2022





**Universidade do Minho**

Escola de Ciências

Ana Rita Sousa Ramoa e Silva

**Implementação e Validação de Catiões  
por Cromatografia Iónica**

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho efetuado sob a orientação da

**Doutora Manuela Raquel Guimarães Peixoto**

**Professora Doutora Maria Manuela da Silva Pires**

## **DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS**

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



**Atribuição  
CC BY**

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

## Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Doutora Maria Manuela da Silva pela disponibilidade prestada em apoiar este trabalho, pelo conhecimento e experiência partilhada, pelos esclarecimentos, opiniões e sugestões, que sempre demonstrou ao longo destes meses.

Agradeço à empresa Águas do Norte, S.A. e ao Engenheiro Marco Silva por proporcionarem a oportunidade de criar um estágio no qual foi possível colocar em prática competências e conhecimentos alcançados durante o percurso académico, bem como adquirir ferramentas necessárias para o meu futuro profissional. Um especial obrigada à orientadora destacada pela empresa, Doutora Raquel Peixoto, o qual despendeu do seu tempo para que todo o trabalho laboratorial fosse concluído com sucesso, e me ofereceu bons conselhos e incentivo. Agradeço ainda à gestora de qualidade do laboratório, Patrícia Fernandes, pela indicação de alguma bibliografia relevante para a temática em estudo e por me ter incentivado e ajudado em tudo o que era preciso e à técnica de laboratório Carolina Loureiro por me ter proporcionado o contacto com diversas técnicas analíticas com as quais não estava familiarizada, contribuindo deste modo, de forma significativa para a minha aprendizagem. Aos restantes colaboradores da empresa e do laboratório agradeço também por me terem acolhido durante estes meses de estágio e pelos bons momentos que me proporcionaram.

Por fim, a toda a minha família, em especial aos meus pais e irmão, pelo constante apoio ao longo destes últimos anos, pela compreensão, paciência e estímulo nos momentos de desmotivação, deixo um enorme obrigada.

## **DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE**

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

## Implementação e Validação de Catiões por Cromatografia Iónica

### Resumo

O presente trabalho foi desenvolvido no âmbito da unidade curricular Projeto Individual do Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química do Departamento de Química da Universidade do Minho e foi realizado na empresa Águas do Norte, S.A, localizada em Areias de Vilar no conselho de Barcelos. Este trabalho teve como principal objetivo a implementação, a validação e o controlo de qualidade do método analítico de determinação de cationes em águas de consumo humano e águas naturais superficiais doce, com recurso à cromatografia de troca iónica.

Foram realizados estudos de validação do método analítico de determinação dos cationes sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, recorrendo à avaliação de diversos parâmetros de desempenho, nomeadamente, a gama de trabalho, a linearidade, a sensibilidade, a seletividade, os limiares analíticos, a precisão e a justeza. A estimativa da incerteza de medição foi determinada com recurso à norma ISO 11352:2012, e, seguidamente, foi monitorizado o controlo de qualidade interno através da elaboração de cartas de controlo. Os resultados obtidos nos parâmetros avaliados foram comparados com os critérios de aceitação estabelecidos pelo próprio laboratório e com os valores definidos no Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de agosto de 1998 e no Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro de 2017, dado que, o Laboratório Águas do Norte está incluído na lista de laboratórios aptos, emitida pela Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos.

O método analítico em estudo demonstrou uma boa linearidade e limiares analíticos adequados ao uso, para os cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ . A sensibilidade foi confirmada pelos reduzidos valores de desvio padrão e coeficiente de variação de doze retas de calibração. O método apresentou taxas de recuperação dentro dos valores estipulados, concluindo que o método é seletivo para as gamas de concentração definidas. A precisão avaliada em condições de repetibilidade e de precisão intermédia foi satisfatória, face aos coeficientes de variação e erro relativo adequados. Na avaliação da justeza com recurso a ensaios de recuperação, materiais de referência certificados (MRC) e ensaios interlaboratoriais, obtiveram-se valores de taxas de recuperação e *Z-score* satisfatórios. A incerteza de medição estimada revelou-se adequada para uso. Por fim, o controlo de qualidade interno permitiu assegurar a fiabilidade dos resultados obtidos e dessa forma comprovar que todo o processo se encontra sob controlo.

**Palavras-chave:** Controlo de qualidade; Cromatografia iónica; Parâmetros de desempenho; Quantificação de cationes; Validação.

## Implementation and Validation of Cations by Ion Chromatography

### Abstract

The present work was developed with the scope of the course unit individual Project of the Master's Degree in Techniques of Characterization and Chemical Analysis of the Chemistry Department of the University of Minho and was carried out in the company Águas do Norte, located in Areias de Vilar, in the council of Barcelos. This dissertation aimed the implementation, validation, and quality control of the analytical method for the determination of cations in water for human consumption and fresh surface natural water, using ion exchange chromatography.

The validation study of the analytical method for the determination of sodium, ammonium, potassium, magnesium and calcium cations was carried using the evaluation of several performance parameters, namely, the working range, the linearity, sensitivity, selectivity, analytical thresholds, precision and accuracy. The estimated measurement uncertainty was determined using the ISO 11352:2012 and subsequently internal quality control was monitored through the preparation of control charts. The results obtained in the evaluated parameters were compared with the acceptance criteria established by the laboratory itself and with the values defined in Decree-Law No. 236/98 of 1 August 1998 and Decree-Law No. 152/2017 of 7 December 2017, since the Águas do Norte is included in the list of suitable laboratories issued by the Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos.

The analytical method under study showed good linearity and analytical thresholds suitable for use for the cations  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Ca}^{2+}$ . The sensitivity was confirmed by the reduced values of standard deviation and coefficient of variation of twelve calibration lines. The method showed recovery rates within the stipulated values, concluding that the method is selective for the defined concentration ranges. The precision evaluated under repeatability and intermediate precision conditions presented satisfactory coefficients of variation and relative error. In the evaluation of the method accuracy using recovery tests, certified reference materials (CRM) and interlaboratory assays, satisfactory recovery rates and *Z-score* were obtained. The method measurement uncertainty proved to be suitable for use. Finally, the internal quality control made it possible to ensure the reliability of the results obtained and, in this way, to prove that the entire process is under control.

**Keywords:** Quality control; Ion Chromatography; Performance parameters; Quantification of cations; Validation.



## Índice

Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	v
Abstract .....	vi
Lista de Abreviaturas e de Siglas .....	xi
Índice de Figuras .....	xvii
Índice de Tabelas .....	xix
Lista de Equações .....	xxii
I - Introdução .....	1
1.1. Enquadramento do tema .....	2
1.2. Águas do Norte, S.A. ....	2
1.2.1. Laboratórios Águas do Norte, S.A. ....	4
1.3. Água e importância da sua qualidade .....	6
1.4. Águas subterrâneas .....	9
1.5. Águas superficiais .....	11
1.6. Poluição da água .....	12
1.7. Qualidade da água em Portugal .....	16
1.8. Legislação aplicada à qualidade da água .....	17
1.9. Análise Química e Microbiológica da água .....	21
1.9.1. Parâmetros físico – químicos .....	22
1.9.1.1. Amónio .....	22
1.9.1.2. Cálcio .....	23
1.9.1.3. Magnésio .....	24
1.9.1.4. Sódio .....	25
1.9.1.5. Potássio .....	26
1.10. Monitorização das massas de água .....	27
1.10.1. Planeamento .....	28
1.10.2. Amostragem .....	29
1.10.3. Colheita de amostras .....	30
1.10.4. Preservação da amostra .....	32
1.10.4.1. Refrigeração ou congelamento .....	33
1.10.4.2. Filtração ou centrifugação .....	33
1.10.4.3. Adição de preservantes .....	33
1.10.4.4. Proteção da luz .....	34
1.10.4.5. Volatilização .....	34

2.	Determinação dos catiões sódio, amónio, magnésio, potássio e cálcio.....	35
2.1.	Cromatografia.....	35
2.1.1.	Cromatografia iónica .....	37
2.1.1.1.	Sistema da cromatografia iónica.....	39
2.1.1.2.	Detetores.....	42
3.	Validação de métodos analíticos .....	45
3.1.	Parâmetros de desempenho .....	47
3.1.1.	Curva de calibração.....	48
3.1.2.	Linearidade .....	48
3.1.3.	Gama de trabalho.....	49
3.1.4.	Sensibilidade.....	50
3.1.5.	Seletividade.....	51
3.1.6.	Limites analíticos.....	52
3.1.7.	Precisão.....	53
3.1.7.1.	Precisão em condições de repetibilidade.....	54
3.1.7.2.	Precisão em condições de precisão intermédia .....	55
3.1.8.	Justeza.....	56
3.1.8.1.	Materiais de referência certificados.....	56
3.1.8.2.	Ensaio de comparação interlaboratoriais .....	58
3.1.8.3.	Ensaio de recuperação .....	59
3.1.9.	Estimativa da incerteza de medição .....	60
3.2.	Garantia de controlo de qualidade.....	64
3.2.1.	Controlo de qualidade interno .....	64
3.2.1.1.	Cartas de controlo .....	65
II	– Parte Experimental.....	69
4.	Materiais e Métodos .....	70
4.1.	Equipamentos e Materiais .....	70
4.2.	Reagentes.....	71
4.3.	Preparação das soluções.....	73
4.3.1.	Soluções de preservação .....	73
4.3.1.1.	Ácido Nítrico 65% (HNO <sub>3</sub> ).....	73
4.3.1.1.	Ácido Sulfúrico ≈ 42% (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ).....	73
4.3.2.	Soluções utilizadas para a curva de calibração .....	73
4.3.2.1.	Preparação da solução mãe do padrão de Sódio (100 mg/L), Potássio (9,90 mg/L), Magnésio (9,84 mg/L) e Cálcio (9,99 mg/L) da curva de calibração .....	73
4.3.2.2.	Preparação da solução mãe do padrão de Amónio (9,99 mg/L) da curva de calibração....	74

4.3.2.3. Preparação dos padrões da curva de calibração.....	74
4.3.3. Padrões independentes e padrões de controlo da curva de calibração .....	75
4.3.3.1. Preparação da solução mãe dos padrões independentes de Sódio (99,75 mg/L), Potássio (10 mg/L), Magnésio (10,022 mg/L) e Cálcio (100 mg/L) .....	75
4.3.3.2. Preparação da solução mãe dos padrões independentes Amónio (10,1 mg/L) .....	75
4.3.3.3. Padrões de controlo da curva de calibração .....	75
4.4. Condições experimentais .....	76
4.5. Procedimento experimental.....	77
4.5.1. Curva de calibração.....	77
4.5.2. Amostras.....	78
4.5.3. Ensaio de Recuperação.....	78
4.6. Colheita e transporte das amostras .....	78
4.7. Análise e tratamento de resultados .....	79
III – Apresentação e Discussão de Resultados .....	80
5. Validação do método de determinação de cations por cromatografia iónica.....	81
5.1. Gama de trabalho.....	82
5.2. Curva de calibração.....	83
5.3. Linearidade .....	87
5.4. Sensibilidade.....	88
5.5. Seletividade.....	89
5.6. Limiares analíticos.....	90
5.7. Precisão.....	93
5.7.1. Repetibilidade .....	93
5.7.2. Precisão Intermédia .....	95
5.8. Justeza .....	102
5.9. Incerteza da medição .....	106
5.10. Controlo de qualidade do método .....	110
5.10.1. Controlo de Qualidade Interno.....	110
IV – Conclusão.....	123
V – Bibliografia .....	127
VI – Anexos.....	134
Anexo A. Testes estatísticos .....	135
Anexo B. Curva de Calibração – parâmetros estatísticos.....	138
Anexo C. Linearidade – Ferramentas estatísticas.....	140
Anexo D. Avaliação da seletividade recorrendo a ensaios de recuperação .....	141
Anexo E. Determinação dos limiares analíticos .....	142

Anexo F. Avaliação da precisão .....	143
Anexo G. Justeza .....	144
Anexo H. Estimativa da Incerteza de Medição.....	145
Anexo I. Cartas de controlo .....	147
Anexo J. Procedimento Experimental.....	149
Anexo J1. Frases de advertência de perigo e recomendações de prudência .....	149
Anexo K. Tratamento de resultados .....	151
Anexo K1. Incerteza expandida da concentração da solução mãe para a curva de calibração .....	151
Anexo K2. Incerteza expandida da concentração de soluções padrão.....	152
Anexo K3. Estudo da Gama de trabalho .....	153
Anexo K4. Sensibilidade ao longo do tempo .....	154
Anexo K5. Ensaios de recuperação em matrizes diferentes para o estudo da seletividade .....	155
Anexo K6. Limiares analíticos do método .....	156
Anexo K7. Precisão do método em condições de repetibilidade .....	157
Anexo K8. Precisão do método em condições de precisão intermédia.....	158
Anexo K9. Cartas de Controlo .....	160

## Lista de Abreviaturas e de Siglas

a – Ordenada na origem

ACH – Água de Consumo Humano

ANDsup – Água Natural Doce Superficial

ANOVA – Análise de variâncias

APA – Agência Portuguesa do Ambiente

b – Declive da reta de calibração

*b* – *Bias*

*b* – Desvio relativamente à recuperação completa ou à média

$b_{ms}$  – Valor quadrático médio (ou raiz quadrada média) dos desvios dos ensaios de recuperação

CC – Cartas de Controlo

CQ – Controlo de Qualidade

CQI – Controlo de Qualidade Interno

CQE – Controlo de Qualidade Externo

CQO – Carência Química de Oxigénio

CV – Coeficiente de Variação

$CV_i$  – Coeficiente de Variação de precisão intermédia

$CV_r$  – Coeficiente de Variação de repetibilidade

d – Variação máxima permitida pelo ensaio

$d^2$  – Fator para o cálculo do desvio padrão do intervalo médio de amplitudes

DQA – Diretiva Quadro de Água

$DS^2$  – Diferença entre variâncias

EIL – Ensaio Interlaboratoriais

$E_n$  – Erro normalizado

EN – Norma europeia (do inglês *European Norm*)

ER – Ensaio de Recuperação

$E_r$  – Erro relativo

ERSAR – Entidade Reguladora dos Serviços de Águas Residuais

ETA – Estação de Tratamento de Águas

$F_{\text{tab}}$  – Valor tabelado da distribuição de *Fisher-Snedecor*

GL – Graus de liberdade

GQ – Garantia de Qualidade

H – Frases de perigo

$H_0$  – Hipótese nula

$H_1$  – Hipótese alternativa

HAP's – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

IAEA – Agência Internacional de Energia Atômica (do inglês *International Atomic Energy Agency*)

IC – Cromatografia Iônica (do inglês *Ion Chromatography*)

ICP-MS – Espectroscopia de Massa Acoplada a Plasma Indutivo (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

IEC – Comissão Eletrotécnica Internacional (do inglês *International Electrotechnical Commission*)

ILAC – Cooperação Internacional de Acreditação de Laboratórios (do inglês *International Laboratory Accreditation Cooperation*)

IPAC – Instituto Português de Acreditação

IRMM – Instituto de Materiais e Medições de Referência (do inglês *Institute for Reference Materials and Measurements*)

ISO – Organização Internacional de Padronização (do inglês *International Organization for Standardization*)

k – Fator de expansão

LabAdNorte – Laboratório Águas do Norte

LA – Limite de aceitação

LA – Limite de aviso

LIA – Limite inferior de aviso

LSA – Limite superior de aviso

LC – Limite de controlo

LC – Linha Central

LIC – Limite inferior de controlo

LSC – Limite superior de controlo

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

MR – Material de Referência

MRC – Material de Referência Certificado

MRI – Material de Referência Interno

MS – Espectrometria de massa (do inglês “Mass Spectrometry”)

MSA – Ácido metanossulfônico

$MQ_b$  – Quadrado das médias “entre os grupos”

$MQ_w$  – Quadrado das médias “dentro do grupo”

N – Número de pratos teóricos

n – Número de determinações em replicado

NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês *National Institute of Standards and Technology*)

NRC – Conselho Nacional de Pesquisa (do inglês *National Research Council*)

$n_M$  – Número de ensaios efetuados com o material de referência

$n_b$  – Número de réplicas realizadas para o branco

$n_n$  – Número de ensaios de recuperação realizados

OMS – Organização Mundial de Saúde

P – Frases de prudência

p – Número de grupos

$pK_a$  – valor negativo do logaritmo da constante de dissociação do ácido

$pK_b$  – valor negativo do logaritmo da constante de dissociação da base

PCQA – Programa de Controlo da Qualidade da Água

PG – Razão entre variâncias

PNA – Plano Nacional da Água

R1 – Rotina 1

R2 – Rotina 2

RDA – Ingestão Diária Recomendada (do inglês *Recommend Dietary Allowances*)

R – Taxa de Recuperação

$\bar{R}$  – Diferença entre dois valores num duplicado de amostras

$r$  – Coeficiente de correlação

$r$  – Limite de repetibilidade

$R_a$  – Recuperação aparente

$RE_i$  – Resultado experimental obtido no ensaio

$s$  – Desvio padrão

$s'_0$  – Desvio padrão corrigido

$s^2$  – Variância amostral

$s_1^2$  – Variância dos resultados do primeiro conjunto de medições

$s_2^2$  – Variância dos resultados do segundo conjunto de medições

$S_a$  – Desvio padrão da ordenada na origem

$S_b$  – Desvio padrão do declive

$s_{\text{between}}$  – Desvio padrão “entre grupos”

SGQ – Sistema de Gestão de Qualidade

SI – Sistema Internacional

SIMDOURO – Saneamento do Grande Porto, S.A

$s_i$  – Desvio padrão de precisão intermédia

$SQ_b$  – Quadrado da soma “entre grupos”

$SQ_w$  – Quadrado da soma “dentro do grupo”

$s_r$  – Desvio padrão de repetibilidade

$s_R$  – Desvio padrão de reprodutibilidade

$s_{RW}$  – Desvio padrão de amostras de controlo

$s_{y/x}$  – Desvio padrão residual

$s_{y_2}$  – Desvio padrão residual da função quadrática

$t$  – Parâmetro  $t$  de student

$t$  – Teste de hipóteses

TOC – Carbono Orgânico Total (do inglês “*Total Organic Carbon*”)

UV – Ultravioleta



U – Incerteza expandida

$u_{add}$  – Incerteza da concentração de analito concentrada

$u_b$  – Incerteza padrão do *bias*

$u_c$  – Incerteza padrão combinada

$u_{conc}$  – Incerteza da concentração da solução utilizada para fortificação

$u_{Cref}$  – Incerteza padrão do material de referência

$U_{lab}$  – Incerteza obtida pelo laboratório

$U_{MRC}$  – Incerteza expandida do material de referência certificado

$u_{ref}$  – Incerteza do material de referência certificado

$u_{RW}$  – Incerteza padrão de precisão intermédia

$u_v$  – Incerteza associada ao volume adicionado

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

VMA – Valor Máximo Admitido

VMR – Valor Máximo Recomendado

$V_{spm}$  – Volume da solução padrão mãe

$\bar{x}$  – Média

$x_{add}$  – Solução padrão com concentração conhecida

$x_{efetiva}$  – Concentração de analito determinada na amostra que provém da fortificação

$x_i$  – Valor usado experimentalmente

$X_{lab}$  – Valor obtido experimentalmente ou média aritmética dos valores obtidos

$X_{ref}$  – Valor aceite como verdadeiro

y – Resultado instrumental obtido

$\hat{y}_1$  – Sinal interpolado na reta de calibração para uma concentração  $C_1$

$y_i$  – Resultado obtido experimentalmente

$\bar{y}$  – Média dos valores de y

$y_{j1}$  – Primeiro resultado para o duplicado da amostra

$y_{j2}$  – Segundo resultado para o duplicado da amostra

$y_{jk}$  – Resultado individual para cada amostra

Z – Fator de desempenho *Z-score*

$\mu$  - Valor médio populacional

$\Delta x$  – Variação da concentração de analito

$\Delta y$  – Variação da resposta experimental

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Mapa do sistema multimunicipal de abastecimento de água e saneamento do norte de Portugal, realizado pela Águas do Norte, S. A <sup>[2]</sup> .....	3
<b>Figura 2.</b> Percurso urbano da água <sup>[7]</sup> .....	4
<b>Figura 3.</b> Distribuição da água existente no Planeta Terra <sup>[13]</sup> .....	7
<b>Figura 4.</b> Evolução do tipo de origens de água utilizada no abastecimento público <sup>[15]</sup> .....	8
<b>Figura 5.</b> Fontes de poluição da água <sup>[21]</sup> .....	14
<b>Figura 6.</b> Evolução do indicador água segura entre 1993 e 2020 <sup>[23]</sup> .....	16
<b>Figura 7.</b> Funcionamento da Cromatografia <sup>[57]</sup> .....	36
<b>Figura 8.</b> Fases estacionárias usadas na cromatografia iónica. Adaptada de <sup>[60]</sup> .....	38
<b>Figura 9.</b> Diagrama representativo dos componentes de um sistema de IC. Adaptado de <sup>[57]</sup> .....	39
<b>Figura 10.</b> Representação de uma válvula de injeção na posição LOAD e na posição INJECT <sup>[64]</sup> .....	40
<b>Figura 11.</b> Esquema de operação de supressora química de troca aniónica e catiónica <sup>[65]</sup> .....	41
<b>Figura 12.</b> Divisão dos métodos de deteção para cromatografia iónica. Adaptada de <sup>[63]</sup> .....	43
<b>Figura 13.</b> Parâmetros de desempenho usuais de um estudo de validação de métodos analíticos. Adaptada de <sup>[75]</sup> .....	47
<b>Figura 14.</b> Metodologia “passo a passo”. Adaptada de <sup>[72]</sup> .....	61
<b>Figura 15.</b> Esquema representativo do procedimento para a estimativa da incerteza do método baseada na norma ISO 11352 <sup>[72]</sup> .....	62
<b>Figura 16.</b> Relação entre a curva de distribuição normal e uma carta de controlo <sup>[69]</sup> .....	66
<b>Figura 17.</b> Exemplo de carta de controlo de indivíduos <sup>[69]</sup> .....	67
<b>Figura 18.</b> Exemplo de carta de controlo de amplitudes <sup>[69]</sup> .....	67
<b>Figura 19.</b> Cromatograma de uma solução padrão mista de Na <sup>+</sup> - 2,000 mg/L; NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 0,04995 mg/L; K <sup>+</sup> - 0,2000 mg/L; Mg <sup>2+</sup> - 0,1968 mg/L e Ca <sup>2+</sup> - 2,000 mg/L nas condições experimentais previamente definidas.....	81
<b>Figura 20.</b> Representação gráfica da reta de calibração das áreas dos picos em função da concentração das soluções padrão: A) Na <sup>+</sup> ; B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ; C) K <sup>+</sup> ; D) Mg <sup>2+</sup> e E) Ca <sup>2+</sup> .....	86
<b>Figura 21.</b> Cartas de aceitação de duplicados (LA - 10 %), tendo como o objetivo a monitorização do controlo de qualidade do método para cada catião: A) Na <sup>+</sup> ; B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ; C) K <sup>+</sup> ; D) Mg <sup>2+</sup> ; E) Ca <sup>2+</sup> .....	112
<b>Figura 22.</b> Cartas de controlo de indivíduos para o padrão de menor concentração, a fim da monitorização do controlo de qualidade do método, para cada catião: A) Na <sup>+</sup> ; B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ; C) K <sup>+</sup> ; D) Mg <sup>2+</sup> e E) Ca <sup>2+</sup> .....	115
<b>Figura 23.</b> Cartas de controlo de indivíduos para o padrão de maior concentração da curva de calibração, a fim da monitorização do controlo da qualidade do método, para cada catião: A) Na <sup>+</sup> ; B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ; C) K <sup>+</sup> ; D) Mg <sup>2+</sup> e E) Ca <sup>2+</sup> .....	119
<b>Figura 24.</b> Cartas de controlo de indivíduos para o acompanhamento da curva de calibração, tendo em vista a monitorização do controlo da qualidade do método para cada catião: A) Na <sup>+</sup> ; B) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ; C) K <sup>+</sup> ; D) Mg <sup>2+</sup> e E) Ca <sup>2+</sup> .....	121
<b>Figura K1.1.</b> Diagrama espinha de peixe para a identificação das fontes de incerteza da concentração da solução mãe de magnésio para a curva de calibração e considerando a concentração do ião magnésio intermédia e solução comercial 984 ± 5 mg/L.....	151
<b>Figura K1.2.</b> Cálculos auxiliares para a determinação das incertezas associadas ao volume da micropipeta, do balão volumétrico de 100mL e da incerteza combinada e expandida da concentração da solução mãe de magnésio para a curva de calibração.....	151

**Figura K2.1.** Cálculos auxiliares para a determinação das incertezas associas ao volume da micropipeta, do balão volumétrico de 50 mL e da incerteza combinada e expandida da concentração de uma solução padrão de magnésio de 0,500 mg/L. .... 152

## Índice de Tabelas

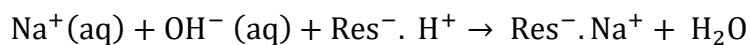
<b>Tabela 1.</b> Classe de poluentes responsáveis pela contaminação das águas naturais e seus principais efeitos. Adaptada de [21].	15
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros a analisar por tipo de controlo. Adaptado de [10].	20
<b>Tabela 3.</b> Frequência mínima de amostragem e de análise da água destinada para consumo humano fornecida por uma rede de distribuição, por fontanários, por um camião-cisterna ou fornecida por uma empresa da indústria alimentar. Adaptado de [10].	21
<b>Tabela 4.</b> Características do sistema de purificação Milli-Q® IQ 7000.	70
<b>Tabela 5.</b> Equipamento utilizado na realização do trabalho experimental e respetiva marca e incerteza.	70
<b>Tabela 6.</b> Material essencial para a realização do procedimento experimental e respetivas incertezas.	71
<b>Tabela 7.</b> Reagentes utilizados na preservação de amostras.	71
<b>Tabela 8.</b> Soluções padrão comerciais utilizadas durante a realização do procedimento experimental, especificamente, na etapa da preparação dos padrões de calibração analítica.	72
<b>Tabela 9.</b> Soluções padrão comerciais utilizadas durante a realização do procedimento experimental, especificamente, na etapa do controlo de qualidade do método.	72
<b>Tabela 10.</b> Volumes da solução padrão mãe ( $V_{spm}$ ) para a realização dos padrões da curva de calibração no volume de 50 mL, para cada catião.	74
<b>Tabela 11.</b> Concentrações das soluções padrão utilizadas na preparação dos padrões da curva de calibração para cada catião.	75
<b>Tabela 12.</b> Volumes da solução padrão mãe para a preparação dos padrões independentes de controlo da curva de calibração em balões volumétricos de 100 mL, para cada catião.	76
<b>Tabela 13.</b> Concentrações das soluções padrão independentes, para cada catião em estudo.	76
<b>Tabela 14.</b> Especificações das condições definidas e do material do equipamento de cromatografia iónica ICS5000.	77
<b>Tabela 15.</b> Dados obtidos a partir do cromatograma de uma solução padrão mista.	82
<b>Tabela 16.</b> Valores obtidos nas variâncias das áreas dos picos para cada solução padrão dos cátions analisados, para o estudo do ajuste da gama de trabalho, recorrendo ao teste de homogeneidade de variâncias.	83
<b>Tabela 17.</b> Valores de concentração com respetiva incerteza expandida e área do pico utilizados para a construção da curva de calibração, para cada catião.	84
<b>Tabela 18.</b> Intervalos de confiança da ordenada na origem ( $tS_0$ ) e do declive ( $tS_1$ ) da curva de calibração, assim como o valor do coeficiente de correlação ( $r$ ), para cada catião.	87
<b>Tabela 19.</b> Valores obtidos e utilizados na realização do Teste de Mandel, para cada catião, com o objetivo de confirmar a linearidade.	88
<b>Tabela 20.</b> Valores obtidos da média, desvio padrão e coeficiente de variação de 12 retas de calibração, tendo em vista a avaliação da sensibilidade do método.	89
<b>Tabela 21.</b> Taxa de recuperação média obtida em dez ensaios de recuperação, em duas matrizes diferentes, bem como o desvio padrão obtido para os ensaios de recuperação.	90
<b>Tabela 22.</b> Parâmetros determinados através da análise de dez réplicas de brancos fortificados, especialmente, a média, o desvio padrão e o desvio padrão corrigido obtidos.	91
<b>Tabela 23.</b> Limiares analíticos do método de determinação dos cátions em estudo.	91

<b>Tabela 24.</b> Parâmetros determinados recorrendo à análise de dez réplicas independentes do padrão de menor concentração da curva de calibração, especialmente, a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação e o erro relativo. ....	92
<b>Tabela 25.</b> Resultados obtidos dos parâmetros de avaliação da precisão, em condições de repetibilidade. ....	94
<b>Tabela 26.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião sódio. ....	95
<b>Tabela 27.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião amónio. ....	96
<b>Tabela 28.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião potássio. ....	97
<b>Tabela 29.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião magnésio. ....	97
<b>Tabela 30.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião cálcio. ....	98
<b>Tabela 31.</b> Resultados obtidos da precisão em condições de repetibilidade (CV <sub>r</sub> ) e de precisão intermédia (CV <sub>i</sub> ) do padrão referente ao limite de quantificação, para cada catião com o auxílio da ANOVA. ....	99
<b>Tabela 32.</b> Resultados obtidos da precisão em condições de repetibilidade (CV <sub>r</sub> ) e de precisão intermédia (CV <sub>i</sub> ) do padrão de concentração intermédia da curva de calibração, para cada catião com o auxílio da ANOVA. ....	100
<b>Tabela 33.</b> Resultados obtidos da precisão em condições de repetibilidade (CV <sub>r</sub> ) e de precisão intermédia (CV <sub>i</sub> ) do padrão de concentração de maior da curva de calibração, para cada catião com o auxílio da ANOVA. ....	101
<b>Tabela 34.</b> Resultados obtidos com recurso à análise dos MRC's, com o objetivo em avaliar a exatidão do método de determinação de catiões. ....	103
<b>Tabela 35.</b> Resultados obtidos no ensaio interlaboratorial da AQUACHECK realizado, para todos os catiões em estudo. ....	104
<b>Tabela 36.</b> Resultados obtidos nos ensaios de recuperação realizados de amostras reais fortificadas, para a avaliação da exatidão do método para a determinação do ião amónio. ....	105
<b>Tabela 37.</b> Resultados obtidos experimentalmente relativos a oito ensaios independentes do MRC para a determinação da componente associada à reprodutibilidade intralaboratorial, para cada catião. ....	106
<b>Tabela 38.</b> Resultados obtidos experimentalmente relativos a oito ensaios independentes do padrão de concentração intermédia da curva de calibração, a fim de determinar a componente associada à reprodutibilidade intralaboratorial, para o ião amónio. ....	107
<b>Tabela 39.</b> Resultados obtidos através do MRC da marca CPAchem utilizados a fim de calcular a componente associada aos erros sistemáticos do método, para os catiões designados. ....	108
<b>Tabela 40.</b> Resultados obtidos através de dez ensaios de recuperação realizados a fim de calcular a componente associada aos erros sistemáticos do método, para o ião amónio. ....	108
<b>Tabela 41.</b> Valores obtidos da incerteza combinada e expandida do método, para cada catião. ....	109

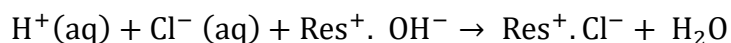
<b>Tabela 42.</b> Metodologia aplicada pelo laboratório para o controlo de qualidade.....	110
<b>Tabela 43.</b> Resultados dos parâmetros obtidos com base na análise do padrão de concentração mais baixa da curva de calibração, utilizado para a construção da carta de controlo.....	113
<b>Tabela 44.</b> Valores dos limites de controlo e de aviso definidos em termos de concentrações (mg/L) tendo em vista a construção da carta de controlo de indivíduos do padrão de menor concentração da curva de calibração para cada catião.....	113
<b>Tabela 45.</b> Resultados dos parâmetros obtidos através do padrão de maior concentração da curva de calibração, usado para a construção da carta de controlo.....	116
<b>Tabela 46.</b> Valores obtidos para os limites de controlo e de aviso, expressos em termos de concentração (mg/L), a fim da construção da carta de controlo de indivíduos do padrão de maior concentração da curva de calibração, para cada catião.....	117
<b>Tabela J1.1.</b> Frases de advertência (H) e recomendações de prudência para as soluções padrão utilizadas na realização da parte experimental.....	149
<b>Tabela J1.2.</b> Índice das frases de perigo e respetivo significado.....	150
<b>Tabela J1.3.</b> Índice das frases de recomendações de prudência - prevenção e respetivo significado.....	150
<b>Tabela J1.4.</b> Índice das frases de recomendações de prudência - resposta e respetivo significado....	150
<b>Tabela K3.1.</b> Valores obtidos das áreas dos picos para o estudo da gama de trabalho de dez soluções independentes do padrão de menor e maior concentração para cada catião.....	153
<b>Tabela K4.1.</b> Valores obtidos dos declives das retas de calibração para cada catião, tendo em vista o estudo da sensibilidade ao longo do tempo.....	154
<b>Tabela K5.1.</b> Valores de concentração obtidos em amostras reais, sendo a matriz água de consumo humano, recorrendo a ensaios de recuperação para o estudo da seletividade. $[X^n]$ e $[X^n + f]$ corresponde à concentração do catião X na amostra original e a concentração do catião X na solução fortificada respetivamente.....	155
<b>Tabela K5.2.</b> Valores de concentração obtidos em amostras reais, sendo a matriz água natural doce superficial, recorrendo a ensaios de recuperação para o estudo da seletividade. $[X^n]$ e $[X^n + f]$ corresponde à concentração do catião X na amostra original e a concentração do catião X na solução fortificada respetivamente.....	155
<b>Tabela K6.1.</b> Concentração obtida da análise de dez réplicas de brancos fortificados, em condições de repetibilidade, para cada catião em estudo.....	156
<b>Tabela K6.2.</b> Estudo do padrão de menor concentração da curva de calibração, em condições de precisão intermédia, para cada catião, de modo a confirmar o LQ do método de determinação dos cátiões em estudo.....	156
<b>Tabela K7.1.</b> Valores obtidos da avaliação da precisão do método, em condições de repetibilidade, para cada catião em estudo.....	157
<b>Tabela K8.1.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do padrão mais diluído catião.....	158
<b>Tabela K8.2.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do padrão de concentração intermédia da curva de calibração, para cada catião.....	159
<b>Tabela K8.3.</b> Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do padrão de maior concentração da curva de calibração, para cada catião.....	159

## Lista de Equações

**Equação 1:** Reação no supressor da análise aniônica.



**Equação 2:** Reação no supressor da análise catiónica.



**Equação 3:** Sensibilidade.  $\text{Sensibilidade} = \frac{\Delta y}{\Delta x}$

**Equação 4:** Incerteza padrão combinada.  $u_c = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_b^2}$

**Equação 5:** Incerteza expandida.  $U = k \times u_c$

**Equação A1:** Teste de *Grubbs*.  $G = \frac{|x_s - \bar{x}|}{s}$

**Equação A2:** Variância amostral.  $s^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}$

**Equação A3:** Teste F de *Snedecor-Fisher*.  $PG = \frac{s_1^2}{s_2^2}$ , se  $s_1^2 > s_2^2$

**Equação A4:** Teste F de *Snedecor-Fisher*.  $PG = \frac{s_2^2}{s_1^2}$ , se  $s_2^2 > s_1^2$

**Equação A5:** Teste *t-student*.  $|t| = |\bar{x} - x_{\text{ref}}| \times \sqrt{\frac{n}{s}}$

**Equação A6:** Quadrado da soma “entre grupos”.  $SQ_b = n \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$

**Equação A7:** Quadrado das médias “entre grupos”.  $MQ_b = \frac{SQ_b}{(p-1)}$



**Equação A8:** Quadrado da soma “dentro do grupo”.  $SQ_w = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$

**Equação A9:** Quadrado das médias “dentro do grupo”.  $MQ_w = \frac{SQ_w}{(N-p)}$

**Equação A10:** Quadrado da soma total.  $SQ_{tot} = SQ_b + SQ_w$

**Equação A11:** Desvio padrão de repetibilidade.  $s_r = \sqrt{MQ_w}$

**Equação A12:** Desvio padrão de precisão intermédia.  $s_I = \sqrt{s_r^2 + s_{between}^2}$

**Equação A13:** Desvio padrão “entre grupos”.  $s_{between} = \sqrt{\frac{MQ_b - MQ_w}{n}}$

**Equação B1:** Coeficiente de correlação do modelo de regressão linear.  $r = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{[\sum(x_i - \bar{x})^2][\sum(y_i - \bar{y})^2]}}$

**Equação B2:** Desvio padrão residual do modelo de regressão linear.  $S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

**Equação B3:** Desvio padrão da ordenada na origem do modelo de regressão linear.

$$s_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

**Equação B4:** Desvio padrão do declive do modelo de regressão linear.  $s_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2}}$

**Equação B5:**  $b \pm S_b t$

**Equação B6:**  $a \pm S_a t$

**Equação B7:** Modelo de regressão linear com incertezas associadas.  $y = (b \pm S_b t)x + (a \pm S_a t)$

**Equação C1:** Teste t para o r.  $t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$

**Equação C2:** Desvio padrão residual do modelo de regressão quadrático.  $S_{y2} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-3}}$

**Equação C3:** Diferença de variâncias.  $DS^2 = (n-2) \times (S_{y/x})^2 - (n-3) \times (S_{y2})^2$

**Equação C4:** Teste de Mandel.  $PG = \frac{DS^2}{(S^2_{y2})}$

**Equação D1:** Taxa de recuperação.  $R' = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{add}} \times 100 (\%)$

**Equação D2:** Taxa de recuperação.  $R' = \frac{\bar{x}}{x_{efetiva}} \times 100 (\%)$

**Equação E1:** Desvio padrão corrigido.  $s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$

**Equação E2:** Desvio padrão corrigido (com o branco incluído).  $s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$

**Equação E3:** Limite de deteção.  $LD = K \times s'_0$

**Equação E4:** Limite de quantificação.  $LQ = K_Q \times s'_0$

**Equação E5:** Limite de deteção.  $LD = \frac{3,3 S_{y/x}}{b}$

**Equação E6:** Limite de quantificação.  $LQ = \frac{10 S_{y/x}}{b}$

**Equação F1:** Coeficiente de variação de repetibilidade.  $CV_r = \frac{s_r}{\bar{x}} \times 100 (\%)$

**Equação F2:** Limite de repetibilidade.  $r = 2,8 \times S_r$

**Equação F3:** Desvio padrão de precisão intermédia,  $n > 2$ .  $s_I = \sqrt{\frac{1}{t \times (n-1)} \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2}$

**Equação F4:** Desvio padrão de precisão intermédia,  $n = 2$ .  $s_I = \sqrt{\frac{1}{2 \times t} \sum_{j=1}^t (y_{j1} - y_{j2})^2}$

**Equação F5:** Coeficiente de variação de precisão intermédia.  $CV_I = \frac{s_I}{\bar{x}} \times 100 (\%)$

**Equação G1:** Bias.  $bias = \bar{x} - x_{ref}$

**Equação G2:** Bias relativo.  $bias\ relativo = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100(\%)$

**Equação G3:** *Z-score*.  $Z = \frac{X_{lab} - X_{ref}}{d}$

**Equação G4:** Erro normalizado.  $E_n = \frac{(x_{lab} - x_{ref})}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}}$

**Equação H1:** Incerteza padrão de precisão intermédia.  $u_{Rw} = S_{Rw}$

**Equação H2:** Incerteza padrão de precisão intermédia.  $u_{Rw} = \frac{s}{\bar{x}}$

**Equação H3:** Incerteza padrão do *bias*.  $u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{s_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{Cref}^2}$

**Equação H4:** Incerteza padrão do material de referência.  $u_{Cref} = \frac{\left(\frac{U_{MRC}}{k}\right)}{MRC}$

**Equação H5:** Valor quadrático médio (ou raiz quadrada média) dos desvios dos ensaios de recuperação.

$$b_{rms} = \sqrt{\frac{\sum b_i^2}{n_n}}$$

**Equação H6:** Incerteza da concentração de analito adicionada.  $u_{add} = \sqrt{u_v^2 + u_{conc}^2}$

**Equação H7:** Incerteza padrão do *bias*.  $u_b = \sqrt{b_{rms}^2 + u_{add}^2}$

**Equação I1:** Limite de aviso da carta de controlo de indivíduos.  $LA = \bar{x} \pm 2s$

**Equação I2:** Limite de controlo da carta de controlo de indivíduos.  $LC = \bar{x} \pm 3s$

**Equação I3:** Limite de aviso da carta de controlo de médias.  $LA = \bar{x} \pm 2 \frac{s}{\sqrt{n}}$

**Equação I4:** Limite de controlo da carta de controlo de médias.  $LC = \bar{x} \pm 3 \frac{s}{\sqrt{n}}$

**Equação I5:** Desvio padrão na carta de controlo de amplitudes.  $s = \frac{\bar{R}}{d_2}$

# I - Introdução

## 1.1. Enquadramento do tema

O presente trabalho foi desenvolvido no âmbito da unidade curricular Projeto Individual do Mestrado de Técnicas de Caracterização e Análise Química do Departamento de Química da Universidade do Minho e decorreu nas instalações das Águas do Norte, S.A, situado em Areias de Vilar – Barcelos com duração de nove meses (início em outubro de 2021 e término em junho de 2022). No decorrer deste período foi desenvolvido um conjunto de atividades a nível do Laboratório de Ensaio Físico – Químicos, nomeadamente a implementação, validação e controlo de qualidade de um método cromatográfico de troca iónica para analisar cationes presentes em Água de Consumo Humano e Água Natural Doce Superficial.

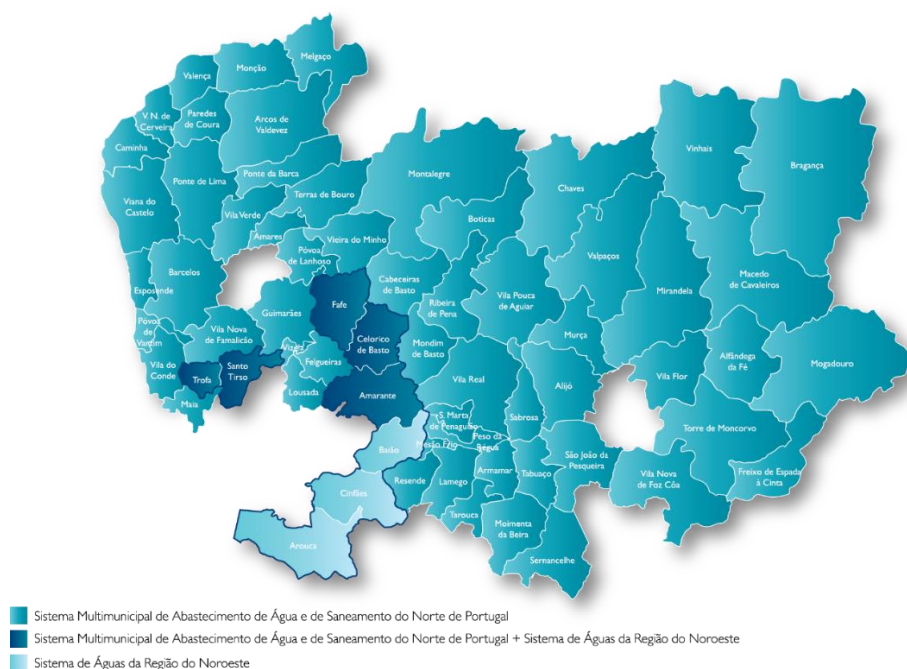
## 1.2. Águas do Norte, S.A.

Por Decreto-Lei n.º 379/93, Capítulo 2, Artigo 3º, Ponto 3, alínea d), no dia 5 de novembro de 1993, foi elaborado o sistema multimunicipal de captação, tratamento e abastecimento de água do norte da área do Grande Porto e o sistema multimunicipal de captação, tratamento e abastecimento de água do sul da área do Grande Porto. Os sistemas que auxiliam no mínimo dois municípios, com intervenção do Estado por motivo de interesse nacional são designados sistemas multimunicipais<sup>[1-3]</sup>.

A gestão e exploração destes sistemas podem ser diretamente executadas pelo Estado ou concessionadas a uma entidade pública de carácter empresarial ou a uma empresa que resulte da união de entidades públicas. O sistema multimunicipal de abastecimento de água e de saneamento do Noroeste foi formado segundo as diretrizes do Decreto-Lei n.º 41/2010<sup>[4]</sup> pelo agrupamento das empresas Águas do Cávado, S.A. (Decreto-Lei n.º 102/95), Águas do Minho e Lima, S.A. (Decreto-Lei n.º 158/2000), e Águas do Ave, S.A. (Decreto-Lei n.º 135/2002), sendo atribuída a concessão da exploração e gestão do sistema multimunicipal de abastecimento de água e de saneamento do Noroeste em estatuto de exclusividade<sup>[2]</sup>.

A Águas do Norte, S.A. foi constituída pelo Decreto-Lei n.º 93/2015<sup>[5]</sup>, de 29 de maio, através da associação de quatro empresas integradas no Grupo Águas de Portugal:

Águas do Douro e Paiva, S.A., Águas do Noroeste, S.A., Águas de Trás-os-Montes e Alto Douro, S.A. e SIMDOURO – Saneamento do Grande Porto, S.A (**Figura 1**)<sup>[2]</sup>.



**Figura 1.** Mapa do sistema multimunicipal de abastecimento de água e saneamento do norte de Portugal, realizado pela Águas do Norte, S. A.<sup>[2]</sup>.

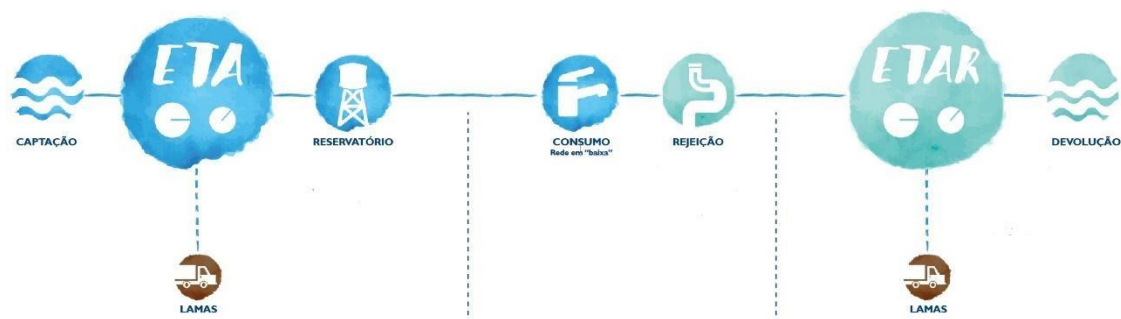
Em sequência, o Estado Português atribuiu-lhe, em regime de exclusivo e num período de trinta anos, a concessão da exploração e da gestão do sistema multimunicipal de abastecimento de água e de saneamento do Norte de Portugal.

O Decreto-Lei n.º 16/2017, de 1 de fevereiro de 2017, propõe a formação do sistema multimunicipal de abastecimento de água do sul do Grande Porto e o sistema multimunicipal de saneamento do Grande Porto, ambos por separação do sistema multimunicipal de abastecimento de água e de saneamento do Norte de Portugal, e as respetivas entidades gestoras, respetivamente, Águas do Douro e Paiva, S.A. e SIMDOURO - Saneamento do Grande Porto, S.A.<sup>[6]</sup>.

Hoje em dia, a Águas do Norte, S.A é a entidade gestora do sistema multimunicipal em "alta" responsável pela captação, tratamento e abastecimento de água para consumo público, pela recolha, tratamento e rejeição de efluentes domésticos, urbanos e industriais e de efluentes provenientes de fossas sépticas.

A Águas do Norte, S.A assume também a exploração e gestão do sistema de águas da região do Noroeste, que provém da celebração de uma Parceria entre o Estado (Administração Central) e oito Municípios (Administração Local). Esta Parceria concretiza um processo de verticalização que agrupou, numa única entidade gestora, em regime de exclusivo, os serviços de

abastecimento de água e de saneamento de águas residuais em “alta” (prestados aos Municípios) e em “baixa” (prestados aos utilizadores finais, os munícipes), de forma regular, contínua e eficiente, tal como representado na **Figura 2**<sup>[7]</sup>.



**Figura 2.** Percurso urbano da água<sup>[7]</sup>.

Em suma, a Águas do Norte, S.A tem como missão conceber, construir, explorar e gerir o sistema multimunicipal de abastecimento de água e de saneamento do Norte de Portugal e o sistema de águas da região do Noroeste, num quadro de eficiência e sustentabilidade económica, social e ambiental, contribuindo para a melhoria da qualidade da vida dos cidadãos e para o desenvolvimento socioeconómico da região<sup>[2]</sup>.

### 1.2.1. Laboratórios Águas do Norte, S.A.

O Laboratório Águas do Norte está acreditado de acordo com a norma NP EN ISO/IEC 17025:2018<sup>[8]</sup>, cujo controle é indispensável quer no cumprimento da legislação que regula a qualidade da água para consumo humano, quer no âmbito do Plano de Segurança da Água da entidade Águas do Norte. O Laboratório Águas do Norte é resultado do conhecimento de excelência acumulado nos 20 anos de existência com uma equipa de profissionais bastante qualificados, sendo as suas competências reconhecidas pelo Instituto Português da Acreditação (IPAC), nomeadamente no Anexo Técnico de Acreditação n.º L0328 que se encontra disponível no site [www.ipac.pt](http://www.ipac.pt). A acreditação do Laboratório Águas do Norte engloba ainda a colheita, preservação e transporte de amostras de água para consumo humano e águas naturais destinadas à produção de águas para consumo humano<sup>[7-9]</sup>.

De forma a garantir a total confiança nos serviços prestados aos seus Clientes, o laboratório compromete-se a cumprir integralmente todos os requisitos da norma NP EN ISO/IEC 17025:2018, bem como a melhorar continuamente a eficácia do Sistema de Gestão, assegurando:



- a) Realizar os ensaios em condições de segurança e confidencialidade e boas práticas profissionais;
- b) A total confiança nos resultados analíticos;
- c) A máxima qualidade dos serviços prestados;
- d) O estabelecimento e acompanhamento dos seus objetivos anuais determinados na reunião de revisão do Sistema de Gestão da Qualidade;
- e) Que a colheita de amostras e os ensaios são realizados estritamente de acordo com as normas, procedimentos internos e/ou especificações técnicas estabelecidas, com os requisitos especificados pelo cliente, assim como com requisitos legais e regulamentares;
- f) Que todo o pessoal relacionado com as atividades de ensaio do Laboratório está familiarizado com a documentação da qualidade e emprega a política e os respetivos procedimentos no seu trabalho;
- g) Que a integridade do sistema de gestão é mantida quando são planeadas e implementadas alterações ao mesmo;
- h) Que todo o pessoal associado com as atividades do Laboratório, executa as suas funções de forma imparcial. O Laboratório não permite pressões comerciais, financeiras ou outras, que comprometam a imparcialidade;
- i) Que o Laboratório reúne a competência necessária para o desempenho das suas funções e apresenta um funcionamento consistente;
- j) A avaliação e promoção contínua da satisfação dos seus clientes.

Com o objetivo de assegurar o controlo da qualidade da água abastecida, no início de cada ano civil, a empresa dispõe de um Programa de Controlo da Qualidade da Água, designado PCQA, dirigida às águas de consumo humano que dá cumprimento aos parâmetros e às frequências apresentadas nos anexos I e II do Decreto-Lei n.º 152/2017<sup>[10]</sup>. Este programa será aprovado pela entidade reguladora dos serviços de águas e resíduos (ERSAR), uma autoridade competente para a qualidade da água dirigida ao consumo humano.

A ERSAR realiza, em qualquer ponto dos sistemas públicos de abastecimento e nas instalações das entidades gestoras, ações de fiscalização para averiguar o cumprimento do presente decreto-lei, informando às mesmas as irregularidades detetadas, com o objetivo de garantir que a qualidade da água seja a mais adequada na habitação dos consumidores. Em suma, a ERSAR procede à aprovação dos programas de controlo da qualidade da água que cada entidade gestora

está obrigada a executar e colabora com as autoridades na resolução dos problemas de qualidade da água que eventualmente possam surgir<sup>[10]</sup>.

Deste modo, é fundamental que todas as políticas de qualidade sejam empregues para garantir a credibilidade dos resultados, assim como assegurar a confiança por parte dos clientes.

Em resumo, o Laboratório Águas do Norte tem como missão<sup>[2,7]</sup>:

- Efetuar o controlo sistemático da qualidade da água, transmitindo segurança e fiabilidade a todo o processo de produção e distribuição de água para consumo humano, de forma a satisfazer as exigências de qualidade das expectativas dos clientes;
- Colaborar na promoção do conceito de água de qualidade.

As principais atividades do Laboratório Águas do Norte são as seguintes:

- Preparação, Colheita e Transporte de Amostras;
- Realização de Análises de Águas;
- Verificação Interna de Equipamentos Analíticos;
- Formação, Consultoria e Auditorias a Laboratórios.

### 1.3. Água e importância da sua qualidade

A água é um elemento vital e de extrema importância na vida do ser humano, não apenas para a sua sobrevivência, como também para o desenvolvimento de várias atividades, tais como: geração de energia, produção industrial, transporte fluvial, diluição de efluentes domésticos e industriais, captação de água para potabilização, e especialmente, a manutenção do equilíbrio das condições ecológicas e ambientais<sup>[11]</sup>.

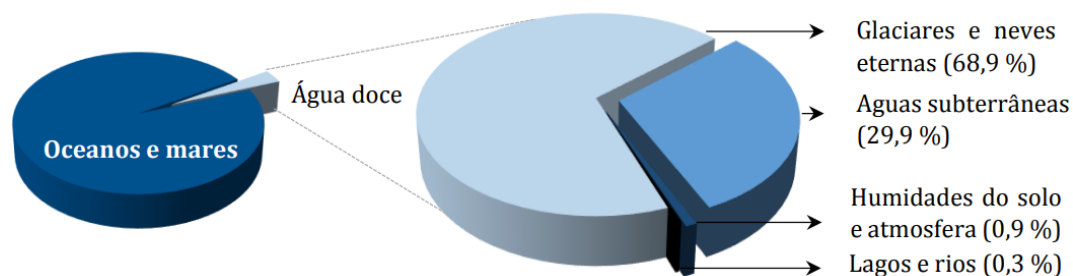
A água é a substância mais abundante nos sistemas vivos, constituindo mais de 70 % do peso da maioria dos organismos, sendo considerada “um dom divino da natureza”, pois, sempre foi um recurso essencial à existência humana<sup>[11]</sup>.

Cerca de 70% da superfície terrestre está coberta de água no estado líquido encontrando-se principalmente nos oceanos e apenas uma pequena porção nos continentes e na atmosfera.

A maior parte da hidrosfera do planeta contida nos mares e oceanos constitui cerca de 97,5 % da água total. Da água restante, apenas 2,5 % da água total é água doce, da qual somente 0,1 % é considerada água potável. Relativamente à água doce, esta encontra-se sob a forma de glaciares e neves eternas (68,9 %), águas subterrâneas (29,9 %), humidade do solo e atmosfera (0,9 %) e em lagos e rios (0,3 %) <sup>[12]</sup>.

Apesar de ser um recurso renovável do planeta e composto de ligação dos ecossistemas e subsistemas ambientais, a água pode ser considerada como um recurso natural e limitado <sup>[11]</sup>. Na

**Figura 3** encontra-se esquematizada a distribuição da água no planeta Terra <sup>[11]</sup>.



**Figura 3.** Distribuição da água existente no Planeta Terra <sup>[13]</sup>.

A água torna-se um recurso indispensável para a vida e atividades do ser humano, o que leva a crescente necessidade de consumo de água doce a nível mundial devido ao acentuado crescimento demográfico e desenvolvimento económico, que por sua vez está a conduzir a uma crise dos recursos hídricos <sup>[13]</sup>.

Além da necessidade de água para beber, os recursos hídricos exercem um papel vital em vários setores da economia, nomeadamente na agricultura, pecuária, silvicultura, atividades industriais, geração de energia hidroelétrica, transportes, pesca e outras atividades criativas.

O acesso à água potável é um direito do qual todo o ser humano deveria ter, mas ainda é negado a um elevado número de pessoas no mundo. Assim, devido à falta de abastecimento de água potável têm surgido inúmeras doenças, sem referir a falta de higiene e saneamento que provoca cerca de 3,4 milhões de mortes por ano, das quais as crianças são as mais afetadas <sup>[13]</sup>. Nos países desenvolvidos existem duas vias comuns de acesso à água de consumo: através da rede pública ou de água engarrafada. A água da rede pública corresponde aquela que pode ter origem superficial ou subterrânea, sendo submetida a tratamentos que garantem a sua potabilidade, enquanto a água engarrafada tem origem subterrânea e não sofre alterações, isto é, as suas propriedades naturais são preservadas.

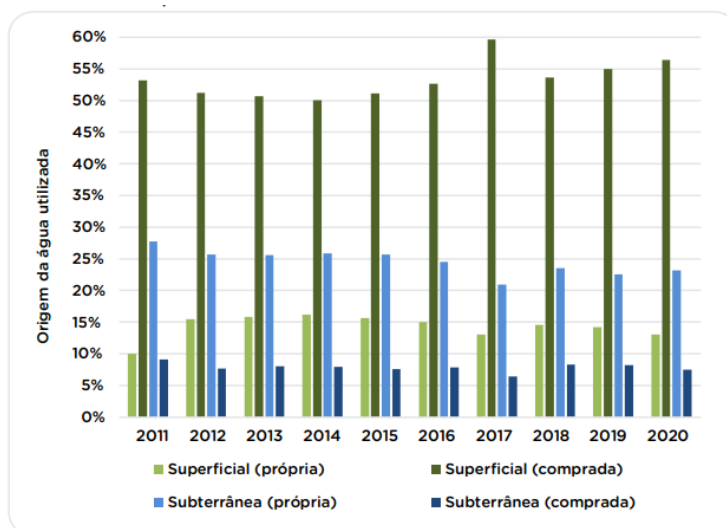
Deste modo, as disponibilidades não são iguais, quer do ponto de vista da quantidade, quer da qualidade, em todo o planeta e para todos os seus habitantes. Para além da sua escassez, a água representa ainda uma distribuição irregular no espaço e no tempo, sendo grande o contraste entre regiões secas e húmidas e entre épocas de cheia e de seca de cursos de água <sup>[12,13]</sup>.

A partir de 2004, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem desenvolvido uma conduta referente aos planos de segurança da água, a partir da avaliação de risco e dos princípios de

gestão de risco estabelecidos nas suas diretivas para a qualidade da água potável. Deste modo, a água destinada ao consumo humano deve obedecer os valores paramétricos dos parâmetros presentes no anexo I do Decreto-Lei n.º 152/2017 e a verificação de conformidade da qualidade da água realiza-se conforme com o descrito no Programa de Controlo da Qualidade da água (PCQA) e no anexo II do mesmo<sup>[10]</sup>.

A água destinada ao consumo humano encontra-se definida como: “Toda a água no seu estado original, ou após tratamento, destinada a ser bebida, a cozinhar, à preparação de alimentos, à higiene pessoal ou a outros fins domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio-cisterna, em garrafas ou outros recipientes, com ou sem fins comerciais; Toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinadas ao consumo humano, assim como a utilizada na limpeza de superfícies, objetos e materiais que podem estar em contacto com os alimentos, exceto quando a utilização dessa água não afeta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada”<sup>[10,14]</sup>.

De acordo com o Relatório do Estado do Ambiente 2020/21, 69,41% da água que os portugueses beberam teve origem superficial (69,25% em 2019) e 39,59% teve origem subterrânea (30,75% em 2019), tal como apresentado na **Figura 4**<sup>[15]</sup>.



**Figura 4.** Evolução do tipo de origens de água utilizada no abastecimento público<sup>[15]</sup>.

Visto que a água consiste num recurso limitado, é por isso, essencial o desenvolvimento de novos conceitos e metodologias que permitam a aplicação de políticas de gestão de água, dado que não é suficiente tratar a água somente como um recurso disponível<sup>[11]</sup>.

A disponibilidade e a qualidade da água, para estes usos, são reduzidas devido a alguns fatores naturais, como a erosão do solo, mas também devido a fatores antrópicos, nomeadamente, o aumento da população, industrialização e urbanização.

A qualidade pode ser definida em relação a uma organização ou empresa a partir das expectativas do cliente, das exigências do mercado ou ambiente competitivo, bem como dos objetivos organizacionais e dos requisitos legais (normas, padrões, regulamentos, leis, etc.). Nesta perspetiva, num laboratório, a qualidade inclui todas as ações que conduzem a resultados que se ajustem às necessidades específicas do cliente, que atraem a confiança do cliente e dos outros que utilizam os resultados e representam um benefício em termos económicos.

O monitoramento da qualidade da água é um dos principais instrumentos de sustentação de uma política de planeamento e gestão de recursos hídricos, uma vez que funciona como um sensor que possibilita o acompanhamento do processo de uso dos corpos hídricos, apresentando seus efeitos sobre as características qualitativas das águas, visando subsidiar as ações de controle ambiental. O objetivo da qualidade a avaliar depende da utilização que for destinada à água, sendo que a qualidade é quantificada através de indicadores de qualidade<sup>[11,12]</sup>.

No sentido de promover um maior e melhor controlo de qualidade da água, é fundamental a realização da avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos, recorrendo a análises específicas e da avaliação dos respetivos valores paramétricos.

Através de análises que asseguram conformidade entre o tratamento/distribuição e os objetivos/regulamentos previstos é possível realizar um contínuo controlo de qualidade da água de consumo humano. Laboratórios especializados e acreditados com profissionais qualificados na área são as entidades que devem realizar estas análises. Além disso, o conjunto de valores paramétricos microbiológicos e físico-químicos estabelecidos nas partes I, II e III do anexo I do Decreto-Lei n.º 152/2017 permite caracterizar a água de consumo humano<sup>[10]</sup>, sendo que os mesmos devem ser selecionados de acordo com a intenção do estudo a realizar, evitando danos ambientais e de saúde pública.

#### 1.4. Águas subterrâneas

A água subterrânea é um recurso natural imprescindível para a vida e para a integridade dos ecossistemas que estão delas dependentes, representando as massas de água doce mais sensíveis e importantes da União Europeia. Assim, a mesma revela-se como uma fonte crucial de

abastecimento público da água potável em diversas regiões, devendo ser protegida de modo a evitar a deterioração da qualidade, a fim e reduzir o nível do tratamento de purificação necessário à produção de água potável<sup>[15]</sup>.

De um modo geral, a água subterrânea corresponde a toda a água que se localiza abaixo da superfície da Terra, preenchendo os espaços vazios presentes no solo, ou as fraturas, falhas e fissuras que se encontram nas rochas impermeáveis (ígnea, sedimentar e metamórfica). Ao serem sujeitas a duas forças (de adesão e de gravidade), as águas subterrâneas desempenham um papel fundamental na manutenção da umidade do solo, do fluxo dos rios, lagos e brejos. Sendo assim, antes de se iniciarem a exploração destas águas, é importante ter em consideração os estudos hidrológicos, hidrogeológicos, bacteriológicos, físico-químico, bem como os dados inerentes à pluviosidade corresponde à zona.

A água subterrânea faz parte de um processo dinâmico e interativo do ciclo hidrológico, em que a água se movimenta em rios, lagos e oceanos para a atmosfera, os quais se condensam nas nuvens, e regressam para a superfície em forma de precipitações<sup>[14]</sup>.

Após a precipitação, parte da água que alcança o solo se infiltra e percola no interior do subsolo, durante diferentes espaços de tempo, decorrentes de diversos fatores, nomeadamente, porosidade do subsolo, cobertura vegetal, inclinação do terreno e tipo de chuva.

As águas subterrâneas podem ser identificadas de duas formas: zona não saturada e zona saturada. A zona não saturada, também designada de zona de aeração ou vadosa, corresponde à parte do solo que está parcialmente preenchida por água. Nesta zona, as moléculas de água aderem às superfícies dos grãos do solo, uma vez que pequenas quantidades de água se distribuem uniformemente, e ocorrem alguns fenómenos, como o fenómeno da transpiração pelas raízes das plantas, de filtração e de autodepuração da água. Pelo contrário, a zona saturada corresponde ao local abaixo da zona não saturada no qual os poros ou fraturas estão completamente preenchidos por água. Por ação da gravidade, as águas atingem esta zona através dos poros ou fraturas até atingir uma profundidade limite, onde as rochas estão demasiadamente saturadas, não sendo por isso possível que a água penetre mais. Para que ocorra infiltração até à zona saturada, é fundamental primeiro satisfazer as necessidades da força de adesão na zona não saturada<sup>[16]</sup>.

Em resumo, ao longo da infiltração, uma porção da água ao ser submetida à ação da força de adesão ou de capilaridade, fica retida nas regiões mais próximas da superfície do solo, constituindo

a zona não saturada. Quando a outra porção de água é sujeita à ação da força de gravidade, a mesma atinge zonas mais profundas do subsolo, correspondendo assim à zona saturada.

As águas subterrâneas podem ainda ser classificadas de acordo com o tipo de solos em que passam. As águas originárias de solos calcários, típicos da região Sul de Portugal e também de Leiria apresentam dureza média/alta, alcalinidade e mineralização. Pelo contrário, as águas originárias de solos graníticos, típicos da região Norte do país revelam baixa mineralização (águas macias), condutividade e acidez, bem como, alguns materiais dissolvidos (o ferro frequente nos solos xistosos, o manganês, os nitratos, entre outros) <sup>[16]</sup>.

As águas subterrâneas são um excelente amortecedor da variabilidade climática dos abastecimentos de água superficial devido às reservas armazenadas ao longo do tempo nos sistemas aquíferos, que permitem ter água disponível mesmo em períodos de seca.

O grau de dependência dos ecossistemas à água subterrânea pode ser avaliado com base nos seguintes atributos hidrogeológicos: a) caudal de escoamento subterrâneo; b) nível freático de aquíferos livres; c) nível piezométrico de aquíferos confinados; d) qualidade química da água subterrânea, expressa em termos de pH, salinidade e outros descritores hidro-químicos, incluindo nutrientes <sup>[15,16]</sup>.

É do conhecimento público que as águas subterrâneas fornecem uma maior qualidade a nível microbiológico em comparação com as águas superficiais.

## 1.5. Águas superficiais

As águas superficiais, também designadas por águas de superfície, ao contrário das águas subterrâneas, são aquelas que não penetram no solo e ao se acumularem na superfície da Terra, são escoadas pelas chuvas ou pela ressurgência/reaparecimento das águas subterrâneas formando os rios, lagos, lagoas, pântanos, entre outros (que retêm menos de um milésimo de um por cento da água do Planeta) <sup>[17]</sup>. Uma das principais características destas águas é o seu constante processo de movimento e troca com outras áreas e reservatórios superficiais, permitindo a transferência de nutrientes e conseqüentemente favorecendo a formação de uma enorme quantidade de ecossistemas. O oceano apesar de ser de água salgada, também é considerado água de superfície.

As águas superficiais podem ser classificadas como: perenes, efémeras ou artificiais. As águas superficiais perenes ou permanentes persistem durante todo o ano e são reabastecidas com águas subterrâneas quando a precipitação é quase escassa. As águas superficiais efémeras ou semipermanentes existem durante um período do ano e incluem pequenos riachos, lagoas e poços

de água. Pelo contrário, as águas superficiais artificiais correspondem aquelas que são encontradas em estruturas artificiais como represas e pântanos construídos<sup>[18]</sup>. A precipitação e o escoamento de água alimentam corpos d'água superficiais, enquanto a evaporação e a infiltração da água no solo, fazem com os que níveis de água superficial diminuem<sup>[17]</sup>.

A monitorização da água superficial do planeta pode ser realizada utilizando medições de superfície, isto é, as taxas de fluxo dos riachos são medidas calculando a descarga (a quantidade de água que se move pelo riacho por unidade de tempo) em vários pontos ao longo do mesmo. Este tipo de monitoramento é importante, uma vez que ajuda a determinar o impacto das atividades humanas e das mudanças climáticas na disponibilidade de águas superficiais. Outro tipo de monitoramento é o recurso a imagens por satélite. Por outro lado, é essencial manter o controlo da vegetação ao redor dos corpos d'água de superfície. A perda da vegetação, quer por fatores naturais, como incêndios, quer pela atividade humana, como desflorestação, pode ter um impacto negativo nas águas superficiais. Além disso, pode levar ao aumento de escoamento superficial e à erosão contruindo assim para o risco de inundações<sup>[19]</sup>.

Conforme definido no Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, as águas superficiais são “as águas interiores, com exceção das águas subterrâneas, águas de transição e as águas costeiras, incluindo, no que se refere ao estado químico, as águas territoriais”<sup>[10]</sup>.

As águas superficiais participam do ciclo hidrológico, sustentam os sistemas ecológicos, fornecem habitat para muitas espécies de plantas e animais e são consideradas umas das principais fontes de abastecimento de água potável do planeta<sup>[17]</sup>. Também são utilizadas para irrigação, tratamento de águas residuais, usos industriais, pecuária e energia hidrelétrica.

## 1.6. Poluição da água

Apesar da escassez da água estar no centro da crise que muitos prenunciam, a poluição inerente a este recurso tem sido amplamente divulgada, através da comunicação social, levantando questões, seja essa poluição originada por fontes pontuais ou difusas.

A poluição pode ser amplamente descrita como uma alteração das propriedades químicas, físicas ou biológicas da água, de modo que pode ter um impacto no uso dessa água ou nos ecossistemas da água. Outra das definições para a poluição da água, sendo mais específica é classificá-la como sendo a inadequação da utilização da água para algum objetivo específico ou qualquer mudança, sendo natural ou artificial, que direta ou indiretamente altere ou destrua o equilíbrio dos ecossistemas e dos recursos naturais de forma que prejudique a saúde pública, diminua a sua



adequabilidade ou eficiência e o bem-estar do Homem e das suas comunidades. Essa alteração ou destruição dos recursos humanos pode ainda levar à alteração da composição ou do estado da água de tal modo que se torne menos adequada para todas ou algumas funções e fins a que pode ser apropriada no seu estado natural<sup>[19]</sup>. O conceito de contaminação é definido como a introdução ou descarga na água de organismos patogénicos ou de substâncias tóxicas que a tornam inadequada para consumo público e/ou usos domésticos, podendo assim a contaminação ser um dos aspetos da poluição<sup>[20]</sup>.

O facto da água não se renovar a velocidade a que os humanos a poluem tem sido um dos principais motivos da poluição das águas, levando assim a alterações no ciclo hidrológico da água. Os poluentes podem ser inorgânicos, orgânicos e biológicos, incluindo-se os microrganismos neste último grupo. São exemplo de poluentes, a presença de microrganismos patogénicos, bem como a presença de excesso de mineralização, detergentes e venenos de origem industrial e agrícola<sup>[12]</sup>. Nos países emergentes, onde a presença de água potável é de escassa acessibilidade, recorre-se ao uso de água que não preenche os requisitos para a sua adequabilidade, isto é água de qualidade inadequada, provocando assim doenças e problemas letais que podem levar à morte do indivíduo.

As principais fontes de poluição da água são a produção agrícola, as indústrias e o uso doméstico que aproveitam os rios, lagos e oceanos como escoamento para as suas atividades mais predominantes. Os pesticidas e fertilizantes libertados pelo setor da agricultura intensiva ou regular são compostos ricos em nutrientes, principalmente dos aniões nitrato e fosfato que causam a contaminação das águas subterrâneas por infiltração dos solos e os rios e lagos através das escorrências superficiais. Na agricultura, as águas residuais que contaminam as águas superficiais e subterrâneas, são as que possuem fertilizantes, pesticidas e herbicidas<sup>[12,21]</sup>.

No caso dos efluentes domésticos de águas residuais não tratados, estes são ricos em matéria orgânica, nitratos, fosfatos, microrganismos e detergentes que motivam a eutrofização dos ecossistemas das águas doces, impossibilitando a penetração da luz na água e a realização da fotossíntese pelas algas, e conseqüentemente provocam o desaparecimento da fauna<sup>[12,20]</sup>.

Em relação à indústria, este setor lança muitas vezes para o sistema aquático, metais pesados e resíduos tóxicos, como é o caso do chumbo e do mercúrio, provocando assim a morte de organismos aquáticos. Por outro lado, as águas residuais industriais podem ser constituídas pelos três tipos de poluentes, físicos, como o calor, químicos e microbiológicos, que são difíceis de quantificar, uma vez que não é possível saber em que forma ou quantidades se encontram<sup>[20]</sup>.

Outra situação que afeta a água e a sua qualidade é a desflorestação, visto que esta pode afetar as reservas de água doce, ao provocar a escorrência superficial e o decréscimo da infiltração da água da chuva, levando a que a recarga dos aquíferos seja menor.

Na **Figura 5** encontram-se algumas das fontes de poluição da água e o seu tipo, isto é, se são dispersas ou localizadas<sup>[21]</sup>. A **Tabela 1** resume os vários tipos de poluentes responsáveis pela contaminação das águas naturais<sup>[21]</sup>.



**Figura 5.** Fontes de poluição da água<sup>[21]</sup>.

**Tabela 1.** Classe de poluentes responsáveis pela contaminação das águas naturais e seus principais efeitos. Adaptada de<sup>[21]</sup>.

<b>Fonte de poluição</b>	<b>Agente de poluição</b>	<b>Efeitos</b>
Centrais de energia e sistemas de arrefecimento	Calor	Diminuição da concentração de oxigénio dissolvido Chuvas ácidas que originam a morte de animais dos cursos de água.
Indústria	Compostos inorgânicos, compostos orgânicos pesados, matéria orgânica, metais pesados, fosfatos	Variação de pH podendo levar à morte de algumas espécies, toxicidade para organismos aquáticos e restante cadeia alimentar.
Agricultura	Nitratos, salinização, compostos orgânicos tóxicos (pesticidas)	Altamente tóxico para os animais e seres humanos, podem provocar o envenenamento e morte por acumulação destes nos tecidos.
Esgotos urbanos e industriais ricos em detergentes e águas residuais de atividades agrícolas por uso excessivo de pesticidas	Nitratos, fosfatos, contaminação microbológica e matéria orgânica	Eutrofização das águas superficiais, carência de oxigénio dissolvido.
Indústria mineira e de papel	Sólidos suspensos	Aumento da turbidez e consequente diminuição da quantidade de luz, deposição de partículas sólidas.
Detergentes e óleos	Surfactantes	Formação de espumas que impedem a troca de oxigénio e dióxido de carbono, afetando o ciclo de vida de alguns seres vivos, como insetos.
Furos e poços mal construídos ou abandonados	Diversos	Transmissão da contaminação de um aquífero para outro.

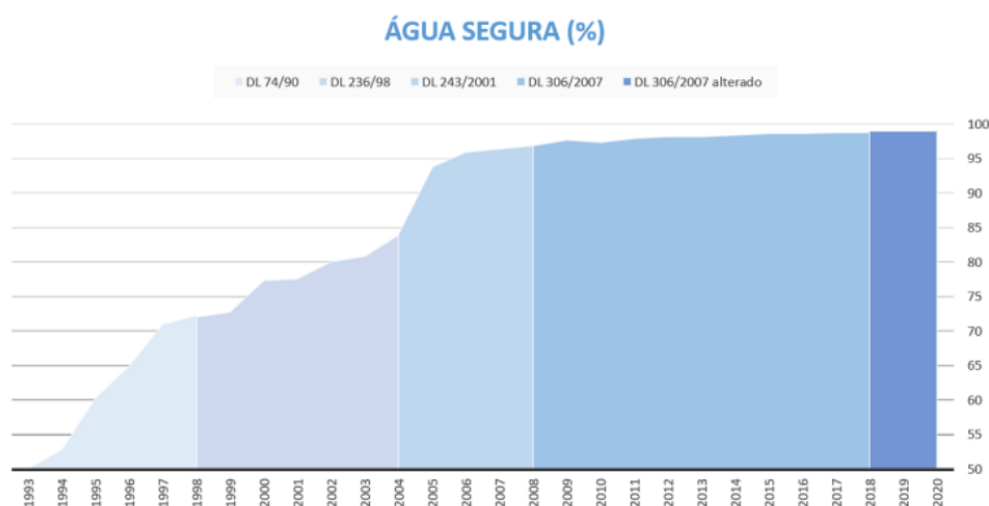
## 1.7. Qualidade da água em Portugal

Em Portugal existe um grande controlo das águas destinadas ao consumo humano pelas entidades competentes. Este controlo é realizado no local de captação na fonte (água bruta), assim como na saída da ETA, antes mesmo de chegar à casa do consumidor, onde já é uma água tratada.

A classificação das águas para consumo humano é baseada em diversos parâmetros físico-químicos e bacteriológicos, cujos valores devem respeitar os estipulados no Decreto-Lei n.º 236/98, de 1 de agosto, para os valores máximos admissíveis (VMA) e para os valores máximos recomendáveis (VMR) <sup>[22]</sup>.

Os resultados obtidos no Relatório Anual dos Serviços de Águas e Resíduos publicado pela ERSAR, mais especificamente no Volume 2 relativo ao “Controlo da Qualidade da Água para Consumo Humano” em 2020, confirmam que a água para consumo humano em Portugal continental apresenta uma excelente qualidade na torneira dos consumidores. O indicador de água segura mantém o seu valor nos 99 %, sendo assim possível garantir aos habitantes que podem beber água da torneira com segurança.

Este indicador, que resulta do produto da percentagem de cumprimento da frequência de amostragem pela percentagem de cumprimento dos valores paramétricos definidos na legislação, evoluiu significativamente em Portugal, passando de 50 % em 1993 para 99 % em 2020, tal como se verifica no gráfico abaixo representado **(Figura 6)** <sup>[23]</sup>.



**Figura 6.** Evolução do indicador água segura entre 1993 e 2020 <sup>[23]</sup>.

Este nível de excelência na qualidade da água em Portugal continental, que se mantém desde 2015, é sustentado por diretrizes jurídicas rigorosas e por um acompanhamento severo e coordenado da aplicação da legislação pelos diversos órgãos no processo (ERSAR, autoridade de saúde, entidades gestoras e laboratórios), que se traduz, ainda numa melhoria progressiva da credibilidade dos resultados analíticos.

No caso de ocorrer um episódio de incumprimento da legislação e sempre que necessário, as entidades gestoras, em articulação a ERSAR e as autoridades de saúde, devem tomar medidas adequadas para garantir a proteção da saúde humana <sup>[23]</sup>.

### 1.8. Legislação aplicada à qualidade da água

A gestão e a proteção da água ultrapassam fronteiras, e por isso a União Europeia tem procurado adotar uma política global para garantir a qualidade das águas superficiais e subterrâneas por toda a Europa. Nesse sentido foi criado um quadro de ação comunitária relativa às águas, sendo o principal diploma legislativo a Diretiva Quadro de Água (DQA) (Diretiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de outubro de 2000), que veio introduzir uma abordagem universal para a gestão e proteção das águas subterrâneas e superficiais das bacias hidrográficas <sup>[24]</sup>. A Diretiva Quadro de Água apresenta objetivos que envolvem a qualidade ecológica, nomeadamente o objetivo de não deteriorar o “estado” das águas e o objetivo de alcançar o “bom estado” que engloba o “bom estado químico” e o “bom estado ecológico” <sup>[24]</sup>. De um modo geral, este diploma legislativo tem como principal função conservar e melhorar o ambiente aquático na comunidade, sendo que esse objetivo é relativo, antes de tudo, à qualidade das águas em foco.

Esta Diretiva foi transposta para o âmbito nacional através da Lei n.º 58/2005, de 29 de dezembro, conhecida como Lei da Água, sendo mais tarde alterada e republicada pelo Decreto-Lei n.º 130/2012 de 22 de junho <sup>[25,26]</sup>. A Lei da Água estabelece normas, critérios e objetivos de qualidade de modo a proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos fins a que se destinam.

A garantia de que a qualidade da água em ambientes aquáticos permanece dentro de limites naturais é essencial para a manutenção de diversas comunidades viáveis de organismos devendo ser adotadas medidas quantitativas.

O Plano Nacional da Água (PNA) aparece descrito no Decreto-Lei n.º 58/2005, que enquanto documento estratégico e prospetivo é um instrumento de gestão das águas que estabelece as

possibilidades da política nacional da água e os princípios e as regras dessa política, a executar pelos planos de gestão de bacias hidrográficas e por outros instrumentos de planeamento das águas<sup>[25]</sup>.

Hoje em dia, o regime da qualidade da água para consumo humano é legislado pelo Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, que provém da segunda da segunda alteração ao Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei n.º 92/2010, de 26 de julho. O atual Decreto-Lei tem como finalidade proteger a saúde humana dos efeitos nefastos resultantes da eventual contaminação da água e garantir a acessibilidade tendencialmente de água saudável, limpa e equilibrada na sua composição<sup>[10,27,28]</sup>.

A experiência tem comprovado que, para muitos dos parâmetros analisados, nomeadamente os físico-químicos, as concentrações presentes dificilmente envolvem uma violação dos valores limite. Contudo, a monitorização e a comunicação de tais parâmetros sem relevância prática implicam custos notáveis, principalmente quando está causa um elevado número de parâmetros. Deste modo, a introdução de frequências de monitorização flexíveis em certas circunstâncias dispõe de potenciais oportunidades de redução de custos, sem condicionar a proteção da saúde humana ou outros valores importantes<sup>[10]</sup>.

Tendo em vista o objetivo de controlar os riscos para a saúde humana, os programas de controlo devem assegurar a existência de medidas ao longo de toda a cadeia de abastecimento de água e analisar as informações provenientes de massas de água utilizadas para a captação de água potável. Em conformidade com o artigo 6.º e o artigo 8.º do presente Decreto-Lei, os PCQA devem ter em conta os parâmetros a que se referem os anexos I e II, inclusive os que são importantes para a avaliação do impacto dos sistemas de distribuição domésticos sobre a qualidade da água na torneira do consumidor<sup>[10]</sup>.

O controlo de qualidade da água de abastecimento é realizado a partir de controlos de rotina (R1 ou R2) e de inspeção, segundo a avaliação de parâmetros que se pretende executar (Anexo II). Ambos os controlos tencionam verificar o cumprimento dos valores paramétricos que estão integrados na legislação. A determinação dos parâmetros correspondentes ao controlo de rotina 2 implica, em simultâneo, a determinação dos parâmetros contidos no controlo de rotina 1 e, identicamente, o controlo de inspeção implica os controlos de rotina 1 e de rotina 2<sup>[10]</sup>.

O controlo de rotina pretende assegurar a informação regular acerca da qualidade organolética e microbiológica da água destinada ao consumo humano, assim como sobre a eficácia dos tratamentos existentes, principalmente a desinfeção. O controlo de inspeção acaba por garantir

um controlo mais alargado da qualidade da água. Os ensaios que levam à verificação do cumprimento da legislação são realizados obrigatoriamente por laboratórios acreditados para esse fim<sup>[10,27]</sup>.

Os parâmetros a analisar por tipo de controlo e a frequência mínima de amostragem e de análise da água destinada para consumo humano fornecida por uma rede de distribuição, por fontanários, por um camião-cisterna ou fornecida por uma empresa da indústria alimentar encontram-se representados pela **Tabela 2** e a **Tabela 3**, respetivamente<sup>[10]</sup>.

**Tabela 2.** Parâmetros a analisar por tipo de controlo. Adaptado de<sup>[10]</sup>.

Controlo de rotina 1	Controlo de rotina 2	Controlo de inspeção
<p><i>Escherichia coli (E.coli)</i> Bactérias coliformes Desinfetante residual</p>	<p>Cheiro. Sabor. pH. Condutividade. Cor. Turvação. <i>Enterococos</i>. Número de colónias a 22°C. Número de colónias a 36°C. Os parâmetros estabelecidos segundo o critério A fixado no n.º 2 do presente anexo. Outros parâmetros considerados relevantes, em conformidade com a avaliação do risco prevista no artigo 14.º-A, estabelecidos segundo o Critério B fixado no n.º 2 do presente anexo.</p>	<p><i>Clostridium perfringens</i>. Alumínio. Amónia. Antimónio. Arsénio. Benzeno. Benzo(a)pireno. Boro. Bromatos. Cádmio. Cálcio. Carbono orgânico total. Cianetos. Cloretos. Cloritos. Cloratos. Chumbo. Cobre. Crómio. 1,2 – dicloroetano. Dureza total. Ferro. Fluoretos. Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos. Magnésio. Manganês. Nitratos. Nitritos. Mercúrio. Níquel. Oxidabilidade. Pesticidas (individuais e totais). Selénio. Sódio. Tetracloroetano e Tricloroetano. Trihalometanos. Dose indicativa (<math>\alpha</math>-total, <math>\beta</math>-total, radionuclídeos). Radão. Trítio. Acrilamida. Epicloridrina. Cloreto de vinilo.</p>



**Tabela 3.** Frequência mínima de amostragem e de análise da água destinada para consumo humano fornecida por uma rede de distribuição, por fontanários, por um caminhão-cisterna ou fornecida por uma empresa da indústria alimentar. Adaptado de<sup>100</sup>.

Volume da água fornecida na zona de abastecimento (metros cúbicos por dia)	Número de amostras por ano		
	Controlo de rotina 1	Controlo de rotina 2	Controlo de inspeção
≤ 100	6	2	1
> 100 e ≤ 1 000	12/5 000 habitantes	4	1
> 1 000 e ≤ 10 000		4 + 3 por cada 1 000 m <sup>3</sup> /dia. + 3 por fração remanescente para o volume total.	
> 10 000 e ≤ 100 000			3 +1 por cada 10 000 m <sup>3</sup> /dia. + 1 por fração remanescente para o volume total.
> 100 000			12 +1 por cada 25 000 m <sup>3</sup> /dia. + 1 por fração remanescente para o volume total.

### 1.9. Análise Química e Microbiológica da água

A água contém, geralmente, inúmeros componentes que provêm do próprio ambiente natural ou foram introduzidos a partir de atividades humanas. Para caracterizar uma água são determinados diversos parâmetros, que se encontram divididos em parâmetros organoléticos, físico-químicos e microbiológicos.

Neste subcapítulo é apresentada uma breve descrição apenas de alguns parâmetros físico-químicos que vão ser estudados no presente trabalho e cuja análise é efetuada no âmbito da atuação do LabAdNorte. É importante realçar que o LabAdNorte também determina parâmetros microbiológicos e radiológicos na caracterização de águas.

### 1.9.1. Parâmetros físico – químicos

As características de uma água dependem da sua utilização. Para o consumo humano há uma necessidade de uma água pura e saudável, isto é, livre de matéria suspensa visível, cor, gosto e odor, de quaisquer organismos capazes de provocar enfermidades e de quaisquer substâncias orgânicas e inorgânicas que possibilitam a produção de efeitos fisiológicos prejudiciais à saúde humana<sup>[29]</sup>. Muitos dos compostos químicos presentes na água não implicam riscos para a saúde, sendo que alguns deles são indispensáveis ao organismo. Outros, apesar de não serem cruciais ao funcionamento dos organismos, não causam malefícios desde que presentes em quantidades moderadas.

Deste modo, torna-se necessário a quantificação dos parâmetros físico-químicos da água, que visa manter o controlo da qualidade e da sua potabilidade, a fim de garantir que não haverá risco de ingestão de microrganismos patogénicos ou ainda alguma substância química que podem causar<sup>[30]</sup>. Neste trabalho apenas serão abordados os seguintes parâmetros físicos: amónio, cálcio, magnésio, sódio e potássio.

#### 1.9.1.1. Amónio

Na gama de pH da maioria das águas naturais, a forma predominante do par ácido-base  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$  é o catião amónio e está presente naturalmente em algumas nascentes de água<sup>[30]</sup>. O amónio presente na água provém maioritariamente de fertilizantes e de processos de degradação de resíduos de origem animal ou vegetal, especialmente devido às atividades agrícolas, pecuárias e industriais<sup>[31]</sup>. O equilíbrio entre a forma iónica ( $\text{NH}_4^+$ , amónio) e a forma gasosa ( $\text{NH}_3$ ) depende das condições do ambiente aquático, nomeadamente do pH e da temperatura<sup>[32]</sup>. Por esta razão, a sua concentração na água, normalmente, é inferior a 0,2 mg/L. O amoníaco pode estar presente em concentrações, mais elevadas nas águas pluviais (0,1-2,0 mg/L), bem como nas águas provenientes de solos ricos em materiais vegetais presentes e em decomposição<sup>[32]</sup>. O catião amónio pode igualmente se formar em águas profundas, por redução microbiana dos nitratos, ou em solos contendo ferro, suscetível, também de induzir processos de oxidação-redução.

Na água de consumo humano, a presença de amónio não apresenta consequências diretas de grande relevância na saúde, uma vez que os efeitos toxicológicos são observados apenas em exposições acima de cerca de 200 mg/kg de peso corporal<sup>[32]</sup>. Contudo, a sua presença pode comprometer a eficiência dos tratamentos de desinfecção, devido à sua reação com o cloro residual livre, com formação de cloraminas e outros produtos organoclorados, eventualmente cancerígenos. Além disso, o amónio pode promover a formação de nitritos nos sistemas de distribuição, prejudicar o desempenho dos filtros para a remoção de manganês e provocar corrosão nas condutas (em especial as de cobre), na sequência da criação de anaerobiose. Por outro lado, o amónio pode constituir meio preferencial para o desenvolvimento de microrganismos responsáveis pela formação de sabores e aromas desagradáveis na água<sup>[33]</sup>.

No que diz respeito às águas subterrâneas, estas não apresentam, geralmente, concentrações elevadas de amónio. No entanto, caso ocorram poderá ser um indicador de potenciais processos de contaminação orgânicas, de origem humana ou industrial. Nas águas superficiais, cujo pH se situa entre os 6,5 e os 8,5, o amónio encontra-se na forma não ionizada, pouco tóxica<sup>[30-32]</sup>.

O Decreto-lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, que estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano, apresentando como objetivo proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da possível contaminação dessa água, indica um valor paramétrico para o amónio de 0,50 mg/L  $\text{NH}_4$ <sup>[10]</sup>.

#### 1.9.1.2. Cálcio

O cálcio (Ca) é um metal da família dos alcalinoterrosos que pertence ao grupo 2 da classificação periódica dos elementos químicos. É o quinto elemento mais abundante da Terra, no qual corresponde a cerca de 3,6 % da massa da crosta terrestre<sup>[34]</sup>. Além disso, o cálcio também é o mineral mais abundante no organismo humano, sendo necessário para a formação e manutenção da matriz óssea, estabilizar membranas de células excitáveis como músculos e nervos, participar do processo de coagulação do sangue e na atividade de diversas enzimas. Na natureza, nunca foi encontrado no seu estado nativo, apresentando-se sempre como constituinte de rochas ou minerais de elevado interesse industrial, nomeadamente carbonatos (mármore, calcita, calcário e dolomita) e sulfatos (gipso).

Outros minerais que contêm Ca são a fluorita (fluoreto), apatita (um fluorofostato de cálcio) e granito (rochas silicatadas). Na sua forma pura, o cálcio revela-se um metal de baixa dureza, prateado e que reage facilmente com o oxigénio presente no ar e na água<sup>[35]</sup>.

A concentração do ião  $\text{Ca}^{2+}$  em águas, depende do tipo de rocha pela qual a água passa, sendo descoberto maioritariamente nas águas na forma de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) ou bicarbonato de cálcio,  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ . Este metal apresenta diversas aplicações, nomeadamente na forma de cal (óxido de cálcio), resultado da calcinação de carbonato de cálcio, que é utilizado em processos industriais como na preparação de cerâmicas, na produção do vidro, na indústria farmacêutica, entre outros. Outras aplicações correspondem ao uso de meta-silicato de cálcio na produção de tintas e plásticos, utilização de fosfato de tri-cálcio com antiácido e o uso de sulfato de cálcio ( $\text{CaSO}_4$ ) para clareamento em indústrias têxteis e de papel<sup>[35]</sup>.

A extração do Ca das águas superficiais pela atividade biológica, a maior solubilidade do carbonato de cálcio em temperaturas mais baixas e a decomposição da matéria em águas profundas são fatores que explicam a presença de uma maior concentração de cálcio nas águas profundas do que em águas superficiais<sup>[34]</sup>.

No que diz respeito à legislação, o Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, não apresenta nenhum valor máximo para a concentração de cálcio presente na água para consumo humano. Porém, não é desejável que a concentração do mesmo seja superior a 100 mg /L Ca<sup>[10]</sup>. As reações formadas por  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , bem como por uma diversidade de iões metálicos, sendo estes dois os principais, mas estando também envolvidos o alumínio, bário e ferro confere à água a característica de dureza que, por sua vez não apresenta má influência na saúde humana. No entanto, pode danificar os meios de transporte de água e até equipamentos domésticos e industriais<sup>[34,35]</sup>.

### 1.9.1.3. Magnésio

O magnésio (Mg) é um metal alcalinoterroso que pertence ao grupo (ou família) 2 da classificação periódica dos elementos químicos, sendo bastante resistente e leve.

É o oitavo elemento em abundância na crosta terrestre, constituindo cerca de 2,5 % da sua massa. Além disso, o magnésio é um dos elementos mais abundantes no corpo humano (cerca de 25 %) e desempenha um papel fundamental em diferentes processos, como a síntese de proteínas, transmissão de impulsos nervosos e relaxamento muscular.

Na natureza, este metal não é encontrado na sua forma livre, no entanto faz parte da composição de inúmeros minerais, sendo os mais importantes industrialmente os depósitos de dolomita,  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ , magnesita  $(\text{MgCO}_3)$ , brucita,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , carnallita,  $\text{KCl} \cdot \text{MgCl}_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$ , serpentina,  $((\text{Mg}, \text{Fe})_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4)$ , kainita  $(\text{MgSO}_4 \cdot \text{KCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O})$  e olivina,  $(\text{Mg}, \text{Fe})_2\text{SiO}_4$ <sup>[36]</sup>.

O Mg apresenta diversas utilizações, como material refratário em fornos para a produção de ferro, na agricultura, indústrias químicas e de construção, como elemento de liga com o alumínio. Também é aplicado em embalagens de bebidas, componentes automotivos e maquinaria, bem como, em flashes fotográficos e na indústria farmacêutica como antiácido e laxante<sup>[34]</sup>.

O consumo diário recomendado (Recommend Dietary Allowances, RDAs) de Mg é relativamente elevado, uma vez que é essencial para uma vida saudável. À medida que um indivíduo envelhece a quantidade de magnésio necessária ao organismo aumenta, variando entre os 30 mg/dia e os 420 mg/dia<sup>[37]</sup>. Este mineral está amplamente distribuído em alimentos vegetais e animais e em bebidas, sendo os vegetais com folhas verdes, frutos secos e cacau algumas das suas fontes. Também é adicionado em cereais matinais e em alimentos fortificados. A baixa ingestão do Mg provoca mudanças nas vias bioquímicas que podem aumentar o risco de doenças ao longo do tempo, nomeadamente, a hipertensão e doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, osteoporose e enxaqueca. O  $\text{Mg}^{2+}$  é um dos iões responsáveis pela dureza da água, como já foi referido anteriormente, sendo assim importante controlar os seus níveis<sup>[36,37]</sup>.

Em termos legislativos, o Decreto-lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, não define nenhum valor paramétrico para o magnésio. Contudo, recomenda que a concentração de magnésio não seja superior a 50 mg /L  $\text{Mg}^{10}$ .

#### 1.9.1.4. Sódio

O sódio (Na) é um metal alcalino, sólido na temperatura ambiente, macio, de coloração branca, ligeiramente prateada. É um elemento muito abundante na crosta terrestre (constitui cerca de 2,8% da sua massa) e devido à sua elevada reatividade encontra-se sempre sob a forma combinada<sup>[38]</sup>. Trata-se de um elemento essencial para muitos organismos que, no entanto, pode ser tóxico para muitas plantas e animais quando presente em concentrações elevadas. Os sais de Na são altamente solúveis em água e não voláteis, sendo possível por isso encontrá-los nas águas subterrâneas e superficiais.

Podem ser provenientes de esgotos domésticos, efluentes industriais ou como resultado da interação com minerais, tais como plagioclases, micas, anfíbolos e piroxenas<sup>[39]</sup>. Teores excessivos de sódio podem provocar problemas devido à falta de capacidade dos rins para a receção de elevadas doses deste composto, no caso dos bebés. No caso dos adultos, podem causar problemas cardiovasculares associados à hipertensão, trombose coronária, cardiopatias ligadas à arteriosclerose, entre outras. No que diz respeito às grávidas, a ingestão de sódio pode provocar retenções de líquidos, sobretudo a nível dos membros inferiores<sup>[38,39]</sup>.

Os teores de sódio em sua maioria, nas águas de consumo encontram-se em valores inferiores que 20 mg de Na/L. No entanto, existem situações em que as águas podem estar expostas a contaminações que resultam em concentrações superiores a 250 mg de Na/L, principalmente, intrusões marinhas, depósitos minerais, efluentes de esgotos e sal utilizado nas estradas para garantir que não haja acumulação de gelo (ao alterar a temperatura de congelação).

Em relação à legislação para as águas de consumo, em Portugal, o Decreto-Lei n.º 152/2017, de 7 de dezembro, define um valor paramétrico para o sódio de 200 mg /L Na<sup>[10]</sup>.

#### 1.9.1.5. Potássio

O Potássio (K) é um elemento químico macio prateado-branco, metálico, alcalino, quimicamente semelhante ao sódio, o qual rapidamente se oxida se exposto ao ar e não é encontrado livre na natureza<sup>[35]</sup>. A maior parte do K está presente em minerais tais como a muscovita, feldspatos, etc., que são insolúveis em água, tornando difícil a obtenção do potássio a partir deles. Este metal surge naturalmente nas águas, variando o seu teor com os contextos geológicos envolventes.

No entanto, ele pode ser obtido comercialmente pela eletrólise de sais fundidos de alguns minérios refináveis, tais como a carnallita,  $KCl \cdot MgCl_2 \cdot 6(H_2O)$  e a *polihalita*,  $K_2Ca_2Mg(SO_4)_4 \cdot 2H_2O$ .

Além disso, o potássio está entre os 10 elementos mais abundantes na crosta terrestre, contribuindo com 2,6% do seu total<sup>[40]</sup>.

O K é essencial na dieta humana sendo o elemento com maior atividade osmótica intracelular. Desempenha um papel de extrema relevância na distribuição de água intra e extracelular, na regulação do equilíbrio ácido-base e no estabelecimento do potencial de membrana essencial à atividade elétrica de fibras nervosas e musculares. Participa ainda no metabolismo energético celular, secreção hormonal e na regulação da síntese proteica e do glicogénio<sup>[41]</sup>.

No metabolismo das plantas, este metal é absorvido do solo na forma de tartaratos e de oxalatos que, por sua vez, podem ser convertidos em carbonatos quando as plantas são queimadas. A deficiência em K provoca sintomas de fraqueza muscular e perda da capacidade cerebral. Para a redução da pressão osmótica e do risco cardiovascular a OMS recomenda uma ingestão de K igual ou superior a 3510 mg/dia para os adultos. Assim para obter as quantidades recomendadas de potássio existe uma variedade de alimentos, incluindo os seguintes: frutas como damascos secos, ameixas e sumo de laranja; vegetais como espinafres, brócolos, tomate e batata; lentilhas, feijão e nozes; leite e iogurte e também carne e peixe <sup>[42]</sup>.

A presença de K em águas de consumo não representa um perigo à saúde humana, uma vez que as mesmas contêm baixas concentrações deste metal. Deste modo, em relação à legislação para as águas de consumo, tanto em Portugal como na União Europeia, não existe nenhum valor paramétrico para o potássio. No entanto, as exceções às reduzidas concentrações devem-se à utilização de permanganato de potássio ( $KMnO_4$ ) como um oxidante no tratamento de águas, às descargas originadas pelas indústrias extrativas e de fábricas (de fertilizantes, vidro, ...), bem como ao uso de cloreto de potássio (KCl) como um amaciador da água, em vez do cloreto de sódio (NaCl). Assim, nos casos de contaminação das águas de consumo devido ao permanganato de potássio, a quantidade de potássio pode ir até 10 mg/L e nas situações de contaminação causadas pela indústria extrativa as concentrações podem alcançar 51 mg/L. Nas águas subterrâneas, a presença de K em pequenas quantidades resulta principalmente da sua participação em processos de troca iónica, por ser facilmente adsorvido pelas argilas e da dissolução de resíduos agrícolas uma vez que é utilizado pelos vegetais como macronutriente <sup>[40,41]</sup>.

### 1.10. Monitorização das massas de água

A monitorização da água representa o primeiro elemento de medida do controlo do estado dos sistemas híbridos, da eficácia das medidas de planeamento e da eficiência das medidas de gestão. De acordo com o Decreto-Lei n.º 58/2005, de 29 de dezembro, a monitorização é descrita como “o processo de recolha e processamento de informação sobre as várias componentes do ciclo hidrológico e elementos de qualidade para a classificação do estado das águas, de forma sistemática, visando acompanhar o comportamento do sistema ou um objetivo específico” <sup>[25]</sup>.

A monitorização a desenvolver no âmbito da DQA apresenta dois importantes objetivos: a monitorização de vigilância que consiste na avaliação do estado das águas (classificação e

apresentação dos resultados), e a monitorização operacional que corresponde a um diagnóstico de problemas (desenvolvimento de soluções e acompanhamento da evolução resultante dos programas de medidas aplicados) <sup>[43]</sup>.

Deste modo, a DQA revela a importância da implementação de uma estratégia, por parte da Agência Portuguesa do Ambiente, APA, I.P, que possibilita a operacionalização de programas de monitorização otimizados, coerentes e com poupança de recursos.

Os programas de monitorização das águas de superfície deverão ser definidos de modo a permitirem a classificação do estado ecológico, ou quando aplicável do potencial ecológico, assim como do estado químico. A monitorização deve ser programada com a finalidade de fornecer os dados necessários para a análise de fatores como a variabilidade dos parâmetros em circunstâncias naturais ou modificadas e a variabilidade sazonal dos mesmos <sup>[43,44]</sup>. Em relação às águas subterrâneas, os programas de monitorização devem ser estabelecidos com o objetivo de determinar o estado quantitativo e o estado químico de todas as massas de águas subterrâneas ou grupos de massas subterrâneas. No caso das águas subterrâneas identificadas como suscetíveis de não alcançarem os objetivos ambientais, os programas de monitorização devem fornecer a informação fundamental para desenvolver os programas de medidas para precaver a poluição e melhorar o estado das águas. Pelo contrário, para as massas de águas subterrâneas transfronteiriças, estes programas apresentam como objetivo fornecer a informação essencial para quantificar os fluxos de águas subterrâneas através das fronteiras, bem como, o transporte de poluentes pelas águas subterrâneas <sup>[43,44]</sup>.

### 1.10.1. Planeamento

O planeamento é a fase inicial de qualquer procedimento, que tem como finalidade definir as atividades de colheitas, preservação, manuseamento e transporte de amostras, de forma garantir as informações essenciais de forma precisa, com o menor custo associado <sup>[45]</sup>.

Esta etapa deverá definir o programa de colheita, tendo em consideração os métodos analíticos a empregar, bem como prever os recursos humanos, materiais e financeiros.

Para um bom planeamento é fundamental a verificação da existência de eventuais características locais nos pontos de colheita que exigem equipamentos ou cuidados específicos, isto é, a determinação cuidadosa dos pontos de colheita. A seleção de um itinerário racional, evitando lugares de tráfego intenso e locais de vegetação que levam ao aumento da possibilidade



de acidentes também é um aspeto essencial para um bom planeamento. É importante também ter em consideração o horário de atendimento e funcionamento dos laboratórios envolvidos para a realização das análises, bem como os prazos de preservação das amostras<sup>[45]</sup>.

Em resumo, a implementação de um plano de amostragem é apenas uma das etapas necessárias à caracterização do meio a ser estudado, em que os ensaios laboratoriais, interpretação de dados, realização de relatórios e tomada de decisões em relação à qualidade desses ambientes são etapas subsequentes que dependem desse mesmo plano<sup>[45]</sup>.

### 1.10.2. Amostragem

De acordo com a Norma ISO 17025:2018 a amostragem corresponde a um procedimento definido, pelo qual uma parte de um material ou produto é retirada de um todo para produzir uma parte representativa, para ensaio ou calibração<sup>[8]</sup>.

O laboratório deve elaborar um plano de amostragem e procedimentos para realizar amostragens de substâncias, materiais ou produtos para posterior ensaio ou calibração.

Enquanto o processo de amostragem deve especificar os fatores a controlar no sentido de garantir a validade dos resultados do ensaio, o plano de amostragem, bem como, o procedimento para realizar amostragens, devem estar disponíveis no local onde esta atividade se realiza<sup>[9]</sup>. O procedimento de amostragem revela-se um elemento crucial do programa de controlo da qualidade da água para consumo humano, uma vez que o resultado da análise não corresponderá ao valor real, independentemente de ser empregue um método analítico rigoroso, se a amostra não for representativa da água a controlar<sup>[46]</sup>. O método de amostragem depende, não só do objetivo da amostragem, mas também da natureza da amostra.

Em resumo, o objetivo da amostragem consiste na recolha de uma porção de material suficientemente pequena para que o seu transporte seja realizável de forma adequada, suficientemente grande para fins analíticos a que se propõe e que, seja ao mesmo tempo, representativa do material a ser amostrado. Este objetivo implica que as concentrações de todos os componentes respeitantes sejam iguais, tanto nas amostras como no material a ser amostrado. Além disso, também implica que a amostra seja manuseada de maneira que não decorram alterações significativas na sua composição antes dos ensaios serem realizados<sup>[47]</sup>.

A amostragem de água pode ter finalidades distintas, tais como, a determinação da sua conformidade com a legislação em vigor, a caracterização ou a identificação de fontes de poluição.

Nas Águas do Norte, S.A., os planos de amostragem são elaborados pelo Cliente Interno, e enviados ao laboratório no final de cada ano civil, onde se encontram definidas as periodicidades de recolha das amostras, bem como os parâmetros a analisar<sup>[45]</sup>.

O LabAdNorte mantém os registos relativos aos dados de amostragem que fazem parte dos ensaios realizados, sendo que esses registos incluem<sup>[45]</sup>:

- Referência ao método de amostragem aplicado;
- Data e hora de amostragem;
- Dados para identificar e descrever a amostra;
- Identificação do pessoal que realiza a amostragem;
- Identificação do equipamento utilizado;
- Condições ambientais ou de transporte;
- Diagramas ou outros meios equivalentes para identificar o local de amostragem;
- Desvios, adições ou exclusões ao método de amostragem e ao plano de amostragem.

### 1.10.3. Colheita de amostras

A colheita da amostra corresponde à etapa inicial do controlo analítico da água, devendo esta ser realizada de modo correto, ser recolhida no recipiente apropriado e nas condições de conservação e transporte adequadas até à análise no laboratório. A escolha da técnica a implementar na colheita de amostras depende da matriz a ser amostrada (água superficial, em profundidade, subterrânea, residuária, tratada, biota aquática, sedimento, entre outras), do tipo de amostragem (amostra simples, composta ou integrada), bem como dos ensaios a serem requisitados (ensaios físico-químicos, microbiológicos, biológicos e toxicológicos)<sup>[45,46]</sup>.

Na fase de preparação das colheitas de amostras é fundamental ter em atenção diversos aspetos, nomeadamente avaliar a adequabilidade e compatibilidade dos meios e procedimentos com o tipo de colheita a realizar, seguindo as instruções descritas fornecidas pelo(s) laboratório(s) encarregues pela realização dos ensaios analíticos sobre os cuidados e as condições de colheita para determinado parâmetro ou grupo de parâmetros, principalmente o tipo de frasco, volume de amostra, modo de enchimento do vasilhame, técnica de preservação (adição de reagente, refrigeração, etc.), transporte de amostra, prazo de entrega das amostras no laboratório e prazos de conservação da amostra (desde o período da colheita até o início da análise)<sup>[46]</sup>.

A amostra simples (pontual ou instantânea) é aquela coletada numa única tomada de amostra, num determinado instante, para a realização das determinações e ensaios. A amostra composta corresponde a um conjunto de amostras simples, coletadas durante um determinado intervalo de tempo e misturadas para constituir uma única amostra homogeneizada. Este procedimento é empregue para possibilitar o decréscimo da quantidade de amostras a serem analisadas, principalmente quando ocorre uma elevada variação de vazão e/ou da composição do líquido. Pelo contrário, a amostra integrada é aquela executada com amostradores que permitem a colheita simultânea, ou em períodos de tempo o mais próximo possível, de alíquotas que serão reunidas numa única amostra <sup>[45]</sup>.

Numa caracterização microbiológica é importante ter em atenção que as amostras apresentam um grau de variabilidade inerente, uma vez que a presença de microrganismos vivos na água não conduz à formação de uma solução perfeitamente homogénea. No sentido de obter resultados mais rigorosos, alguns ensaios físico-químicos devem preferencialmente ser realizados no local de colheita. Existem outros casos em que é mais apropriado a utilização de técnicas de conservação da amostra para que estes se mantenham no seu estado químico original <sup>[47]</sup>.

O Laboratório das Águas do Norte é responsável pela análise de águas de origens diferentes, nomeadamente águas naturais doces (superficiais e subterrâneas), água para consumo humano e águas residuais. Os protocolos de amostragem seguem a Norma ISO 5667-1, ISO 5667-3, ISO 5667-4 (águas de lagos, naturais e artificiais) <sup>[49-51]</sup>, ISO 5667-5 (água para consumo humano) <sup>[48]</sup>, ISO 5667-6 e ISO 5667-11 (águas subterrâneas) <sup>[52-54]</sup>.

O procedimento de colheita de amostras do LabAdNorte define os seguintes requisitos de colheita <sup>[55]</sup>:

- Especificação e preparação do material;
- Preparação de etiquetas para identificação inequívoca das amostras;
- Aspectos específicos de recolha e registos associados;
- Conservação das amostras;
- Transporte das amostras para o Laboratório;
- Receção das amostras no Laboratório;
- Controlo de Qualidade na colheita.

#### 1.10.4. Preservação da amostra

A água, em particular, as águas naturais são suscetíveis de sofrer significativas alterações como resultado de reações físicas, químicas e biológicas que ocorrer entre o momento de colheita e o início das análises se não forem adotados procedimentos de conservação adequados. Deste modo, o tempo de preservação deve ser contabilizado imediatamente após a colheita. A extensão destas alterações depende da natureza química e biológica da amostra, da sua temperatura, exposição à luz, natureza do recipiente em que é colocada a amostra, período de tempo entre a colheita e a análise e condições a que é submetida ao longo do transporte e armazenamento (por exemplo, agitação durante o transporte) <sup>[45]</sup>.

As técnicas de preservação, a seleção adequada dos frascos e a forma de armazenamento apresentam diversos objetivos, entre os quais se destacam: retardar a ação biológica e a alteração dos compostos químicos; reduzir a volatilidade ou precipitação dos constituintes, bem como os efeitos de adsorção; e/ou preservar organismos, impedindo ou minimizando alterações morfológicas, fisiológicas e de densidades populacionais, em todas as etapas de amostragem (colheita, acondicionamento, transporte, armazenamento, até ao momento do ensaio) <sup>[45,47]</sup>. Os processos que podem levar à alteração das características das amostras são os seguintes:

- **Volatilização** que corresponde à perda de substâncias voláteis para a atmosfera e é influenciada pelo vapor de pressão do composto e temperatura da amostra (por exemplo, Compostos Orgânicos Voláteis);
- **Adsorção** que ocorre nas paredes do recipiente, sendo a adsorção de metais nas superfícies de vidro um dos seus exemplos;
- **Atividade Microbiológica**, isto é, a presença de bactérias e algas na amostra pode consumir alguns dos seus constituintes ou produzir outros, nomeadamente
- **Precipitação** que consiste na formação de sais que podem precipitar dependendo do pH e remoção com oxigénio, por exemplo a precipitação de hidróxido de ferro  $[\text{Fe}(\text{OH})_2]$ ;
- **Fotodecomposição**, ou seja, a degradação por exposição por exposição à luz;
- **Reatividade Química**, mais propriamente a oxidação e a redução;
- **Absorção** de componentes atmosféricos, sendo a absorção do dióxido de carbono no ar um exemplo que pode levar à alteração de pH e condutividade.

#### 1.10.4.1. Refrigeração ou congelamento

O procedimento de refrigeração ou de congelamento para ser eficiente é necessário aplicá-lo o mais rapidamente possível. No entanto, para não danificar os recipientes das amostras destinadas a serem congeladas, os mesmos não devem ser colocados no congelador completamente cheios<sup>[45]</sup>.

**Refrigeração** - Diminui a atividade biológica (as taxas de respiração são bastante reduzidas a baixas temperaturas) e as reações químicas e processos físicos são retardados. Este procedimento é empregue frequentemente na preservação de amostras para ensaios microbiológicos, físico-químicos orgânicos e inorgânicos, biológicos e toxicológicos, mas é inapropriado para amostras com atividade enzimática.

**Congelamento** – Diminui ao mínimo reações enzimáticas e oxidativas. Pode promover a rotura da estrutura celular. Técnica inadequada para as amostras cujas frações sólidas (filtráveis e não filtráveis) alteram-se com o congelamento e posterior retorno à temperatura ambiente, e para a maioria das determinações biológicas e microbiológicas.

#### 1.10.4.2. Filtração ou centrifugação

Este método apresenta como principal função a separação das formas insolúveis de analitos a determinar, sendo alguns dos seus exemplos a matéria em suspensão, sedimentos, algas e outros microrganismos que podem ser removidos, por filtração ou centrifugação. É importante salientar que muitas vezes é necessário ter em atenção as seguintes precauções<sup>[50]</sup>:

- Prevenir a contaminação por parte do equipamento de filtração;
- Possível adsorção de vários compostos metálicos e de materiais orgânicos pela superfície da membrana;
- Possível lixiviação de compostos solúveis existentes na membrana para a amostra.

#### 1.10.4.3. Adição de preservantes

Na análise de alguns parâmetros não é suficiente apenas a refrigeração, sendo indispensável a adição de um agente de preservação. Os reagentes de preservação (biocidas, ácidos ou bases - ajuste de pH -, antioxidantes e anticoagulantes) não devem interferir com a análise a ser efetuada e devem ser adicionados, preferencialmente, no momento da colheita,

podendo ser adicionados previamente ao frasco para que a amostra seja preservada desde o primeiro momento. De um modo geral, estes agentes de preservação promovem a estabilização dos constituintes de interesse por um período de tempo maior. Um exemplo é o caso da preservação das amostras destinadas à análise de metais, as quais devem ser acidificadas a pH inferior a 2 e à análise de parâmetros microbiológicos, devendo os frascos estéreis conter tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) para neutralizar o desinfetante residual da amostra <sup>[45,50,55]</sup>.

**pH < 2** – Redução da atividade biológica e química; os iões metálicos mantêm-se no estado dissolvido; previne processos como a precipitação e floculação de compostos metálicos e adsorção à parede dos recipientes. A escolha do ácido depende do parâmetro e método de ensaio.

**pH > 10** – Diminuição da atividade biológica; impossibilita a volatilização de compostos voláteis, sendo o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ) um dos exemplos.

#### **Precauções:**

- Necessidade de preservação o mais rapidamente possível;
- Possibilidade de introdução de fatores de diluição dos analitos;
- Possibilidade de solubilização de constituintes coloidais ou sólidos;
- Possibilidade de existência de interferência com outros parâmetros. Se necessário, colher amostras separadas, uma vez que o ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) pode interferir com carência química de oxigénio (CQO).

#### 1.10.4.4. Proteção da luz

A degradação fotoquímica pode ser evitada armazenando as amostras no escuro ou em frascos de vidro escuro, cobertos por folha de alumínio <sup>[50,55]</sup>.

#### 1.10.4.5. Volatilização

Para reduzir a pressão de vapor é necessário recorrer a recipientes de colheita que possam ser selados e armazenados no frio <sup>[50,55]</sup>.

## 2. Determinação dos cátions sódio, amónio, magnésio, potássio e cálcio

### 2.1. Cromatografia

O termo cromatografia foi utilizado pela primeira vez por *Michael Semenovitch Tswett* em 1906 e descrito como “um método em que os componentes de uma mistura são separados numa coluna adsorvente”<sup>[56]</sup>.

O fundamento desta técnica corresponde a um processo de separação de componentes presentes na mistura de uma amostra pela sua distribuição entre um fluido corrente (fase móvel) e um adsorvente (fase estacionária)<sup>[57]</sup>.

A fase estacionária pode ser sólida, um líquido adsorvido a um sólido ou um gel, sendo que a mesma pode ser empacotada numa coluna ou espalhada por uma superfície, dando origem a uma camada fina<sup>[57]</sup>.

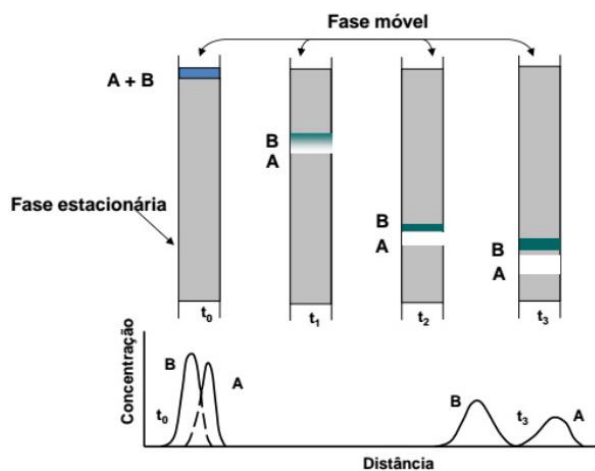
Em relação à fase móvel, também designada de eluente, esta pode ser gasosa, líquida ou um fluido supercrítico, que permite o transporte dos componentes através da fase estacionária<sup>[11]</sup>. Os métodos cromatográficos podem ser classificados de acordo com o estado físico da fase móvel, sendo um gás (cromatografia gasosa), um líquido (cromatografia líquida) ou um fluido supercrítico (cromatografia supercrítica). Entre os métodos nos quais a fase móvel é um líquido temos a cromatografia líquido-líquido – por partição, cromatografia líquido-sólido – por adsorção, cromatografia por exclusão, cromatografia por afinidade, cromatografia quiral e cromatografia de iões – por troca iónica<sup>[58]</sup>.

A amostra a analisar é injetada e transportada pela fase móvel, sendo que, os compostos injetados são arrastados pelo eluente e ao passarem por uma fase estacionária serão retidos atendendo à sua afinidade em relação à coluna. Deste modo, os componentes que revelam uma maior afinidade à fase estacionária são fortemente retidos nesta, pelo que apresentam uma mobilidade menor na fase móvel (movem-se mais lentamente) eluindo mais tarde. Pelo contrário, os componentes da mistura que apresentam pouca afinidade à fase estacionária, terão maior mobilidade na fase móvel e assim vão eluir rapidamente<sup>[11]</sup>.

De um modo geral, na fase estacionária os componentes serão retidos de acordo com a sua afinidade à mesma, determinando assim diferentes tempos para cada componente que se encontra na amostra. Os analitos devem ser solúveis na fase móvel e capazes de interagir com a fase estacionária, seja por dissolução, absorção ou reação química.

Esta diferença de mobilidade permite a separação dos componentes de uma mistura.

A **Figura 7** esquematiza a separação de dois compostos na coluna<sup>[57]</sup>.



**Figura 7.** Funcionamento da Cromatografia<sup>[57]</sup>.

À medida que os compostos da amostra são separados na coluna, os mesmos vão ser detectados, com tempos de retenção ( $t_R$ ), dando origem a um pico cromatográfico.

Num cromatograma, a posição dos picos permite-nos identificar os componentes da amostra, e a área dos picos está relacionada com a concentração dos respectivos compostos, sendo assim possível uma análise qualitativa e quantitativa<sup>[58]</sup>.

A retenção das espécies depende de diversos fatores, nomeadamente do comprimento da coluna, da fase estacionária utilizada, da composição da fase móvel, da temperatura do forno da coluna, do fluxo de gás transportador, do tipo de gás utilizado e das forças intermoleculares entre as fases e as substâncias<sup>[11,56]</sup>.

No entanto, estas técnicas de separação são demoradas, visto que exigem extensos períodos de tempo no tratamento das amostras e na obtenção dos cromatogramas para traçar curvas de calibração.

Outra desvantagem dos métodos cromatográficos é o seu custo elevado, em consequência da elevada pureza dos reagentes utilizados e do equipamento e manutenção associada. Por outro lado, os solventes orgânicos presentes geralmente nas fases móveis apresentam toxicidade para o meio ambiente. Contudo, os métodos cromatográficos fornecem resultados analíticos de boa precisão e exatidão.



### 2.1.1. Cromatografia iónica

O termo cromatografia de troca iónica, também designada por cromatografia iónica (IC) foi apresentado em 1975 pelos pesquisadores Hamish Small *et al.* através da introdução de supressão de condutividade do eluente<sup>[57]</sup>.

Este método moderno e eficaz apresenta princípios estabelecidos na troca iónica e a deteção e determinação de iões integrados na solução da amostra é realizada com base na condutância elétrica<sup>[57,58]</sup>.

A IC compreende uma variedade de modos de separação, nomeadamente, a troca/permuta iónica, exclusão ou cromatografia iónica de quelação, sendo a cromatografia de troca iónica a mais comum<sup>[11]</sup>.

Os processos de troca iónica consistem no equilíbrio de troca iónica em solução com iões na superfície de um sólido (resina)<sup>[59]</sup>.

Esta técnica apresenta muitas aplicações em diversas áreas de conhecimento, em especial na Química, Biologia e Bioquímica, tanto na pesquisa como na indústria.

No campo da Biologia, a cromatografia por troca iónica é utilizada na separação de isoenzimas, baseando-se em processos de diferença de carga elétrica, uma vez que estas macromoléculas apresentam massas moleculares próximas.

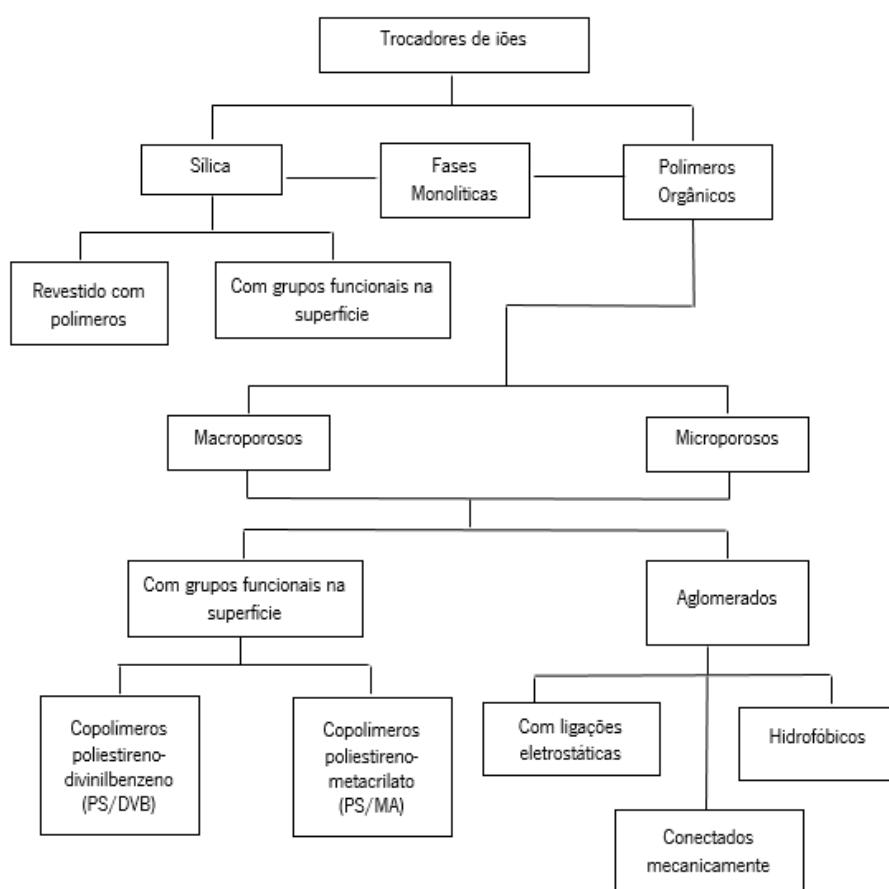
No ramo da Bioquímica, este método vem sendo intensamente empregue em autoanalisadores de aminoácidos<sup>[11]</sup>. Em Química Analítica, pode ser utilizada na determinação de solutos iónicos, como por exemplo, aniões e catiões inorgânicos (fazendo parte também os metais alcalinos, metais alcalino-terrosos, metais de transição e metais de terras raras), ácidos carboxílicos, fosfóricos e sulfúricos, hidratos de carbono, detergentes, bases orgânicas e complexos de metais iónicos com baixo teor de peso molecular. Nesta vasta gama de compostos, os aniões inorgânicos (brometo, cloreto, fosfato, fluoreto, nitrato, nitrito e sulfato) são os de maior interesse para uma análise simultânea, revelando-se assim ser a principal aplicação desta técnica, frequentemente, por um supressor químico acoplado à deteção de condutividade<sup>[11]</sup>.

A separação dos componentes envolve duas fases, uma fase móvel (gasosa ou líquida) e outra estacionária (líquida ou sólida), e baseia-se na diferente capacidade de os compostos iónicos ou ionizados permutarem com os iões da fase estacionária.

Deste modo, quanto mais forte for a carga sobre o composto, mais forte é a atração para a superfície iónica e, portanto, mais tempo vai demorar a eluir<sup>[59]</sup>.

A composição da fase móvel, o tipo de fase estacionária, as forças intermoleculares entre as fases e as substâncias e a temperatura são os principais fatores que influenciam o tempo de retenção<sup>[52]</sup>. A fase estacionária corresponde a uma resina polimérica que contém sítios ativos funcionais colocada no interior de uma coluna. Assim, a coluna deve ser selecionada de maneira que a fase estacionária seja ionicamente carregada com carga oposta aos iões da amostra<sup>[59]</sup>.

As fases estacionárias utilizadas nas colunas de cromatografia de troca iónica podem ser classificadas de acordo com as suas aplicações e capacidades de troca iónica, como se encontra apresentada na **Figura 8**<sup>[60]</sup>.



**Figura 8.** Fases estacionárias usadas na cromatografia iónica. Adaptada de <sup>[60]</sup>.

A fase móvel é um líquido que flui através do sistema cromatográfico, cuja função é conduzir a amostra para integrar-se com a fase estacionária.

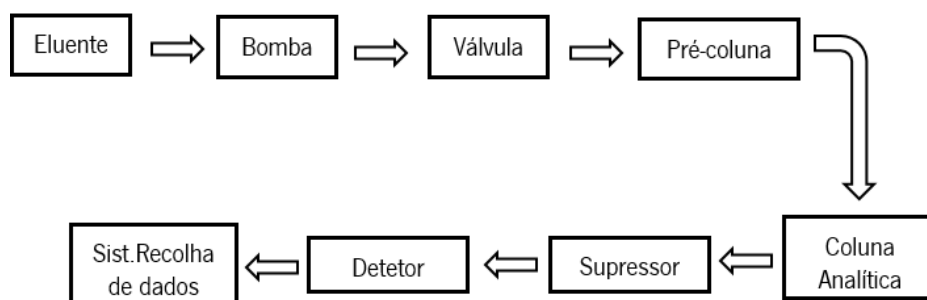
Na análise de catiões, também denominada cromatografia de troca catiónica, a fase estacionária contém grupos de carácter ácido ( $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{PO}_4\text{H}_3$ ) e os eluentes mais comuns são o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ou ácido metanossulfónico ( $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ ) para catiões.

Para a determinação de aniões, também denominada cromatografia de troca aniônica, a fase estacionária apresenta carácter básico ( $-\text{CH}_2\text{-NR}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-NR}_3^+$ ) e os eluentes mais utilizados são o hidróxido de sódio (NaOH) ou carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )<sup>[57]</sup>.

Desta forma, recorrendo à cromatografia de troca iónica é possível a determinação de diversos iões com elevada precisão e rapidez e simultaneamente a separação de espécies químicas do mesmo elemento<sup>[55]</sup>. Em resumo, a cromatografia de iões (IC) é uma técnica sensível e seletiva para a separação, deteção e quantificação de uma ou mais espécies iónicas em solução.

#### 2.1.1.1. Sistema da cromatografia iónica

O sistema de cromatografia iónica é constituído essencialmente, por um eluente líquido, uma bomba de alta pressão, uma válvula de injeção de amostras, uma pré-coluna, uma coluna analítica, um detetor de condutividade com ou sem supressão química e por fim um sistema de recolha de dados, conforme apresentado na **Figura 9**<sup>[58,61]</sup>.



**Figura 9.** Diagrama representativo dos componentes de um sistema de IC. Adaptado de<sup>[57]</sup>.

A função do eluente, ou fase móvel, consiste em competir com os iões da amostra pelos iões da fase estacionária e separar/eluir os iões presentes na amostra, num espaço de tempo razoável, em bandas bem definidas. Deste modo, o principal componente do eluente é o ião de competição<sup>[60]</sup>. Na escolha do eluente é importante ter em atenção alguns fatores para não afetar as características da eluição dos iões da amostra, nomeadamente a compatibilidade com o modo de deteção, o pH e a natureza e concentração do ião de competição<sup>[62]</sup>.

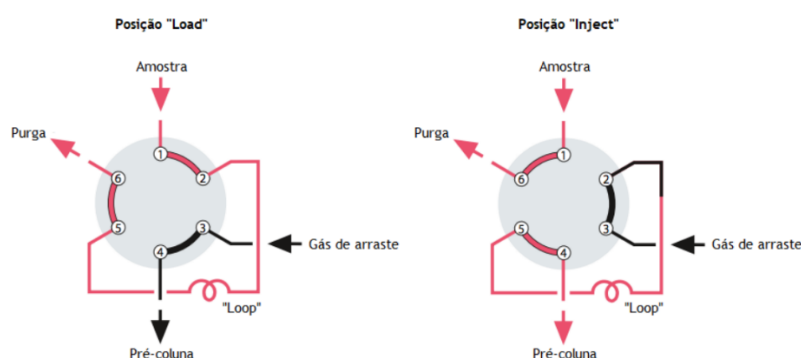
Quando, ao longo da separação, a composição do eluente permanece constante, a eluição é designada de isocrática, sendo a mesma capaz de separar um número limitado de picos<sup>[63]</sup>. Pelo contrário, na separação por gradiente, ocorre a mudança na composição da fase móvel durante a

análise, com a variação da proporção entre os gradientes, que geralmente diferem entre si na polaridade. Além disso, este modo de separação melhora a eficiência de separação uma vez que o tempo de análise (tempo de retenção) é reduzido. Outras das suas vantagens estão relacionadas com o aumento da resolução e com a reprodução de picos mais finos e mais simétricos. O eluente também tem como função a realização da limpeza da coluna analítica entre uma injeção e outra <sup>[61]</sup>.

A bomba impulsiona o eluente pelo sistema, a um fluxo preciso e controlado. Esse fluxo deve ser constante como garantia de reprodutibilidade, sensibilidade e resolução da análise.

A utilização de alta pressão é essencial para acelerar a análise, uma vez que, as partículas exercem alta pressão ao fluxo da fase móvel <sup>[58,61]</sup>.

Na válvula, ou injetor, a amostra (ou solução padrão) é inserida num *loop*, selecionado tendo em conta o volume de injeção pretendido, que doseia a quantidade da amostra a ser analisada. Esta vai ser arrastada pelo eluente (fase móvel) ao longo do sistema até alcançar a coluna (fase estacionária) onde acontece a separação. Assim, é possível eliminar o erro do operador, bem como eliminar a amostra anterior, evitando a contaminação cruzada <sup>[11,61]</sup>. Este sistema de instrumentação funciona em duas posições: *LOAD* e *INJECT*. Na posição *LOAD*, o eluente flui pela válvula de injeção, sem passar pelo *loop*, enquanto a amostra é introduzida neste. Pelo contrário, na posição *INJECT*, o eluente é bombeado para o loop arrastando a amostra para a coluna analítica, como representado na **Figura 10** <sup>[11,61,64]</sup>.



**Figura 10.** Representação de uma válvula de injeção na posição LOAD e na posição INJECT <sup>[64]</sup>.

A pré-coluna previne as contaminações da coluna analítica, retendo possíveis contaminantes orgânicos e pequenas partículas, permitindo um aumento do tempo de vida da coluna analítica, sendo utilizadas na frente das colunas separadoras da análise de aniões ou

catiões. Esta coluna de guarda possui o mesmo diâmetro e fase estacionária, mas um menor comprimento em comparação com a coluna, não havendo assim interferência na análise.

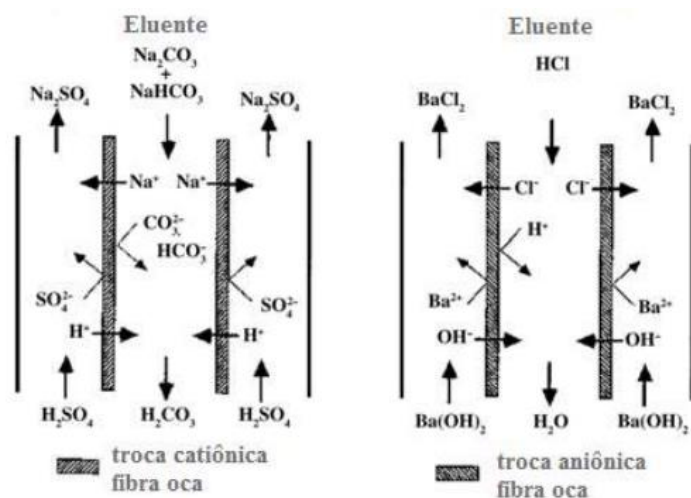
As colunas analíticas para IC são, habitualmente, compostas por uma resina insolúvel (matriz) que apresentam iões fixos de carga oposta aos iões do analito. Os iões do eluente atuam como contra iões, isto é, iões de carga contrária aos da coluna <sup>[59,61,63]</sup>.

A eficiência da separação dos iões da amostra depende fortemente da interação presente entre eles e os grupos funcionais da fase estacionária.

Os iões da amostra com carga idêntica aos dos grupos funcionais da fase estacionária são eluídos, enquanto os iões de carga oposta podem ser substituídos pelos iões do soluto com a mesma carga, ficando os últimos provisoriamente retidos <sup>[59]</sup>.

Para aumentar a seletividade da coluna, o grupo de permuta iônica deve ser hidrófilo <sup>[11]</sup>. Quase sempre o permutador de iões corresponde a um polímero complexo cuja carga elétrica é neutralizada pelas cargas dos contra iões. As diferenças nas velocidades levam à separação em zonas ou bandas ao longo do comprimento da coluna.

A introdução do supressor após a coluna analítica e antes da célula detetora tem como função reduzir a condutividade do eluente para valores baixos, convertendo-o maioritariamente em água, bem como aumentar a condutividade inerente ao analito. Este dispositivo também é utilizado para converter as espécies da amostra numa única forma iônica, aumentando a sensibilidade da deteção <sup>[11,59]</sup>. A supressão pode ser eletrolítica (quando é aplicado um potencial elétrico para facilitar o transporte de iões) ou química. Na **Figura 11** é apresentada esquemas de funcionamento de supressora química <sup>[65]</sup>.



**Figura 11.** Esquema de operação de supressora química de troca aniônica e catiônica <sup>[65]</sup>.

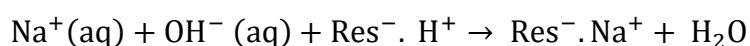
Na determinação de cátions, como por exemplo de metais alcalinos, é utilizado na coluna separadora (coluna analítica) um trocador catiónico do tipo forte, de baixa capacidade, na forma de H<sup>+</sup> e um trocador aniónico do tipo forte de elevada capacidade, na forma de OH<sup>-</sup>, no dispositivo de supressão. O eluente corresponde a uma solução diluída de HCl ou HNO<sub>3</sub>.

Os iões separados na coluna analítica entram na coluna supressora onde ocorre a troca de iões cloreto pelos iões hidroxilo (OH<sup>-</sup>) e estes reagem com os iões de hidrogénio do eluente. Assim, o sinal da condutividade elétrica do eluente é reduzido e os hidróxidos dos metais alcalinos entram no detetor com uma condutividade de fundo correspondente à da água desionizada<sup>[61,65]</sup>.

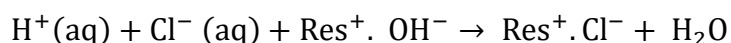
Para a análise de aniões, utiliza-se, frequentemente, um trocador aniónico de base forte, de baixa capacidade, na forma de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, na coluna analítica e um trocador catiónico do tipo forte, de alta capacidade, na forma de H<sup>+</sup> no dispositivo de supressão. Neste caso, o eluente é uma solução de bicarbonato de sódio/carbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) e os aniões separados são detetados na forma de seus ácidos fortes numa solução cuja condutividade de fundo é a de uma solução de ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)<sup>[57]</sup>. Os processos de troca iónica consistem no equilíbrio de troca iónica em solução com iões na superfície de um sólido (resina).

As reações no supressor das análises aniónicas e catiónicas são representadas pela **Equação 1** e **Equação 2**, respetivamente<sup>[65]</sup>:

#### Equação 1



#### Equação 2



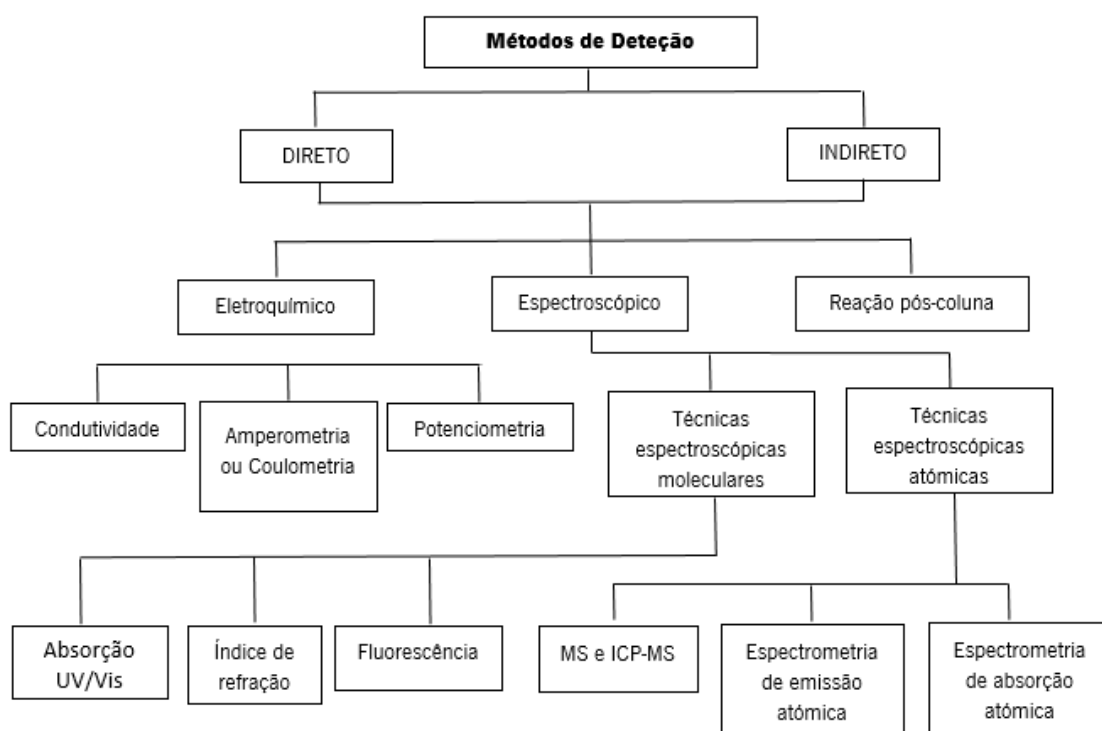
No final deste processo, os supressores são regenerados, através da passagem de uma solução regenerante, com o objetivo de recuperarem a sua forma ácida ou básica consoante se trate de análise de aniões ou cátions, respetivamente<sup>[59]</sup>.

A cromatografia iónica com um supressor químico acoplado à deteção de condutividade é amplamente usada e, geralmente, oferece um bom desempenho<sup>[11]</sup>.

#### 2.1.1.2. Detetores

Atualmente, existem inúmeros sistemas de deteção que são empregues em análise por cromatografia iónica. Alguns requisitos de um detetor são a alta sensibilidade de medição, a

obtenção de um sinal de medição proporcional à concentração do analito, pequenas ou mínimas variações na linha de base e baixo ruído de fundo <sup>[61]</sup>. Dividem-se em duas grandes classes, os eletroquímicos, tais como, os detetores amperométricos, potenciométricos e de condutividade, e os espectroscópicos, dos quais fazem parte os detetores UV/Visível, fluorescência, entre outros, como a **Figura 12** apresenta <sup>[63]</sup>.



**Figura 12.** Divisão dos métodos de detecção para cromatografia iônica. Adaptada de <sup>[63]</sup>.

A detecção mais comum neste tipo de cromatografia é a eletroquímica recorrendo a um detetor universal de condutividade, sendo o mesmo aplicável em aniões e catiões com  $pK_a$  ou  $pK_b$  inferiores a 7, respetivamente <sup>[11]</sup>.

O detetor de condutividade traduz-se numa célula de fluxo incluindo dois elétrodos de platina entre os quais circula o eluente da coluna, os componentes eletrónicos essenciais para efetuar a medida da condutância da solução e um dispositivo que revela a leitura do valor medido.

Contudo, em consequência da elevada capacidade de algumas colunas de troca iônica, para eluir a maioria dos iões em solução são necessárias concentrações de eluente consideráveis. Um dos problemas de medição resulta da elevada condutividade da fase móvel que não permite a leitura dos iões presentes. Nestas situações, a condutividade da fase móvel pode então mascarar a condutividade dos iões eluídos, reduzindo assim a sensibilidade do detetor. A solução para este problema consiste na introdução de uma coluna supressora com uma segunda resina de troca

iônica que converte os iões do solvente em espécies moleculares de ionização limitada, permitindo assim que os iões do analito não sejam afetados.

Outra limitação da cromatografia iônica com detecção condutimétrica é a impossibilidade de determinar diretamente catiões e aniões cujos ácidos ou bases conjugados apresentem valores de  $pK_a$  ou  $pK_b$  superiores a 7, respetivamente.

Em resumo, os detetores de condutividade elétrica são altamente sensíveis, respondem de forma previsível às alterações na concentração de iões, são de fácil operação e baixo custo de construção e manutenção. Além disso, estes dispositivos baseiam-se na medida da diferença de condutividade elétrica dos iões em solução quando aplicado um campo elétrico entre dois eletrodos numa célula de fluxo<sup>[60,62,66]</sup>.



### 3. Validação de métodos analíticos

A validação dos métodos implementados por um laboratório é geralmente um pré-requisito para a acreditação de laboratórios que é desenvolvida pelo organismo de acreditação, IPAC (Instituto Português de Acreditação), responsável por avaliar as competências do Laboratório na realização de determinados ensaios e calibrações. Antes que um procedimento possa fornecer dados analíticos, é essencial demonstrar que o laboratório se encontra capacitado em disponibilizar resultados aceitáveis. Deste modo, para um controlo efetivo dos resultados, bem como para a garantia da interpretação e confiabilidade dos mesmos, o método analítico é sujeito a um conjunto de etapas de avaliação, que asseguram a sua validação<sup>[67]</sup>.

Segundo a norma ISO/IEC 17025:2017 – *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*<sup>[9]</sup>, a validação de um método analítico consiste na “comprovação, através de evidências objetivas, de que o método cumpriu os requisitos para uma aplicação ou uso específico pretendido”.

A validação de métodos também pode ser descrita como o processo de definição de requisitos analíticos e confirmação de que o método em questão apresenta recursos compatíveis com que a aplicação exige, ou seja, a validação do método possibilita demonstrar que um método é “adequado para o propósito”<sup>[68]</sup>. De um modo geral, o principal objetivo da validação tenciona confirmar que as características do método satisfazem as especificações exigidas para os resultados analíticos, bem como determinar limites de controlo a aplicar no trabalho de rotina<sup>[68]</sup>.

É importante referir que para o bom funcionamento e desempenho da validação de resultados deve existir um Sistema de Garantia da Qualidade, compreendendo aspetos nomeadamente relativos à formação e qualificação do pessoal, organização e distribuição de responsabilidades, calibração e domínio de equipamentos, conhecimento e validação dos métodos analíticos, bem como, gestão e manuseamento de amostras<sup>[69]</sup>. A revalidação do método ocorre sempre que acontece alguma alteração nas características de métodos normalizados validados, uma vez que na implementação de novos métodos de ensaio é realizada a validação do mesmo.

Os métodos usados em laboratório podem ser normalizados ou não normalizados e, por isso, o processo de validação vai depender da sua natureza.

Os métodos normalizados correspondem aos métodos de ensaio que seguem uma norma ou documento normativo equivalente, assumindo que os mesmos foram adequadamente validados, estando sujeitos a uma atualização periódica. Além disso, estes métodos são reconhecidos pela comunidade laboratorial nacional ou internacional<sup>[68,70]</sup>.

No entanto, o laboratório necessita de verificar o desempenho destes métodos, isto é, devem obter-se evidências objetivas de que o método é capaz de reproduzir os requisitos definidos aquando da sua validação <sup>[68]</sup>.

Pelo contrário, os métodos não-normalizados ou internos, correspondem a métodos que podem ser adaptados ou modificados a partir dos métodos normalizados, métodos integralmente desenvolvidos pelo laboratório e todos os outros que não encontram no grupo de métodos normalizados <sup>[68,70]</sup>.

A validação dos métodos deve ser adaptada a cada caso, sendo progressivamente menos exigentes em determinadas situações <sup>[71]</sup>:

Aumento da exigência ↑

- Métodos não normalizados desenvolvidos no próprio laboratório;
- Métodos não normalizados descrito em literatura científica;
- Métodos normalizados, mas usados fora do âmbito para os quais foram desenvolvidos;
- Amplificação ou modificação de métodos normalizados quando as condições para as quais o método foi validado se alterarem.

Para além disso, estes métodos devem ser verificados regularmente.

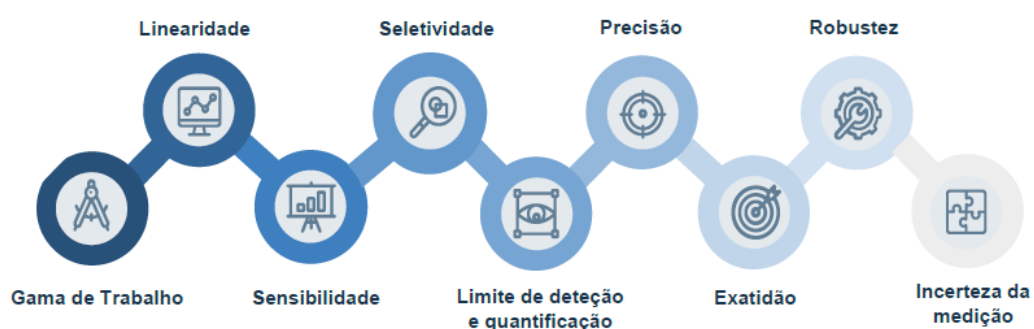
A validação é importante, não só para os laboratórios ou instituições como também para os clientes destes, na medida em que é fundamental saber selecionar o método que melhor se adapta a cada análise e assegure a validade dos resultados.

Os requisitos mínimos para a validação de métodos internos de ensaio dependem do tipo de método em causa e compreendem o estudo e conhecimento de determinados parâmetros, nomeadamente a gama de trabalho e linearidade, linearidade, sensibilidade, seletividade, limiares analíticos (deteção e quantificação), precisão, exatidão e robustez <sup>[70]</sup>. Em análises qualitativas, o limite de deteção, a seletividade/especificidade e a robustez são os parâmetros de desempenho mais relevantes na validação. Deste modo, o Laboratório tem a responsabilidade de analisar quais os parâmetros que pretende incluir no seu plano de validação, perante o tipo de metodologia em causa. O processo de validação envolve o estudo de parâmetros por avaliação direta e por avaliação indireta e deverá pelo menos englobar as etapas ou alterações cuja validação não tenha sido feita por um organismo reconhecido. O controlo químico da qualidade, bem como a estimativa da incerteza atendendo às diretrizes da norma ISO 11352:2012 também estão incluídos no processo de validação <sup>[72]</sup>.

Os testes estatísticos, recorrendo a determinados critérios estatísticos, auxiliam a tomar decisões na interpretação de resultados. Estes testes devem ser efetuados com base numa determinada sequência lógica de procedimento: formulação do problema seleção do teste, estabelecimento do nível de confiança, escolha das hipóteses de trabalho, simetria do teste, cálculo do teste, comparação com o valor crítico e conclusão final <sup>[73]</sup>. Nestes testes são formuladas duas hipóteses, designadas hipótese nula ( $H_0$ ) e hipótese alternativa ( $H_1$ ). A  $H_0$  deve ser formulada no sentido de não haver diferença, isto é, no sentido da igualdade, enquanto a  $H_1$  incide sobre a diferença significativa, ou seja, da desigualdade e é estabelecida de forma a abranger o universo complementar da  $H_0$ . É importante enfatizar que o fato da  $H_0$  não ser rejeitada significa somente que não foram obtidas evidências de que a mesma seja falsa <sup>[73,74]</sup>. Os valores críticos estão tabelados de acordo com o nível de significância e com o número de graus de liberdade (G.L), sendo estes responsáveis por definir as regiões de aceitação e de rejeição das hipóteses anteriormente formuladas <sup>[73]</sup>. Os diversos testes estatísticos relevantes ao objetivo do presente estudo serão apresentados no **Anexo A**.

### 3.1. Parâmetros de desempenho

Os parâmetros de desempenho, nomeadamente a sensibilidade, a gama de trabalho, os limiares analíticos (limite de deteção e limite de quantificação), a seletividade, a justeza, a precisão e a incerteza, além de permitirem avaliar as características de um método analítico, também permitem inferir acerca da competência do método para satisfazer os requisitos para o qual foi desenvolvido. Deste modo, é essencial definir quais os parâmetros de desempenho a avaliar na validação de um método analítico (**Figura 13**) <sup>[75]</sup>.



**Figura 13.** Parâmetros de desempenho usuais de um estudo de validação de métodos analíticos. Adaptada de <sup>[75]</sup>.

### 3.1.1. Curva de calibração

Em química analítica, mais especificamente em análises quantitativas, a calibração é parâmetro que relaciona a resposta de um sistema de medida com uma concentração ou uma quantidade de substância conhecida, em condições específicas, sendo assim realizada uma representação gráfica que vai dar origem a uma curva de calibração. De um modo geral, numa curva de calibração a resposta obtida pelo instrumento de análise encontra-se representada no eixo das ordenadas ( $y$ ), enquanto a variável em estudo encontra-se representada no eixo das abcissas ( $x$ )<sup>[76]</sup>. Através da curva de calibração é possível obter dados estatísticos da intersecção, equação de regressão, coeficiente de correlação ou de determinação, bem como a concentração estimada a partir das soluções padrão. É importante referir que o traçado da curva de calibração deve ser elaborado a partir de padrões com concentrações equidistantes de acordo com a gama de trabalho determinada. Além disso, numa curva de calibração, é fundamental aferir de que forma ocorre a relação entre a resposta obtida e a concentração, podendo ser linear, quadrática, logarítmica, curvilínea, entre outros. No presente estudo, o modelo de regressão linear será o único a ser abordado, admitindo o método dos mínimos quadrados como principal critério.

A partir do método dos mínimos quadrados, a resposta instrumental obtida no equipamento encontra-se representada no eixo vertical (eixo  $y$ ) e as concentrações dos padrões no eixo horizontal (eixo  $x$ ). Além disto, pressupõe-se que, ao longo da reta, o sinal obtido assume uma distribuição normal e que existe homogeneidade de variâncias desta mesma resposta<sup>[77]</sup>. As equações necessárias para a determinação dos parâmetros estatísticos relativos ao estudo da curva de calibração encontram-se representadas no **Anexo B**.

### 3.1.2. Linearidade

A linearidade de um método analítico consiste na capacidade de obter resultados diretamente proporcionais à concentração de analito dentro de um intervalo específico. Este parâmetro de desempenho é estudado na fase de validação e na execução do método em rotina<sup>[70,71]</sup>.

O teste  $t$  para o  $r$  (teste de significância) é uma ferramenta estatística que pode ser aplicada para avaliar a linearidade de um método analítico, ou seja, avaliar se o modelo eleito é aquele que apresenta um melhor ajuste dos resultados obtidos. Também, a linearidade é fundamentalmente avaliada com recurso a um modelo estatístico, de acordo com a norma ISO

8466-1, denominado teste de Mandel<sup>77</sup>. As equações normalmente utilizadas na realização destes modelos estatísticos encontram-se representadas no **Anexo C**.

### 3.1.3. Gama de trabalho

No sentido de os analistas, definirem o intervalo de concentrações em que o analito possa ser determinado e quantificado de forma precisa, exata e com linearidade exigida, tendo em atenção as condições estabelecidas pelo método, a escolha da gama de trabalho ótima é uma etapa fundamental.

A gama de trabalho define-se como o intervalo de concentração de analito para o qual o método é capaz de fornecer uma resposta com um valor de precisão e justeza aceitáveis. A extremidade inferior da gama de trabalho é definida pelo limite de quantificação, enquanto a extremidade superior da gama de trabalho é definida pelas concentrações onde são observadas anomalias significativas na sensibilidade analítica<sup>[11,70,71]</sup>. Para que a avaliação da gama de trabalho seja possível, é essencial considerar o procedimento de calibração proposto e a linearidade do método. Por outro lado, é fundamental considerar separadamente os dois tipos existentes: a gama de trabalho instrumental (elaborada durante o procedimento experimental) e a gama de trabalho do método.

Nas situações em que se utiliza uma metodologia que envolve a construção de uma curva de calibração, a gama de trabalho pode ser avaliada recorrendo ao teste de homogeneidade de variâncias. A norma ISO 8466-1 é recomendada para modelos lineares e a norma ISO 8466-2 para modelos polinomiais de 2º grau. Para métodos que não envolvam a elaboração de curvas de calibração, a gama de trabalho terá de ser antecipadamente definida e pode ser função de alguns fatores, nomeadamente, a quantidade de amostra disponível ou uma boa visualização dos pontos de viragem e volumes gastos nas situações de volumetrias<sup>[70]</sup>.

No teste de homogeneidade de variâncias, é efetuada, em primeiro lugar, uma comparação estatística da variância do padrão de menor concentração com a variância do padrão de maior concentração da curva. Atendendo ao que se encontra descrito na norma ISO 8466-1, devem ser analisadas dez soluções padrão do analito (pelo menos 6) distribuídas de igual modo na gama de concentrações. Assim, as variâncias associadas ao primeiro e último padrão ( $S^2_1$  e  $S^2_2$ ) são testadas para verificar se existem diferenças significativas entre elas, recorrendo ao cálculo do valor de PG, de acordo com as **Equações A3** ou **A4 (Anexo A)**<sup>[70,75]</sup>.

O valor de PG calculado é comparado com o valor tabelado da distribuição F de *Fischer Snedecor* bicaudal para n-1 G.L no numerador e no denominador e, 95 % de confiança. Se  $PG \leq F$ , as diferenças entre as variâncias não são significativas e a gama de trabalho está bem ajustada. Contudo, se  $PG > F$ , existem evidências de diferenças significativas entre as variâncias e, conseqüentemente a gama de trabalho não está bem ajustada. Deste modo, deve-se avaliar a possibilidade de reduzir a gama de trabalho até que a diferença entre as variâncias do primeiro e último padrão permitirem que o valor de PG seja igual ou inferior a F, ou deve-se usar uma regressão ponderada. Em suma, através do estudo da homogeneidade das variâncias, é possível aferir se o método mantém um comportamento constante e similar ao longo de toda a gama de trabalho pretendida <sup>[11,70,71,78]</sup>.

#### 3.1.4. Sensibilidade

Após a seleção do modelo que melhor se ajusta aos resultados experimentais, a sensibilidade é um dos parâmetros de desempenho do método que pode ser determinado. Este parâmetro permite avaliar a capacidade do método em distinguir pequenas diferenças entre duas concentrações próximas de analito para um determinado nível de confiança <sup>[13]</sup>. Na prática, a sensibilidade pode ser definida como a razão entre a variação da resposta experimental ( $\Delta y$ ), que corresponde a uma variação da concentração de analito ( $\Delta x$ ), tal como se verifica na **Equação 3** <sup>[68,71]</sup>.

#### Equação 3

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\Delta y}{\Delta x}$$

Deste modo, um método é considerado sensível quando pequenas variações na concentração (x) dão origem a alterações significativas na resposta obtida (y). Este parâmetro de desempenho, define-se como sendo a derivada de primeira ordem da curva de calibração nessa zona de concentração. Nas situações em que a curva de calibração é definida por um modelo linear, a sensibilidade será constante ao longo de toda a gama de trabalho e igual ao declive da reta de calibração.

A sensibilidade é um parâmetro de validação que apresenta bastante interesse na sua determinação, quando se pretende averiguar a sua evolução ao longo do tempo, ou para

comparação com diversos métodos analíticos, baseados em modelos lineares, para um mesmo analito, ou ainda para comparação para diferentes analitos<sup>[70,75]</sup>.

Em resumo, quanto maior for a sensibilidade do método, melhor é a capacidade que este apresenta para diferenciar soluções com concentrações de analito muito próximas<sup>[71]</sup>.

### 3.1.5. Seletividade

A seletividade mede a capacidade de um método identificar e distinguir o(s) analito(s) numa mistura ou matriz sem interferências de outros componentes de comportamento semelhante presentes<sup>[75]</sup>. De um modo geral, o estudo da seletividade permite averiguar possíveis interferências causadas pelos componentes que compõem a matriz gerando, por sua vez, uma diminuição ou amplificação do sinal instrumental ou resposta instrumental do analito<sup>[67]</sup>. Deste modo, um método é seletivo se for demonstrado que este é capaz de gerar uma resposta que é proveniente apenas da presença do analito em estudo e não, de outras substâncias presentes na amostra a analisar que possam interferir com a resposta obtida. O estado limite de uma seletividade perfeita é designado especificidade<sup>[70,71]</sup>.

A forma mais simples de avaliar a presença de interferentes, ou seja, de estudar a seletividade, consiste na realização de ensaios de recuperação (ER), sendo os mesmos os únicos a abordar no presente estudo. Nestes ensaios, efetuados ao longo do tempo, é utilizada uma série de amostras, com a mesma matriz, em que apenas se faz variar a concentração de analito em proporções bem conhecidas e ao longo de toda gama de trabalho. Além disso, é fundamental que as amostras sejam analisadas em duplicado e em condições de repetibilidade.

Na prática, um método analítico pode ser considerado aplicável (específico e seletivo) quando a média das taxas de recuperação determinadas estiver próxima dos 100 %, atendendo às **Equações D1** ou **D2 (Anexo D)**. No entanto, na maioria dos casos, a dispersão dos resultados aumenta com a diminuição da concentração e a  $R'$  pode diferir substancialmente a altas e baixas concentrações, ou seja, a  $R'$  depende da concentração do analito.

Por este motivo, a  $R'$  deve ser avaliada em três níveis de concentração da gama de trabalho, sendo da responsabilidade do Laboratório, que realiza os ensaios de recuperação, estabelecer a gama de  $R'$  aceitável para cada uma delas, isto é, ter critérios de aceitação relativos às taxas de recuperação alcançadas<sup>[68,72]</sup>.

Deste modo, a seletividade é habitualmente objeto de estudo na fase inicial do processo de validação, uma vez que sem o conhecimento de que a mesma é aceitável, a verificação de outros parâmetros de desempenho apresenta escasso valor prático.

### 3.1.6. Limiares analíticos

Os limiares analíticos podem ser calculados por diferentes abordagens, tendo em consideração as metodologias geralmente empregues em rotina num laboratório. Existem alguns aspetos a considerar, todas as vezes que o laboratório utiliza métodos em que as medições são realizadas em baixas concentrações. Assim, a determinação da concentração mais baixa do analito que pode ser detetada e/ou quantificada pelo método a um nível de confiança especificado, em que o desempenho do método se torne admissível para uma aplicação típica, é fundamental. Estes conceitos são geralmente designados, limite de deteção (LD) e limite de quantificação (LQ). Os mesmos dependem de inúmeros fatores que variam no tempo (condições ambientais, tipo de amostra, equipamento usado, operador...).

O limite de deteção (LD) corresponde à concentração mínima de analito presente na amostra que pode ser detetada pelo método e que pode ser distinguida com uma determinada confiança estatística (geralmente 95 %) do branco, ou seja, de uma amostra que contém a mesma matriz, mas não contém o analito em estudo<sup>[75,78]</sup>. Qualquer leitura que seja inferior ao limite de deteção não significa que o analito esteja ausente, apenas indica que a concentração do composto em questão é inferior a um determinado valor<sup>[70]</sup>.

O limite de quantificação (LQ) corresponde à mais baixa concentração medida a partir da qual é possível a quantificação do analito, com uma determinada veracidade e precisão. Assim, o método é apenas capaz de garantir, com um determinado nível de confiança, que um resultado é aceitável se a concentração de analito quantificada for superior ao LQ<sup>[68,70]</sup>.

Atendendo ao que se encontra descrito no *Fitness for Purpose of Analytical Methods*<sup>[68]</sup>, o limite de deteção e o limite de quantificação podem avaliados recorrendo a brancos de amostras ou amostras com baixa concentração de analito.

Os cálculos necessários para avaliar o LD e o LQ encontram-se expostos no **Anexo E**, nomeadamente as **Equações E1, E2, E3 e E4**. Um procedimento alternativo para avaliar o LD e o LQ de um método, consiste na aplicação do modelo de regressão linear que permite calcular este parâmetro a partir da curva de calibração.



Para tal, numa etapa inicial determina-se o valor de  $s_{y/x}$  de acordo com a **Equação B2 (Anexo B)** e o LD e o LQ podem ser calculados tal como demonstrado na **Equação E5 e E6 (Anexo E)**, respetivamente <sup>[68]</sup>.

É importante referir que a gama entre o LD e o LQ deve ser entendida como uma zona de deteção qualitativa, e não quantitativa, pelo que não se devem atribuir valores numéricos nesta gama.

Na prática, o LQ corresponde ao padrão de concentração mais baixa usada para traçar a curva de calibração (exceto o branco). O LQ deve ser validado experimentalmente, em condições de precisão intermédia com uma determinada justeza e precisão. Com o objetivo de averiguar se o valor determinado é satisfatório ou não, é analisada uma solução padrão com uma concentração próxima do LQ, em dez réplicas independentes. Através desta análise, é possível determinar o coeficiente de variação (CV), bem como o erro relativo ( $E_r$ ). Os valores obtidos devem ser inferiores ou iguais a 10 % para validar o LQ do método <sup>[68,70]</sup>.

Por último, outro procedimento alternativo para avaliar a hipótese de que o LQ corresponde ao padrão de concentração mais baixa usada para traçar a curva de calibração, consiste na realização de ensaios de recuperação. Para tal, fortifica-se um branco de amostra ou uma amostra que, idealmente, não deve conter o analito em estudo, ou apresente uma concentração de analito inferior ao do padrão com concentração mais baixa, de forma que a concentração de analito após a fortificação seja igual ao LQ que se pretende definir. Este ensaio deve ser realizado efetuando dez réplicas independentes e, de seguida, determina-se a R de acordo com a **Equação D1 (Anexo D)** para cada réplica e no final a  $\bar{R}$ . Assim, caso o valor obtido estiver incluído no intervalo de R indicado na legislação para o analito em estudo ou estipulado pelo laboratório, é possível admitir que a concentração do primeiro padrão da curva de calibração corresponde ao LQ <sup>[67,68,70]</sup>.

### 3.1.7. Precisão

A componente dos erros aleatórios numa medição pode ser avaliada através da determinação de um parâmetro de desempenho designado precisão.

Segundo o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), a precisão de medição representa o grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições especificadas. As condições especificadas podem ser, por exemplo, condições de repetibilidade, condições de precisão intermédia ou condições de reprodutibilidade <sup>[77]</sup>. Em todas elas, os ensaios podem ser repetidos

sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. No entanto, em todas as situações, independentemente do tempo decorrido entre os ensaios, as características físicas e químicas da amostra ou da solução padrão, principalmente, a concentração de analito, a matriz, a homogeneidade e a estabilidade, devem permanecer inalteradas<sup>[70]</sup>.

A reprodutibilidade corresponde ao grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, realizadas sob um conjunto de condições, as quais incluem mesmo procedimento de medição, diferentes locais, diferentes operadores, diferentes sistemas de medição (equipamento) e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares<sup>[70,71,74]</sup>.

#### 3.1.7.1. Precisão em condições de repetibilidade

A repetibilidade exprime a precisão de um método de ensaio efetuado sob as mesmas condições, designadas condições de repetibilidade, as quais incluem o mesmo procedimento de medição, os mesmos operadores, o mesmo sistema de medição, as mesmas condições de operação e o mesmo local, assim como medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares durante um curto período de tempo, preferencialmente no próprio dia<sup>[74]</sup>.

A repetibilidade pode ser determinada através de um Ensaio Interlaboratorial ou a partir de ensaios realizados no próprio Laboratório. A avaliação deste parâmetro pode ser efetuada recorrendo a Materiais de Referência (MR), amostras teste ou brancos de amostra fortificados, sendo realizadas seis a quinze réplicas para cada material<sup>[68]</sup>. Sendo a repetibilidade uma forma de avaliar a precisão, esta pode ser expressa na forma de desvio padrão de repetibilidade ( $s_r$ ) associado aos resultados obtidos considerados ou na forma de coeficiente de variação de repetibilidade (CV<sub>r</sub>) para uma dada concentração. A partir do desvio padrão de repetibilidade ( $s_r$ ) obtido com os dados do próprio laboratório, é comum determinar o limite de repetibilidade,  $r$ , que se define como o valor abaixo do qual se deve situar, com uma específica probabilidade (normalmente 95 %), a diferença absoluta entre dois resultados de ensaio ( $X_i$  e  $X_{i-1}$ ) obtidos em condições anteriormente referenciadas. Os cálculos necessários para a determinação destes dois parâmetros encontram-se expostos no **Anexo F**, nomeadamente a **Equação F1 e F2**.

O limite de repetibilidade permite ao analista decidir se a diferença entre valores de duplicados de uma amostra é significativa, sendo que na prática, aceitam-se os resultados de duas determinações efetuados em condições de repetibilidade se  $|x_i - x_{i-1}| \leq r$ .

É importante realçar que cada laboratório define o seu grau de exigência em termos de precisão do método, ou seja, o CV permitido (normalmente < 10 %), de acordo com o objetivo de análise, auxiliando-se das indicações legislativas ou outra qualquer referência normativa. Além disso, numa etapa inicial, antes de se proceder à determinação de cada um destes parâmetros, é fundamental avaliar a possibilidade de se rejeitar algum valor dos replicados obtidos para a mesma matriz recorrendo ao Teste de *Grubbs* <sup>[68,70,71]</sup>.

### 3.1.7.2. Precisão em condições de precisão intermédia

A precisão intermédia, por sua vez, refere-se à precisão avaliada, sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo procedimento de medição, o mesmo laboratório, medições repetidas em objetos ou em objetos similares, ao longo de um período de tempo extenso (geralmente em dias diferentes), podendo incluir outras condições que envolvam mudança (uma ou mais). As condições que podem variar compreendem novas calibrações, padrões, operadores e sistemas de medição. A precisão intermédia também é denominada reprodutibilidade interlaboratorial, sendo a mais representativa da variabilidade dos resultados em um único laboratório <sup>[11,67]</sup>.

Para a determinação da precisão intermédia é importante ter em consideração o número de amostras estudadas ( $t$ ), e o número de ensaios efetuados para cada amostra ( $n$ ), sendo que podem ser consideradas amostras pertencentes a grupos de matrizes distintos. Assim como na avaliação da repetibilidade, a precisão intermédia pode ser avaliada recorrendo a MR, amostras teste ou brancos de amostra fortificados, sendo realizadas seis a quinze réplicas para cada material <sup>[68]</sup>. O desvio padrão de precisão intermédia ( $s_p$ ) pode ser determinado através das **Equações F3** ou **F4 (Anexo F)**. Para além do  $s_p$ , é possível determinar outros parâmetros tais o coeficiente de variação de precisão intermédia ( $CV_p$ ), através da **Equação F5 (Anexo F)**.

A determinação simultânea da repetibilidade e da precisão intermédia para uma mesma amostra através de uma Análise de variâncias (ANOVA) de fator único, pode ser um procedimento alternativo quando se pretende otimizar o tempo dispensado na validação de métodos analíticos. Neste caso específico, são realizados seis a quinze ensaios (grupos) em condições de precisão intermédia, ou seja, em dias diferentes. Além disso, no mesmo dia, a análise de replicados de uma mesma amostra é efetuada em cada ensaio, em condições de repetibilidade. Deste modo, é possível avaliar a repetibilidade do método através da comparação dos resultados obtidos dentro do grupo, ou seja, pela comparação dos replicados obtidos para o mesmo ensaio. Pelo contrário,

a avaliação da precisão intermédia pode ser alcançada através da comparação entre grupos, isto é, os valores obtidos entre diferentes ensaios <sup>[67,68,70,71]</sup>.

Assim, atendendo às equações apresentadas na **Tabela A1** referente à Análise de variâncias de fator único, os valores de  $s_p$  e  $s_p$  podem ser determinados de acordo com as **Equações A12 e A13 (Anexo A)**, respetivamente <sup>[68]</sup>.

### 3.1.8. Justeza

A qualidade de um resultado analítico pode ser avaliada com base na veracidade (ou justeza), precisão e incerteza como parâmetros de desempenho.

De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), a exatidão de medição representa o grau de concordância entre um valor medido e um valor de uma mensuranda <sup>[77]</sup>. Esta não é uma grandeza e, portanto, não lhe é atribuído um valor numérico. Além disso, o termo “exatidão de medição” não deve ser utilizado no lugar de justeza de medição, assim como o termo de precisão de medição não deve ser utilizado para expressar a exatidão de medição. Quando aplicado a uma série de resultados de ensaio, a exatidão implica a combinação de componentes de erros aleatórios e componentes de erros sistemáticos <sup>[70]</sup>.

A componente dos erros sistemáticos numa medição pode ser avaliada através do estudo da justeza ou veracidade do método analítico. Entende-se por justeza de medição ou veracidade de medição o grau de concordância entre a média de um número infinito de valores medidos repetidos e um valor de referência. Este parâmetro não é uma grandeza, e, portanto, não pode ser expressa numericamente. Deste modo, a justeza é expressa quantitativamente na forma de *bias* (ou *bias* relativo), definido como a estimativa dos erros sistemáticos da medição, que tanto podem ser inerentes ao método, como provenientes do laboratório <sup>[67,68,70]</sup>.

A avaliação do *bias* pode ser realizada recorrendo a uma das seguintes metodologias: MR, de preferência MR certificados (MRC); ensaios interlaboratoriais; ensaios de recuperação ou ainda testes comparativos <sup>[70]</sup>.

#### 3.1.8.1. Materiais de referência certificados

Os materiais de referência (MRs) são uma importante ferramenta na determinação de diversos aspetos da qualidade de medição e são usados para fins de validação de métodos, calibração, estimativa da incerteza de medição e para fins de CQI e Garantia da Qualidade externa (ensaios de proficiência) <sup>[69,70,73]</sup>. Estes consistem num material suficientemente homogêneo e estável

em relação a propriedades específicas, preparado para se adequar a uma utilização pretendida numa medição ou num exame de propriedades qualitativas<sup>[77]</sup>.

Quer isto dizer que, um MR deve ser representativo e apresentar uma elevada homogeneidade e estabilidade, relativamente a determinadas propriedades, com uma composição química bem definida e conhecida.

Os MRs devem estar corretamente rotulados com a data de validade, condições de armazenamento, data de receção e de início de utilização.

Por este motivo, a utilização de um MR enquanto ferramenta de análise tem como principais objetivos assegurar a exatidão de um método e permitir ao laboratório e/ou utilizador específico a verificação do desempenho de um equipamento, de um sistema, de um procedimento e de um analista<sup>[67,71]</sup>. A concordância do valor obtido aquando da realização da análise e o valor conhecido como verdadeiro, demonstra que o método selecionado é adequado para a análise, o equipamento e os produtos usados para a preparação da amostra estão em condições apropriadas e, o operador efetuou um bom trabalho. Deste modo, o Laboratório pode concluir que os dados gerados por este procedimento são corretos. Qualquer desacordo entre o valor determinado pelo laboratório e o valor de referência indica a existência de erros que ocorreram durante a realização da análise, e como consequência, deve efetuar-se um estudo pormenorizado para os detetar e eliminar<sup>[11,67]</sup>.

Os materiais de referência também podem ser certificados (MRC). Um MRC encontra-se acompanhado por uma documentação que é emitida por uma entidade qualificada fornecendo valores de uma ou mais propriedades especificadas, a respetiva incerteza associada e uma declaração da sua rastreabilidade metrológica. Este possui um valor de concentração (ou outra grandeza) para cada parâmetro e uma incerteza associada.

Além disso, a aquisição de um MRC terá de ser feita a um organismo fornecedor reconhecido e credível, nomeadamente, IRMM (*Institute for Reference Materials and Measurements*), NIST (*National Institute of Standards and Technology*), *National Research Council* (NRC) do Canadá e Agência Internacional de Energia Atómica (IAEA)<sup>[70]</sup>.

Frequentemente, não existem disponíveis MRCs e MRs adequados, isto é, os mesmos não são capazes de representar de forma significativa todas as matrizes do laboratório e apresentam um custo elevado. Quando tal acontece, é recomendada a preparação no laboratório de um MRI, ou seja, um material ou solução padrão no qual a sua composição deve ser tão próxima quanto possível à das amostras e que também deve ser rastreável a padrões secundários ou primários<sup>[67,71]</sup>. O Laboratório deve estabelecer as propriedades destes materiais através da sua caracterização,

empregando um método adequado e devidamente validado para que este possa ser considerado um MRI<sup>[69]</sup>.

Para a avaliação dos resultados obtidos da análise de um MRC existem diversos processos criteriosos, nomeadamente: *bias* (**Equação G1 ou G2, do Anexo G**), Teste de hipóteses (teste t) (**Equação A5, do Anexo A**), Fator de desempenho Z (*Z-score*) (**Equação G3, do Anexo G**) e o Erro normalizado ( $E_n$ ) (**Equação G4, do Anexo G**).

### 3.1.8.2. Ensaio de comparação interlaboratoriais

De acordo com a norma ISO 17043:2010 *Conformity assessment – General requirements for proficiency testing*, os ensaios interlaboratoriais envolvem a “organização, desempenho e avaliação de ensaios realizados num mesmo material, ou materiais semelhantes, por dois ou mais laboratórios de acordo com as condições pré-definidas”. Assim, de modo que os resultados obtidos possam ser comparados este tipo de ensaios exige a participação de inúmeros laboratórios para avaliar um determinado item (pelo menos cinco)<sup>[79]</sup>.

Dependendo do objetivo a que se destina, o EIC pode ser classificado como:

- ensaios de certificação;
- ensaios colaborativos ou de normalização;
- ensaios de aptidão ou de competência.

Um ensaio interlaboratorial de certificação é efetuado para atribuir um valor de referência de um parâmetro (ex: concentração do analito) com a respetiva incerteza associada a um material ou amostra candidata a MRC. É importante referir que neste tipo de ensaio só podem participar um grupo selecionado de laboratórios de competência reconhecida, isto é, laboratórios de referência, e deve-se utilizar um método que assegura a determinação do parâmetro com o menor erro e menor incerteza possível. Deste modo, através da realização dos ensaios interlaboratoriais de certificação é possível a avaliação das características de materiais<sup>[80]</sup>.

Com o objetivo em avaliar as características de um método de análise recorrendo à caracterização de determinados parâmetros, pode-se realizar um ensaio de normalização, isto é, neste tipo de ensaio é estudado e avaliado o desempenho de um método analítico. Além disso, todos os laboratórios participantes utilizam o mesmo método (e procedimento) de análise num conjunto de amostras iguais ou idênticas, sendo que a composição da amostra a analisar no estudo deve ser

similar à das amostras a usar nas análises de rotina em termos de composição da matriz, concentração de analito e presença de interferentes.

Este ensaio interlaboratorial é de extrema importância na determinação de parâmetros, nomeadamente a precisão e justeza de um método de ensaio.

Por último, um ensaio interlaboratorial de aptidão é efetuado para avaliar o desempenho do laboratório e dos seus analistas, sendo que essencialmente verifica a capacidade dos laboratórios participantes através de uma avaliação estatística dos dados obtidos na análise de materiais que foram fornecidos. Neste tipo de ensaios, a entidade organizadora atribui as amostras teste (material bem caracterizado e homogéneo) pelos laboratórios participantes, tendo os mesmos normalmente a liberdade para escolher o método de análise. Após os laboratórios avaliarem estas amostras, é atribuído a cada um deles um indicador numérico, denominado índice de desempenho, que geralmente é apresentado na forma de z-score **(Equação G3, do Anexo G)**. Outro parâmetro utilizado para avaliar o desempenho do laboratório após a participação no ensaio de aptidão, é o Erro normalizado ( $E_n$ ). Este é empregue, quando geralmente, um laboratório calcula a incerteza do seu resultado e se o valor aceite como verdadeiro ( $X_{ref}$ ) não se encontra dentro do intervalo de incerteza de  $X_{lab}$ , então, o intervalo pode ser sobrestimado através do cálculo do  $E_n$  **(Equação G4 do Anexo G)** <sup>[77,79-81]</sup>.

Os ensaios de aptidão são uma ferramenta que permite estimar a incerteza de medição de um método analítico e assim contribuem para a determinação da justeza do método na validação do mesmo.

Em suma, os ensaios de comparação interlaboratorial são fundamentais, pois com eles é possível detetar erros sistemáticos; implementar ações corretivas e preventivas após análises dos resultados obtidos; demonstrar a competência técnica do analista e do método perante terceiros, competência esta reconhecida a nível nacional e internacional; e permitem avaliar o desempenho do método, sendo também utilizados como ferramenta de validação <sup>[77,79,81]</sup>.

### 3.1.8.3. Ensaio de recuperação

Os ensaios de recuperação têm como objetivo verificar se existem erros sistemáticos introduzidos por causas desconhecidas como o efeito da matriz. Estes ensaios podem ser aplicados com diversas finalidades. São de extrema importância na avaliação da seletividade de um método analítico durante a sua validação ou verificação, permitem a determinação do limiar analítico, bem como aferir a exatidão do método e ainda estimar a incerteza de medição <sup>[11,67]</sup>.

Os ensaios de recuperação consistem na adição de uma concentração de analito em estudo, ou outro objeto em estudo, como um interferente, à qual um determinado método dá resposta, sobre um material, como uma amostra ou, ainda uma solução padrão que já pode, ou não, conter o analito, para verificar a quantidade de analito que se obtém através do cálculo da taxa de recuperação **(Equação D1, do Anexo D)**<sup>[29]</sup>.

A fortificação de um material pode ser executada de duas maneiras. A primeira traduz-se na adição de um pequeno volume de uma solução padrão contendo o objeto em estudo em elevada concentração, enquanto a segunda compreende a adição de um volume maior de uma solução padrão contendo o mesmo objeto em baixa concentração. No entanto, é de ressaltar que, dado que estes materiais podem já conter o analito em estudo, é imprescindível assumir determinadas medidas para assegurar que a fortificação não altera a concentração do analito para valores superiores ao estabelecido na gama de trabalho do método<sup>[68,74]</sup>.

### 3.1.9. Estimativa da incerteza de medição

Todos os parâmetros de desempenho anteriormente abordados apresentam a sua importância para a validação e verificação de um método analítico. No entanto, de acordo com a NP EN ISO 17025:2018, todas as vezes que um resultado é obtido recorrendo a esse método, este deve ser acompanhado pela incerteza associada. Deste modo, a avaliação da incerteza de medição é fundamental e crucial, de forma a ser demonstrável a credibilidade de um determinado laboratório e a adequação do método analítico<sup>[9]</sup>.

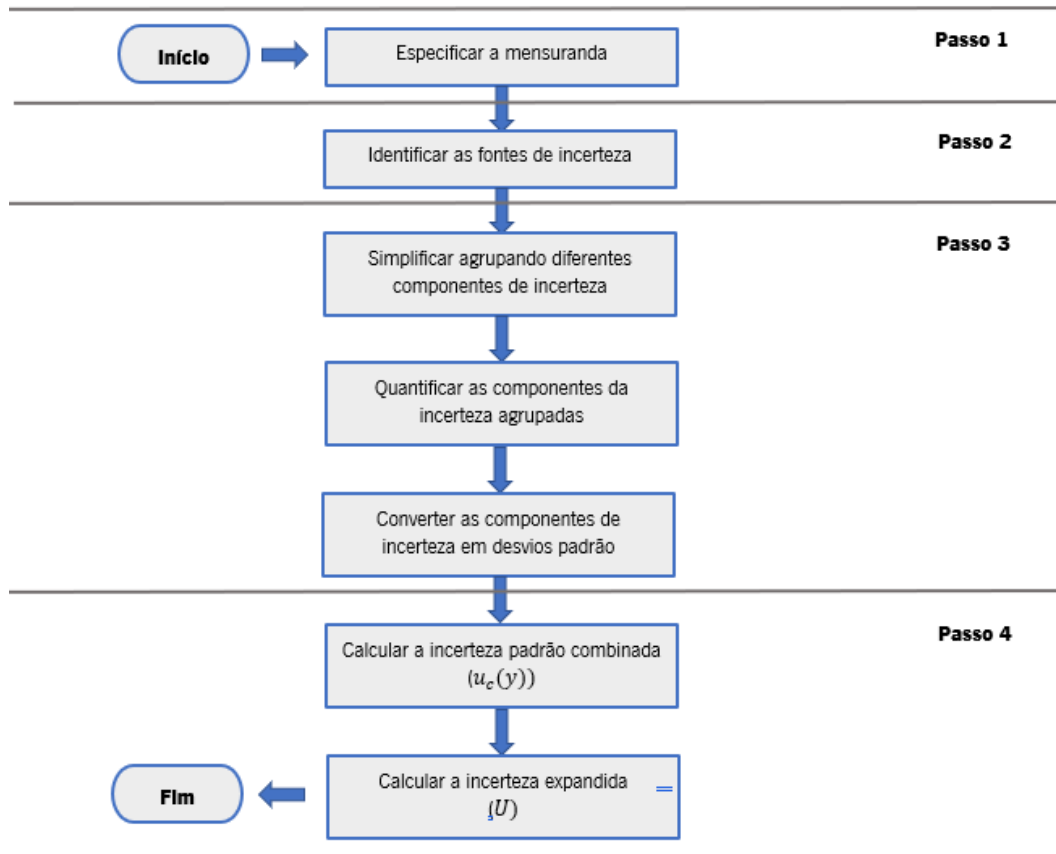
A incerteza de medição define-se como o parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que podem com razoabilidade ser atribuídos à mensuranda<sup>[82]</sup>.

Existem diversas metodologias utilizadas para a quantificação/estimativa da incerteza de medição, sendo a abordagem “passo a passo” e a metodologia baseada em dados de validação intralaboratorial e informação de ensaio interlaboratoriais as mais aplicadas<sup>[83]</sup>.

Quando se pretende determinar incertezas associadas a soluções preparadas no laboratório que, são usadas durante a realização de um método analítico, a metodologia “passo a passo” é usualmente empregue. Tal como ilustrado na **Figura 14**, esta metodologia engloba quatro etapas.

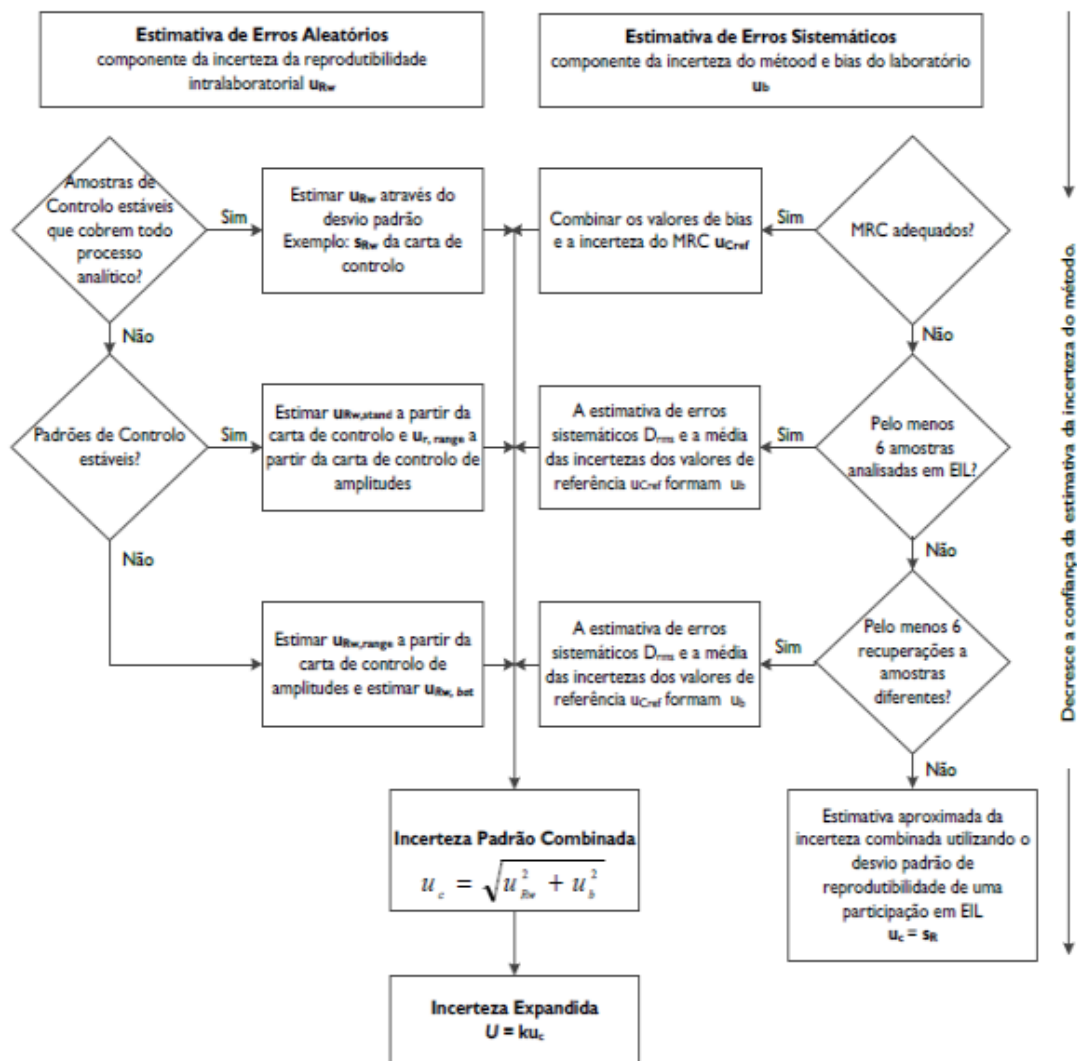


Numa primeira fase, é necessário especificar a mensuranda, o procedimento de medição e o campo de aplicação, de seguida identificar as fontes de incerteza, quantificar as componentes da incerteza e por fim calcular as incertezas combinada,  $u_c(y)$ , e expandida,  $U$  [72].



**Figura 14.** Metodologia “passo a passo”. Adaptada de [72].

O procedimento para a estimativa da incerteza de um método referido na ISO 11352 baseia-se no esquema apresenta na **Figura 15** [72].



**Figura 15.** Esquema representativo do procedimento para a estimativa da incerteza do método baseada na norma ISO 11352<sup>[72]</sup>.

Como é perceptível no esquema representado na **Figura 15**, a incerteza padrão combinada ( $u_c$ ) baseia-se na Lei da Propagação das Incertezas, nomeadamente, a combinação da componente da incerteza associada à precisão ( $u_{Rw}$ ) e a componente associada ao *bias* ( $u_b$ ). Assim, é possível determinar a incerteza padrão combinada ( $u_c$ ) de acordo com a **Equação 4**

[84,85].

#### Equação 4

$$u_c = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_b^2}$$

Para apresentar a incerteza com um grau de confiança de 95% ( $k = 2$ ) ou aproximadamente de 99% ( $k = 3$ ), é necessário determinar a incerteza expandida, representada por  $U$ , através da **Equação 5** <sup>[84,85]</sup>.

### Equação 5

$$U = k \times u_c$$

Caso o número de ensaios experimentais seja inferior a 6, sugere-se a utilização do parâmetro de *t-student* bilateral como valor de  $k$ .

É aconselhável que a componente da incerteza associada à precisão do método ( $u_{R_w}$ ) seja avaliada em condições de precisão intermédia, em vez de condições de repetibilidade ou de reprodutibilidade, dado que assim consegue refletir potenciais variações do desempenho do método devido a alterações de parâmetros experimentais, dependendo da rotina habitual do laboratório, nomeadamente, dias diferentes, equipamentos diferentes ou diferentes analistas <sup>[83,86]</sup>.

A componente de incerteza de precisão intermédia ( $u_{R_w}$ ) pode ser determinada recorrendo a amostras de controlo de qualidade através do desvio padrão das mesmas ( $s_{R_w}$ ), obtido por exemplo, a partir das cartas de controlo (**Equações H1 e H2, do Anexo H**) <sup>[84]</sup>.

É importante realçar que para a estimativa desta componente da incerteza são necessários dois níveis de concentração e no mínimo oito réplicas. Caso o método analítico abranja uma vasta gama de concentrações ou intervalo de matrizes, e a componente de incerteza de precisão intermédia, ( $u_{R_w}$ ) variar com a concentração ou com a matriz, é essencial analisar amostras de controlo de qualidade que englobem diferentes matrizes e níveis de concentração.

A componente de incerteza associada à veracidade (*bias*) do método/laboratório, pode ser estimada com base em dados intralaboratoriais, caso se apliquem ensaios de recuperação ou se utilizem materiais de referência certificados, ou com base em dados interlaboratoriais, caso o laboratório participe em ensaios de comparação interlaboratorial. No **Anexo H** são apresentadas as equações para estimar esta componente, atendendo à metodologia empregue <sup>[82-86]</sup>.

## 3.2. Garantia de controlo de qualidade

Após a fase inicial da aprovação do método de análise, o laboratório deve exercer um controlo da sua execução, de modo a garantir que as condições de validade do método se mantêm. Assim, o Laboratório deve possuir um sistema de controlo de qualidade dos resultados obtidos (CQ) com o objetivo de apresentar um sistema de deteção de erros baseado no controlo do processo analítico, bem como verificar as causas de erro e tentar eliminá-las<sup>[81]</sup>. Qualquer análise química pode ser sujeita a manipulações que induzam erros, tanto sistemáticos como aleatórios, que podem afetar significativamente o valor do resultado final. É, por isso, necessária a minimização das fontes de erro (designada por Garantia da Qualidade – GQ) e o controlo da sua ocorrência (designado por Controlo da Qualidade – CQ), com vista à garantia e melhoria da eficácia do Sistema de Gestão de Qualidade (SGQ) adotado.

### 3.2.1. Controlo de qualidade interno

O Controlo da Qualidade Interno (CQI) dos métodos de ensaio corresponde a um conjunto de procedimentos realizados no laboratório para uma análise de rotina, tendo como finalidade o CQ dos resultados obtidos à medida que as análises são executadas.

A periodicidade de algumas ações de CQI deve estar de acordo com o tipo de amostras e análises efetuadas. Além disso, em geral, estas ações visam controlar a precisão dos resultados produzidos pelo Laboratório, sendo que as mesmas podem incluir<sup>[81]</sup>:

- Materiais de Referência Internos (MRI);
- Técnicas complementares de CQ de resultados, nomeadamente:
  - análise de brancos em paralelo com amostras;
  - uso de análises em duplicado;
  - repetição de análises anteriormente realizadas;
  - ensaios de recuperação e fortificação de amostras;
  - uso do método de adição padrão;
  - comparação de resultados obtidos por diferentes técnicas analíticas;
  - correlação de resultados de características diferentes da mesma amostra;
- Tratamento estatístico de dados, como a elaboração de cartas de controlo.

De um modo geral, o principal objetivo do CQI consiste em assegurar que, no dia a dia, os resultados das determinações efetuadas são verdadeiros e concordantes com valores estabelecidos.

#### 3.2.1.1. Cartas de controlo

Os resultados obtidos, independentemente do método de análise realizado, devem ser controlados estatisticamente, ou seja, tem de se garantir que os resultados em causa são válidos, admitindo que seguem uma distribuição normal e, como tal, a ocorrência de erros é aleatória. Nesse sentido, devem realizar-se testes estatísticos, como demonstrado anteriormente, contudo estes testes avaliam apenas os resultados no momento da realização do ensaio, pelo que não permitem fazer um controlo contínuo dos resultados alcançados. Dessa forma, a monitorização dos resultados produzidos no laboratório deve ser realizada de modo que seja possível observar de uma forma prática e imediata a tendência seguida pelos mesmos.

Deste modo, as cartas de controlo (CC) apresentam-se como uma das ferramentas a ser empregue para garantir o Controlo de Qualidade Interno (CQI) de um laboratório<sup>[69]</sup>.

As cartas de controlo (CC), introduzidas por *Shewhart* em 1931, permitem monitorizar o desempenho de um processo ao longo do tempo, bem como identificar um aumento da variação dos resultados, ou um desvio dos mesmos. Estas cartas são muito utilizadas em condições de rotina e sempre que seja possível deve-se repetir uma determinação de padrões de controlo ou de amostras de teores conhecidos, em cada sessão de trabalho e por cada lote de amostra.

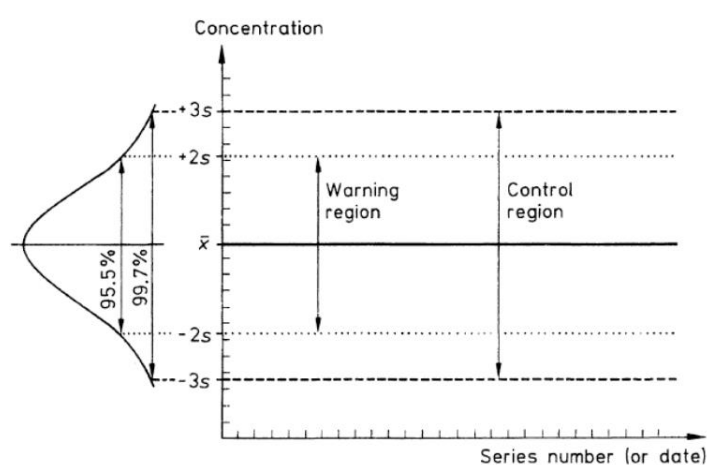
As CC são de extrema utilidade se forem elaboradas com um objetivo concreto, destacando-se os seguintes <sup>[69]</sup>:

- Controlo de equipamentos automáticos;
- Avaliação e validação de calibrações;
- Controlo da precisão e justeza (exatidão) do método analítico;
- Controlo das operações inerentes à realização do método de ensaio.

As CC consistem em representações gráficas onde se registam os valores medidos pelo laboratório (de uma determinada grandeza) em função do tempo, sendo assim possível verificar facilmente as flutuações naturais do valor medido. Podem também ser registados os resultados obtidos por repetições de amostras ou desvios entre replicados, entre outros parâmetros.

O gráfico obtido é determinado pelas características estatísticas de variações aleatórias, definidas pela distribuição normal<sup>[69,81]</sup>.

O laboratório pode definir limites de aviso e limites de controlo para atuarem como sistema de alarme quando o sistema se encontra fora de controlo. Assim, esta representação gráfica apresenta um conjunto de cinco linhas que irão permitir saber se o processo é ou não controlado: a linha central,  $LC$ , os limites de aviso superior e inferior,  $LSA$  e  $LIA$ , e os limites de controlo superior e inferior,  $LSC$  e  $LIC$ . A relação entre a curva de distribuição normal e a CC encontra-se representada na **Figura 16**<sup>[69]</sup>.



**Figura 16.** Relação entre a curva de distribuição normal e uma carta de controlo<sup>[69]</sup>.

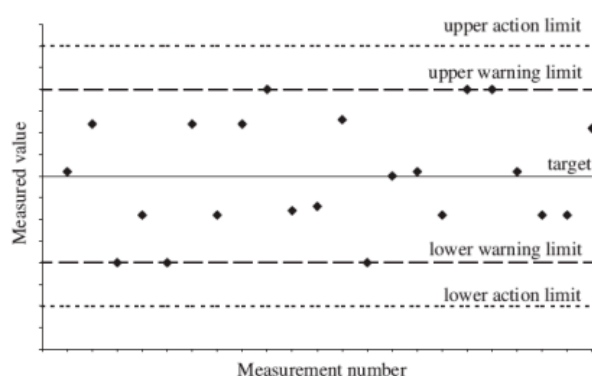
Apesar de existirem diversos tipos de cartas de controlo, destacam-se as cartas de médias ou de indivíduos (*Shewhart*), as cartas de amplitudes ou amplitudes móveis e as cartas de somas cumulativas (CUSUM).

É importante realçar que para a elaboração de uma CC pode-se utilizar uma grande variedade de materiais ou parâmetros, tais como:

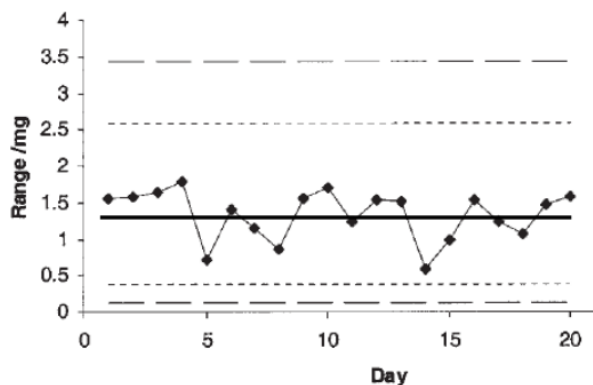
- Duplicados (ou replicados);
- Materiais de Referência Certificados (MRC);
- Materiais de Referência Internos (MRI);
- Amostras fortificadas (ensaios de recuperação);
- Brancos de amostras e/ou reagentes;
- Amostras cegas (amostras cujos teores são conhecidos pelos supervisores, mas que os analistas pensam tratar-se de amostras de rotina);
- Parâmetros das curvas de calibração (declive, ordenada na origem, ...)

As cartas de controlo de médias ou indivíduos representam a variação de um determinado parâmetro (valor individual ou média de valores). As cartas de amplitudes ou amplitudes móveis representam, ao longo do tempo, a diferença entre vários ensaios repetidos do mesmo material ou de materiais diferentes dentro de uma determinada gama de trabalho.

De modo a elaborar qualquer uma das cartas de controlo anunciadas (**Figura 17 e Figura 18**), é fundamental determinar o que se pretende controlar, caraterizar o processo referido, definir a periodicidade de análise, decidir o momento da análise do processo a recolher, no mínimo, cerca de 20 a 25 observações do processo nas condições pré-estabelecidas<sup>[69,87]</sup>.



**Figura 17.** Exemplo de carta de controlo de indivíduos<sup>[69]</sup>.



**Figura 18.** Exemplo de carta de controlo de amplitudes<sup>[69]</sup>.

Os cálculos necessários para a determinação dos limites de aviso, LA, e dos limites de controlo, LC, fundamentais para a elaboração das cartas de controlo de indivíduos e das cartas de controlo de médias estão expostos no **Anexo I**.

Os limites de aviso e controlo devem ser compatíveis com os requisitos do método analítico. Deste modo, para a interpretação dos dados obtidos relativamente a estes limites é necessário considerar o que se encontra descrito no *Fitness for Purpose* e no Guia Relacre N°3,

Validação de Resultados em Laboratórios Químicos, isto é verificar nas representações gráficas das CC se existe alguma situação “fora de controlo” <sup>[68,69]</sup>.

Nas cartas de amplitudes, a linha central designa o valor média das amplitudes e os limites podem ser determinados a partir de duplicados de uma amostra. Neste caso, o valor do desvio padrão de um resultado analítico,  $s$ , é determinado de maneira diferente **(Equação I5 do Anexo I)**.

Em resumo, as cartas de controlo de médias permitem o controlo da justeza e a deteção de desvios nos valores obtidos, uma vez que expõem o modo como os valores médios estão relacionados com o valor alvo. Contudo, não fornecem informações relativamente à distribuição dos resultados individuais. Já as cartas de amplitudes permitem o controlo da precisão, visto que é avaliada a diferença entre o maior e o menor valor de um conjunto de análises <sup>[69,81,87]</sup>.

Além disso, associado a cada CC deve existir uma ficha de registo adequada que indique ao operador o método de ensaio, o equipamento, o material utilizado, a data de elaboração da CC em vigor, bem como a periodicidade da realização do método de ensaio com o respetivo material.



## II – Parte Experimental

## 4. Materiais e Métodos

Ao longo deste capítulo serão apresentados os equipamentos, reagentes e materiais utilizados, bem como os procedimentos realizados para a determinação dos cátions sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio por cromatografia iónica e a preparação das soluções padrão.

A água ultrapura utilizada para a preparação das soluções padrão foi obtida recorrendo a um sistema de purificação Milli-Q® IQ 7000. As características deste sistema encontram-se apresentadas na **Tabela 4**, nomeadamente a temperatura, a condutividade e o carbono orgânico total (TOC).

**Tabela 4.** Características do sistema de purificação Milli-Q® IQ 7000.

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Condutividade (µS/cm)</b>	<b>TOC (ppb)</b>
25	0,055	1,8

### 4.1. Equipamentos e Materiais

Na **Tabela 5** encontram-se apresentados os equipamentos utilizados ao longo do procedimento experimental, bem como a sua marca e modelo.

**Tabela 5.** Equipamento utilizado na realização do trabalho experimental e respetiva marca e incerteza.

<b>Equipamento</b>	<b>Modelo/Marca</b>
Cromatógrafo iónico ICS5000	ThermoSCIENTIFIC/ Dionex
Amostrador automático AS 40	ThermoSCIENTIFIC / Dionex

A **Tabela 6** apresenta o material volumétrico necessário para a realização do trabalho experimental e a respetiva incerteza. Todo o material volumétrico de vidro usado foi de classe A.

**Tabela 6.** Material essencial para a realização do procedimento experimental e respectivas incertezas.

<b>Material</b>	<b>Volume (mL)</b>	<b>Incerteza (mL)</b>
Balões Volumétricos	100	± 0,1
	50	± 0,06
Micropipetas	1	± 0,0002
	10	± 0,003
	5	± 0,002

#### 4.2. Reagentes

Os reagentes e soluções padrão comerciais utilizados/(as) na realização do trabalho prático, bem como as suas respectivas características encontram-se enumerados nas **Tabelas 7, 8, e 9** respetivamente. No **Anexo J1** são apresentadas as frases de perigo e de prudência dos mesmos.

O ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) foi utilizado na preservação das amostras para o estudo dos catiões sódio, potássio, magnésio e cálcio, enquanto o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) foi usado na preservação das amostras para o estudo do amónio.

**Tabela 7.** Reagentes utilizados na preservação de amostras.

<b>Reagente</b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b>Massa molecular (g/mol)</b>	<b>Pureza (%)</b>	<b>Marca</b>
<b>Ácido nítrico</b>	$\text{HNO}_3$	63,01	65	Millipore
<b>Ácido sulfúrico</b>	$\text{H}_2\text{SO}_4$	98,08	95-97	Millipore

**Tabela 8.** Soluções padrão comerciais utilizadas durante a realização do procedimento experimental, especificamente, na etapa da preparação dos padrões de calibração analítica.

<b>Reagente</b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b>Massa molecular (g/mol)</b>	<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Marca</b>	<b>Lote</b>	<b>C ± U (mg/L)</b>
<b>Solução Padrão Sódio</b>	NaNO <sub>3</sub>	84,995	1,013	Merk®	HC73793707	1000 ± 2
<b>Solução Padrão Amônio</b>	NH <sub>4</sub> Cl	53,491	0,990	Merk®	HC02389012	999,0 ± 0,4
<b>Solução Padrão Potássio</b>	KNO <sub>3</sub>	101,103	1,013	Merk®	HC98246130	1000 ± 5
<b>Solução Padrão Magnésio</b>	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	148,300	1,016	Merk®	HC01346988	984 ± 5
<b>Solução Padrão Cálcio</b>	CaCO <sub>3</sub>	100,087	0,999	CPAchem	H002.W.L5	999,0 ± 2,6

**Tabela 9.** Soluções padrão comerciais utilizadas durante a realização do procedimento experimental, especificamente, na etapa do controle de qualidade do método.

<b>Reagente</b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b>Massa molecular (g/mol)</b>	<b>Densidade (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Marca</b>	<b>Lote</b>	<b>C ± U (mg/L)</b>
<b>Solução Padrão Sódio</b>	NaNO <sub>3</sub>	84,995	1,009	CPAchem	A035.2NP.L5	997,5 ± 2,9
<b>Solução Padrão Amônio</b>	NH <sub>4</sub> Cl	53,491	0,990	Merk®	HC98486512	1001,0 ± 0,4
<b>Solução Padrão Potássio</b>	KNO <sub>3</sub>	101,103	1,013	TECHLAB	221015111	1000 ± 5
<b>Solução Padrão Magnésio</b>	MgCl <sub>2</sub>	95,211	0,998	CPAchem	H009.W.L5	1002,2 ± 2,2
<b>Solução Padrão Cálcio</b>	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	164,088	1,014	TECHLAB	22035047	996,8 ± 2,4

## 4.3. Preparação das soluções

### 4.3.1. Soluções de preservação

#### 4.3.1.1. Ácido Nítrico 65% ( $\text{HNO}_3$ )

O  $\text{HNO}_3$  65% é utilizado também na preservação das amostras para a determinação dos metais em águas de consumo humano e águas naturais doce por Espectroscopia de Massa Acoplada a Plasma Indutivo (ICP-MS). Deste modo, o  $\text{HNO}_3$  65% foi destilado recorrendo a um destilador DST-1000 e de acordo com as etapas descritas no procedimento experimental “Destilação de Ácido Nítrico para a Determinação de Metais” do LabAdNorte<sup>[88]</sup>. É importante referir que o  $\text{HNO}_3$  foi destilado duas vezes, assim após a primeira destilação, o mesmo ácido foi destilado.

#### 4.3.1.1. Ácido Sulfúrico $\approx 42\%$ ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

A solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  foi preparada de acordo com as etapas descritas no procedimento experimental do protocolo “Determinação de Oxidabilidade – Titulometria ISO 8467”<sup>[89]</sup> do LabAdNorte. Assim, em primeiro lugar, num balão volumétrico de 1000mL foi adicionado lentamente, sob constante agitação, 420mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1,84 g/mL, 18 mol/L) a 500mL de água. De seguida, foi necessário deixar arrefecer a solução, bem como perfazer o volume final.

### 4.3.2. Soluções utilizadas para a curva de calibração

#### 4.3.2.1. Preparação da solução mãe do padrão de Sódio (100 mg/L), Potássio (9,90 mg/L), Magnésio (9,84 mg/L) e Cálcio (9,99 mg/L) da curva de calibração

Num balão volumétrico de 100 mL foram adicionados 10 mL da solução *stock* padrão de Sódio (1000 mg/L), 1 mL da solução *stock* padrão de Potássio (990 mg/L), 1 mL da solução *stock* padrão de Magnésio (984 mg/L) e 10 mL da solução *stock* padrão de Cálcio (999 mg/L). Por fim, o volume final foi ajustado com água ultrapura.

#### 4.3.2.2. Preparação da solução mãe do padrão de Amónio (9,99 mg/L) da curva de calibração

Com o auxílio de uma micropipeta foi medido 1 mL da solução *stock* padrão de Amónio (999 mg/L) para um balão volumétrico de 100 mL e o volume final foi ajustado com água ultrapura.

#### 4.3.2.3. Preparação dos padrões da curva de calibração

Para elaborar o traçado da curva de calibração, procedeu-se à preparação de cinco soluções padrão para cada catião em estudo, a partir das soluções padrão mãe preparadas em 4.3.2.1. e 4.3.2.2. Assim, em balões volumétricos de 50 mL adicionou-se os volumes indicados na **Tabela 10**. Por fim, o volume final foi completado com água ultrapura, de modo a obter as concentrações estabelecidas, apresentadas na **Tabela 11** com as respetivas incertezas associadas.

**Tabela 10.** Volumes da solução padrão mãe ( $V_{spm}$ ) para a realização dos padrões da curva de calibração no volume de 50 mL, para cada catião.

	$V_{spm} \text{ Na}^+$ (mL)	$V_{spm} \text{ NH}_4^+$ (mL)	$V_{spm} \text{ K}^+$ (mL)	$V_{spm} \text{ Mg}^{2+}$ (mL)	$V_{spm} \text{ Ca}^{2+}$ (mL)
<b>Padrão 1</b>	1,0	0,25	1,0	1,0	1,0
<b>Padrão 2</b>	2,5	0,75	2,5	2,5	2,5
<b>Padrão 3</b>	5,0	1,25	5,0	5,0	5,0
<b>Padrão 4</b>	7,5	1,75	7,5	7,5	7,5
<b>Padrão 5</b>	10,0	2,50	10,0	10,0	10,0

**Tabela 11.** Concentrações das soluções padrão utilizadas na preparação dos padrões da curva de calibração para cada catião.

	<b>C Na<sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>C NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>C K<sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>C Mg<sup>2+</sup> (mg/L)</b>	<b>C Ca<sup>2+</sup> (mg/L)</b>
<b>Padrão 1</b>	2,0000	0,04995	0,2000	0,1968	1,9980
<b>Padrão 2</b>	5,0000	0,1499	0,5000	0,4920	4,9950
<b>Padrão 3</b>	10,000	0,2498	1,000	0,9840	9,9900
<b>Padrão 4</b>	15,000	0,3497	1,500	1,476	14,985
<b>Padrão 5</b>	20,000	0,4995	2,000	1,968	19,980

#### 4.3.3. Padrões independentes e padrões de controlo da curva de calibração

##### 4.3.3.1. Preparação da solução mãe dos padrões independentes de Sódio (99,75 mg/L), Potássio (10 mg/L), Magnésio (10,022 mg/L) e Cálcio (100 mg/L)

Num balão volumétrico de 100 mL, foram adicionados 10 mL da solução *stock* padrão de Sódio (997,5 mg/L), 1 mL da solução *stock* padrão de Potássio (10 mg/L), 1 mL da solução *stock* padrão de Magnésio (1002,2 mg/L) e 10 mL da solução *stock* padrão de Cálcio (1000 mg/L). Por fim, o volume foi ajustado com água ultrapura. Estas soluções *stock* são soluções comerciais diferentes das utilizadas na preparação dos padrões para a curva de calibração.

##### 4.3.3.2. Preparação da solução mãe dos padrões independentes Amónio (10,1 mg/L)

Com o auxílio de uma micropipeta foi medido, para um balão volumétrico de 100 mL, 1 mL da solução *stock* padrão de Amónio (1001 mg/L) e completou-se o volume com água ultrapura.

##### 4.3.3.3. Padrões de controlo da curva de calibração

Os volumes indicados na **Tabela 12** das soluções padrão preparadas em 4.3.3.1 e 4.3.3.2. foram adicionados para um balão volumétrico de 100 mL. O volume final foi completado com água ultrapura, de modo a obter as concentrações estabelecidas, na **Tabela 13**.

**Tabela 12.** Volumes da solução padrão mãe para a preparação dos padrões independentes de controlo da curva de calibração em balões volumétricos de 100 mL, para cada catião.

	$V_{\text{spm}} \text{Na}^+$ (mL)	$V_{\text{spm}} \text{NH}_4^+$ (mL)	$V_{\text{spm}} \text{K}^+$ (mL)	$V_{\text{spm}} \text{Mg}^{2+}$ (mL)	$V_{\text{spm}} \text{Ca}^{2+}$ (mL)
<b>Padrão 1</b>	1	0,25	1	1	1
<b>Padrão 3</b>	5	1,25	5	5	5
<b>Padrão 5</b>	10	2,50	10	10	10

**Tabela 13.** Concentrações das soluções padrão independentes, para cada catião em estudo.

	<b>C Na<sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>C NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>C K<sup>+</sup> (mg/L)</b>	<b>C Mg<sup>2+</sup> (mg/L)</b>	<b>C Ca<sup>2+</sup> (mg/L)</b>
<b>Padrão 1</b>	1,9950	0,05005	0,2000	0,2004	1,9980
<b>Padrão 3</b>	4,9880	0,2503	1,000	1,002	9,9900
<b>Padrão 5</b>	19,950	0,5005	1,500	2,004	19,980

É importante realçar que todas as soluções padrões dos catões foram preparadas diariamente.

#### 4.4. Condições experimentais

Os catões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio foram analisados em águas de consumo humano (ACH) e em águas naturais doces superficiais (ANDsup) por cromatografia iónica. A análise cromatográfica foi realizada num equipamento de cromatografia iónica, o cromatógrafo iónico ICS 5000, tendo em especial atenção as condições experimentais que se encontram definidas na **Tabela 14**.



**Tabela 14.** Especificações das condições definidas e do material do equipamento de cromatografia iônica ICS5000.

<b>Cromatógrafo iônico</b>	Dionex™ ICS5000
<b>Amostrador automático</b>	Dionex™ AS40
<b>Colunas</b>	Pré-coluna: Dionex Ion Pac™ CG16 RFIC™, 4μm (2 × 50 mm) Coluna analítica: Dionex Ion Pac™ CS16 RFIC™, 4μm (2 × 250 mm)
<b>Temperatura da coluna</b>	33°C
<b>Eluente</b>	30 mM de MSA (CH <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H)
<b>Loop</b>	25 μL
<b>Fluxo</b>	0,150 mL/min
<b>Temperatura</b>	40°C
<b>Detetor</b>	Supressor de condutividade: Dionex CDRS® 600 RFIC™ (2 mm)
<b>Intensidade da corrente</b>	14 mA
<b>Tempo de análise</b>	40 Min

## 4.5. Procedimento experimental

### 4.5.1. Curva de calibração

Através das soluções padrão indicadas nas **Tabelas 10 e 11** foi elaborada uma curva de calibração. Cada uma das soluções padrão de concentração preparadas no ponto 4.3.2.3., foram medidas e posteriormente, transferidas para os *vials* próprios ( $\approx$  5 mL) colocados no amostrador automático AS40, que se encontra conectado ao cromatógrafo iônico, nas condições apresentadas na **Tabela 14**.

#### 4.5.2. Amostras

As amostras foram transferidas para os *via/s* próprios ( $\approx 5$  mL), tal como as soluções padrão da curva de calibração, colocados no amostrador automático AS40, que se encontra conectado ao cromatógrafo iónico. As mesmas foram analisadas em duplicado, tendo em atenção as condições definidas na **Tabela 14**.

#### 4.5.3. Ensaio de Recuperação

Nos ensaios de recuperação dos catiões sódio, potássio, magnésio e cálcio foi adicionado 1mL da solução preparada em 4.3.2.1, num balão volumétrico de 50mL, perfazendo o volume final com a amostra em estudo. Deste modo, os ensaios de recuperação dos catiões sódio e cálcio obtiveram uma fortificação de 1 mg/L, enquanto os ensaios de recuperação dos catiões potássio e magnésio obtiveram uma fortificação de 0,1 mg/L.

Em relação aos ensaios de recuperação do catião amónio, foi adicionado 0,5 mL da solução preparada em 4.3.2.2 num balão volumétrico de 100 mL, perfazendo o volume com a amostra em estudo. Assim, a concentração de fortificação correspondeu a 0,05 mg/L.

#### 4.6. Colheita e transporte das amostras

As amostras foram colhidas em frascos de plástico, devidamente identificados, de 1000 mL (para amostras particuladas) e frascos de plástico de 150 mL (para amostras não particuladas).

No sentido de minimizar a agitação da amostra durante o seu transporte, os frascos foram enxaguados com a amostra e completamente cheios.

Mais tarde, as amostras foram transportadas para o Laboratório e, no caso, das mesmas apresentarem partículas, foi necessário filtrar 150 mL de amostra, recorrendo a um filtro de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade.

Caso as amostras não fossem analisadas no prazo de 24 horas, foi necessário preservar as mesmas. Assim, as amostras que contêm os catiões sódio, potássio, magnésio e cálcio, devem ser acidificadas a  $1 < \text{pH} < 2$  através da utilização de ácido nítrico na proporção 1:500 (1 mL  $\text{HNO}_3$ /500 mL de amostra). Pelo contrário, as amostras que contêm amónio devem ser acidificadas a  $\text{pH} < 2$  recorrendo ao ácido sulfúrico na proporção 1:250 (1 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$ /250 mL de

amostra). A preparação destas soluções de preservação anteriormente referidas, encontram-se nos pontos 4.3.1.1 e 4.3.1.2.

#### 4.7. Análise e tratamento de resultados

Os cromatogramas foram obtidos com recurso ao software Chromeleon que fornece os dados em termos de área de pico ( $\mu\text{S min}$ ) e de concentração. Através das funções presentes no Excel, procedeu-se ao tratamento dos resultados obtidos.

Com o objetivo em detetar valores discrepantes e a respetiva análise da necessidade de rejeição de valores entre réplicas, todas as réplicas foram submetidas ao teste de *Grubbs* (**Equação A1 do Anexo A**).

Este teste pressupõe à *priori* que a distribuição em causa é normal e que, portanto, devem ser rejeitadas as réplicas que ultrapassem os limites impostos pelo desvio padrão. Além disso, no caso dos valores das áreas dos picos cromatográficos obtidos para a construção de curvas de calibração, são rejeitados todos os valores que satisfazem o seguinte critério:  $|y_i - \hat{y}_i| > 2S_{y/x}$ .

Os testes estatísticos auxiliam, com critérios estatísticos, a tomada de decisão na análise dos resultados obtidos num ensaio e permitem garantir que os resultados foram ou não bem estimados. Estes testes, bem como a apresentação das incertezas associadas aos parâmetros da reta de calibração foram efetuados com um nível de confiança de 95 %.

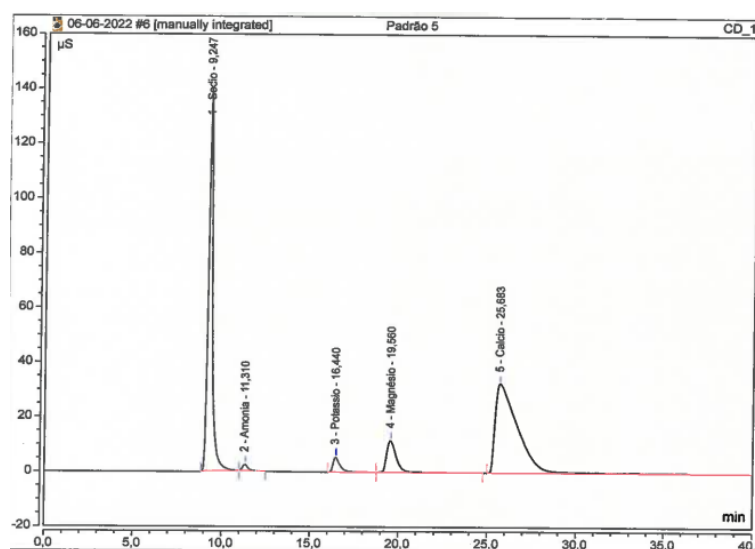
## III – Apresentação e Discussão de Resultados

## 5. Validação do método de determinação de cátions por cromatografia iónica

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos, assim como as metodologias implementadas para a validação do método analítico interno que teve por base o método descrito na norma ASTM D6919 – 17: *Standard Test Method for Determination of Dissolved Alkali and Alkaline Earth Cations and Ammonium in Water and Wastewater by Ion Chromatography* [90].

Para a implementação e validação do desempenho do método analítico, foram utilizados, como referência, os guias da Relacre nº3, Validação de Resultados em Laboratórios Químicos [69], e nº13, Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química [70], a norma ISO 11352 *Water quality – Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data*, bem como o guia da Eurochem, *The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* [69,70,72]. Deste modo, foram caracterizados os parâmetros de desempenho tais como a gama de trabalho, linearidade, sensibilidade, seletividade, limiares analíticos (limite de deteção e limite de quantificação), repetibilidade e precisão intermédia, justeza e incerteza de medição. Concluído o processo de validação do método interno, procedeu-se à implementação do procedimento do controlo de qualidade do mesmo, empregando como ferramentas as cartas de controlo.

A implementação do método para a determinação dos cátions (sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio) foi realizada em simultâneo, visto que os sinais obtidos relativos aos iões estudados surgem em tempos de retenção suficientemente diferentes para que não ocorra interferências na análise.



**Figura 19.** Cromatograma de uma solução padrão mista de Na<sup>+</sup> - 2,000 mg/L; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - 0,04995 mg/L; K<sup>+</sup> - 0,2000 mg/L; Mg<sup>2+</sup> - 0,1968 mg/L e Ca<sup>2+</sup> - 2,000 mg/L nas condições experimentais previamente definidas.

A **Figura 19** representa um cromatograma de uma solução padrão mista contendo os cinco cátions a analisar. Através do cromatograma representado na **Figura 19** foi possível obter os valores das áreas dos picos, assim como dos tempos de retenção obtidos para cada um dos cátions, por ordem crescente: sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, tal como se verifica na **Tabela 15**.

**Tabela 15.** Dados obtidos a partir do cromatograma de uma solução padrão mista.

	<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>Área (<math>\mu</math>S cm)</b>	<b>Tempo de retenção (min)</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	20,00	38,9	9,25
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,4995	0,835	11,3
<b>K<sup>+</sup></b>	2,000	2,51	16,4
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	1,968	7,16	19,6
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	19,98	46,6	25,7

### 5.1. Gama de trabalho

O processo de validação do método iniciou-se na escolha da gama de concentrações em que os analitos possam ser determinados de forma rigorosa tendo em consideração o objetivo do ensaio, para que se obtenha o modelo de melhor ajuste (linear ou quadrático), da resposta do equipamento em função da temperatura, através da curva de calibração.

Deste modo, foi necessário realizar um teste estatístico, especificamente o teste de homogeneidade de variâncias recorrendo à análise de dez réplicas independentes da solução padrão de menor concentração e dez réplicas independentes da solução padrão de maior concentração, uma vez que os extremos da curva de calibração são suscetíveis a apresentar variâncias diferentes. Os dados obtidos das áreas dos picos, para a avaliação da gama de trabalho dos cátions em estudo (sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio) encontram-se apresentados na **Tabela K3.1 (Anexo K3)**. É importante salientar que nenhuma réplica foi rejeitada segundo o teste de *Grubbs*.

Através dos dados obtidos na **Tabela K3.1**, o valor de PG foi determinado de acordo com as **equações A3** ou **A4 (Anexo A)** de forma a ser possível realizar o estudo da homogeneidade de variâncias pelo teste de *Fisher-Snedecor* (**Tabela 16**).

**Tabela 16.** Valores obtidos nas variâncias das áreas dos picos para cada solução padrão dos cátions analisados, para o estudo do ajuste da gama de trabalho, recorrendo ao teste de homogeneidade de variâncias.

<b>Catão</b>	<b>C (mg/L)</b>	<b>s<sup>2</sup> (µS min)<sup>2</sup></b>	<b>PG</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>2,0000</b>	0,0044	1,980
	<b>20,000</b>	0,0087	
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>0,04995</b>	0,0000056	2,652
	<b>0,4995</b>	0,000015	
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>0,2000</b>	0,000037	2,863
	<b>2,000</b>	0,00011	
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>0,1968</b>	0,00014	2,565
	<b>1,968</b>	0,00037	
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>1,9980</b>	0,012	1,728
	<b>19,980</b>	0,020	

Após a realização do teste de *Fisher-Snedecor* e atendendo aos dados apresentados na **Tabela 16**, é possível verificar que todos os valores de PG são inferiores ao valor de F tabelado (3,179), para n-1 graus de liberdade. Nesse sentido, conclui-se que não existem diferenças significativas entre as variâncias referentes às soluções padrão de maior e menor concentração e, por conseguinte, a gama de trabalho encontra-se bem ajustada para todos os cátions em estudo.

## 5.2. Curva de calibração

Após verificar-se que a gama de trabalho se encontra bem ajustada para todos os cátions em estudo, o passo seguinte necessário para o processo de validação do método baseia-se na construção da curva de calibração. Assim, procedeu-se à representação das áreas dos picos obtidos em função da concentração de cinco soluções padrão, pertencentes à gama de trabalho definida (**Tabela 17**).

Para a determinação da incerteza expandida foi necessário recorrer à metodologia passo-a passo, como exemplificado para o padrão de concentração 0,500 mg/L do ião magnésio na **Figura K2.1 (Anexo K2)**.

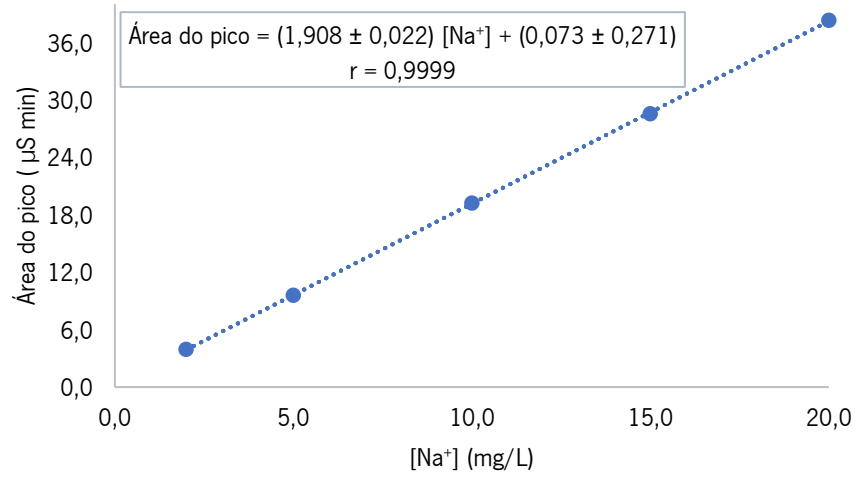
**Tabela 17.** Valores de concentração com respetiva incerteza expandida e área do pico utilizados para a construção da curva de calibração, para cada catião.

<b>Catião</b>	<b>C ± U (mg/L)</b>	<b>Área (µS min)</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	2,0000 ± 0,0068	3,910
	5,000 ± 0,017	9,593
	10,000 ± 0,034	19,21
	15,000 ± 0,053	28,55
	20,000 ± 0,068	38,31
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,04995 ± 0,00013	0,175
	0,14990 ± 0,00032	0,318
	0,24980 ± 0,00054	0,489
	0,34970 ± 0,00075	0,638
	0,4995 ± 0,0011	0,843
<b>K<sup>+</sup></b>	0,2000 ± 0,0014	0,543
	0,5000 ± 0,0035	0,888
	1,0000 ± 0,0070	1,367
	1,500 ± 0,010	2,195
	2,000 ± 0,014	2,530
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,1968 ± 0,0014	0,7410
	0,4920 ± 0,0034	1,863
	0,9840 ± 0,0067	3,715
	1,476 ± 0,010	5,642
	1,968 ± 0,014	7,529
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	1,9980 ± 0,0081	4,663
	4,995 ± 0,020	11,48
	9,990 ± 0,041	22,37
	14,985 ± 0,061	34,10
	19,980 ± 0,081	45,05

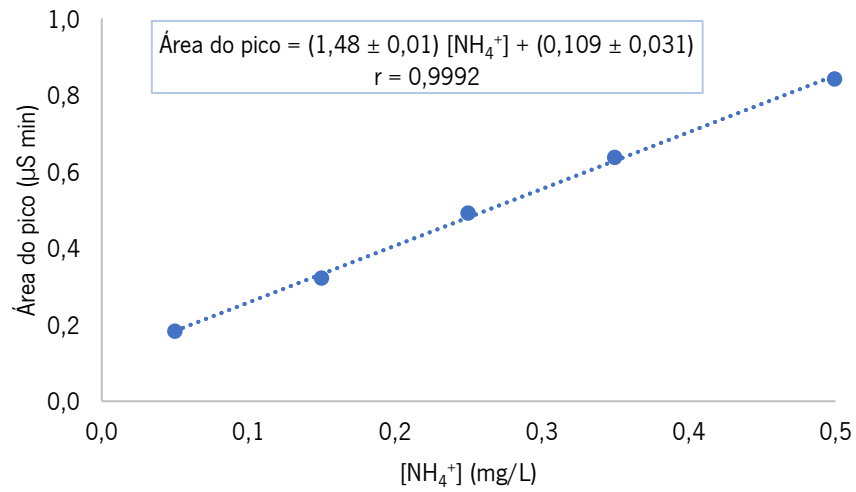
As retas de calibração obtidas, recorrendo a um modelo linear, são apresentadas na **Figura 20**, especificamente, para os catiões sódio (**Figura 21A**), amónio (**Figura 21B**), potássio (**Figura 21C**), magnésio (**Figura 21D**) e cálcio (**Figura 21E**).



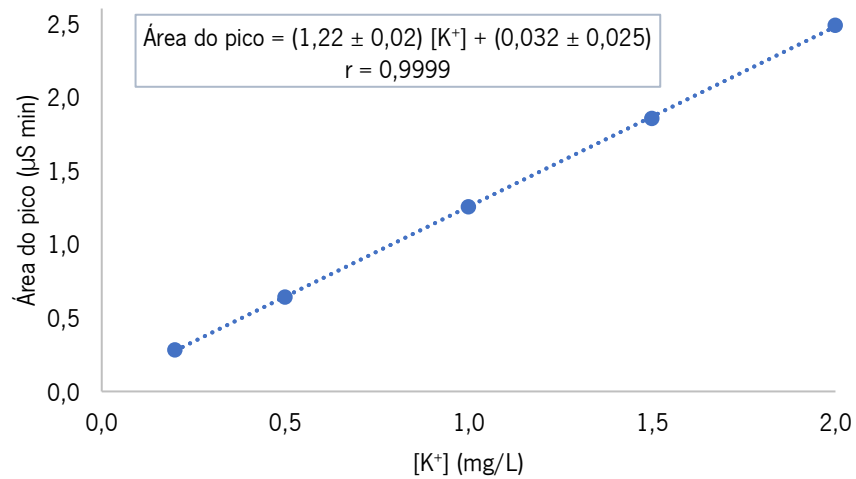
**A**



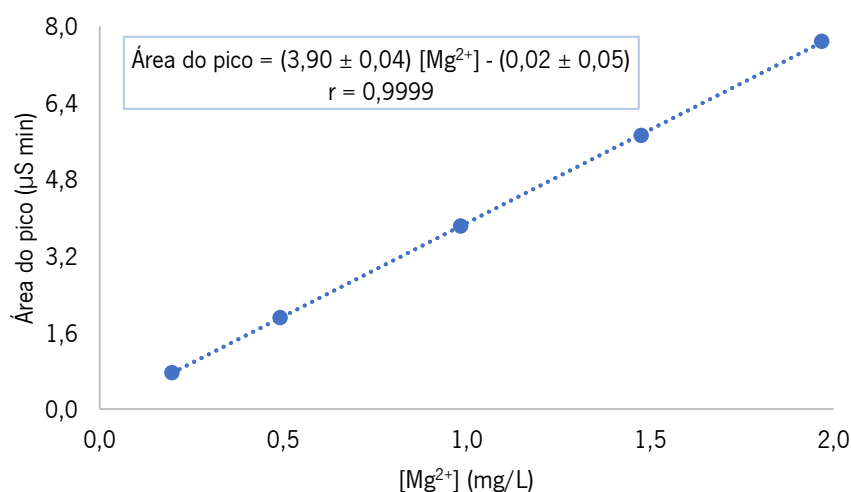
**B**



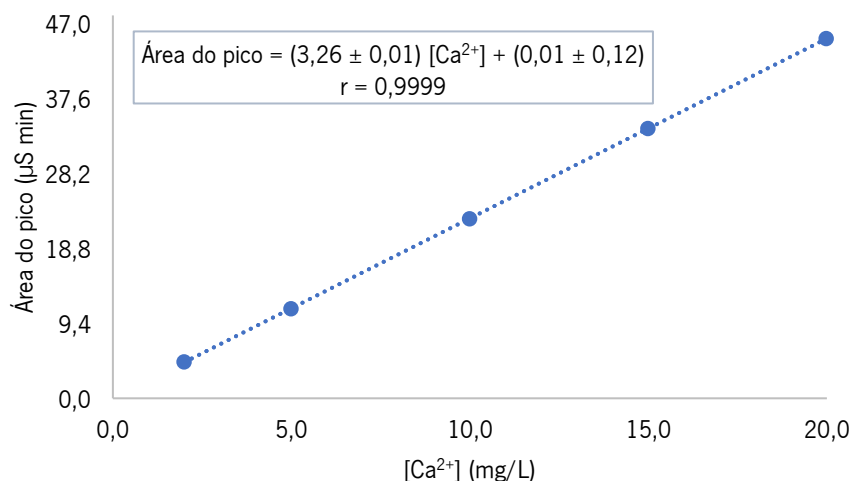
**C**



**D**



**E**



**Figura 20.** Representação gráfica da reta de calibração das áreas dos picos em função da concentração das soluções padrão: A) Na<sup>+</sup>; B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; C) K<sup>+</sup>; D) Mg<sup>2+</sup> e E) Ca<sup>2+</sup>.

A partir do traçado das curvas de calibração foi possível estimar os valores das incertezas associadas ao declive (**tS<sub>y</sub>**) e à ordenada na origem (**tS<sub>x</sub>**) de acordo com as **Equações B3 e B4 (Anexo B)**, respetivamente, para cada catião e considerando o valor de *t* indicado na tabela *t-student* para n-2 G.L e 95 % de confiança igual a 3,182. Os valores determinados das incertezas, bem como do coeficiente de correlação são apresentados na **Tabela 18**.

**Tabela 18.** Intervalos de confiança da ordenada na origem ( $tS_0$ ) e do declive ( $tS_1$ ) da curva de calibração, assim como o valor do coeficiente de correlação ( $r$ ), para cada catião.

	$a \pm tS_0$ ( $\mu\text{S min}$ )	$b \pm tS_1$ ( $\mu\text{S min}$ )	R
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,073 $\pm$ 0,271	1,908 $\pm$ 0,022	0,9999
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,109 $\pm$ 0,031	1,48 $\pm$ 0,01	0,9992
<b>K<sup>+</sup></b>	0,032 $\pm$ 0,025	1,22 $\pm$ 0,02	0,9999
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	-0,02 $\pm$ 0,05	3,90 $\pm$ 0,04	0,9999
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0,01 $\pm$ 0,12	3,26 $\pm$ 0,01	0,9999

Atendendo às representações gráficas apresentadas na **Figura 20**, bem como aos valores obtidos na **Tabela 18**, é possível verificar que o coeficiente de correlação ( $r$ ) é superior a 0,995 (critério definido pelo Guia Relacre n.º 13)<sup>(70)</sup>, para todos os catiões, o que permite considerar a reta de calibração adequada como modelo matemático para o cálculo da concentração do catião, alvo a ser determinada nas diversas amostras. Esta evidência foi sustentada pela realização do Teste de *Mandel*.

Da análise da **Tabela 18** também se verifica que a incerteza relativa associada ao declive é baixa, 2,2 %, 1,0 %, 2,0 %, 4,0 % e 1,0 % para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, respetivamente. Além disso, a origem está incluída no intervalo de confiança da ordenada na origem, apenas na reta de calibração do ião magnésio.

### 5.3. Linearidade

A linearidade de um método corresponde à capacidade de obter resultados proporcionais às concentrações do analito. Tal como referido anteriormente, a avaliação deste parâmetro é realizada recorrendo ao Teste de *Mandel*, que efetua a comparação entre o ajuste dos valores experimentais com um polinómio de primeiro grau e o ajuste dos valores experimentais com um polinómio de segundo grau. Além disso, para comprovar que elevados coeficientes de correlação ( $r$ ) indicam que os valores experimentais se ajustam a um modelo linear, é necessário efetuar este teste estatístico.

Os parâmetros utilizados para a aplicação do Teste de *Mandel* foram calculados a partir da **Equação B2, Equação C2, Equação C3 e Equação C4 (Anexos B e C)**, que se encontram apresentados na **Tabela 19**.

**Tabela 19.** Valores obtidos e utilizados na realização do Teste de Mandel, para cada catião, com o objetivo de confirmar a linearidade.

	$S_{y/x}^2$ ( $\mu\text{S min}$ ) <sup>2</sup>	$S_y^2$ ( $\mu\text{S min}$ ) <sup>2</sup>	$DS^2$ ( $\mu\text{S min}$ ) <sup>2</sup>	PG
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,010	0,013	0,0049	0,384
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,00013	0,00012	0,00015	1,33
<b>K<sup>+</sup></b>	0,000084	0,000043	0,00017	3,86
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,00036	0,00036	0,00036	1,01
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0,0022	0,0011	0,0044	4,02

Tendo em conta os parâmetros obtidos apresentados na **Tabela 19**, é possível verificar que os valores de PG são inferiores ao valor de F tabelado da distribuição de Fisher-Snedecor (18,51). Assim, conclui-se que a função de calibração de melhor ajuste é a linear e que, a função polinomial não produz o melhor ajuste dos pontos experimentais.

#### 5.4. Sensibilidade

Após comprovar-se que a curva de calibração é definida por um modelo linear, a sensibilidade pode ser determinada através da primeira derivada da curva de calibração – o declive, *b*. Assim, este parâmetro de desempenho permanece constante ao longo de toda a gama de trabalho. Através da sensibilidade é possível verificar se pequenas variações na concentração dos analitos produzem variações na resposta instrumental obtida. Além disso, a determinação da sensibilidade de um método é importante quando se pretende acompanhar a sua evolução ao longo do tempo ou para comparação de diversos métodos analíticos. Nesse sentido, a estabilidade da curva de calibração foi avaliada durante doze dias.

A **Tabela K4.1. (Anexo K4)** apresenta os valores dos declives de 12 retas de calibração para cada catião em estudo, realçando que nenhum valor foi rejeitado através do teste de *Grubbs*.

Atendendo aos valores obtidos, foi possível determinar a média, o desvio padrão (**s**), bem como o coeficiente de variação (**CV**), de modo a comparar a sensibilidade do método para cada um dos cátions (**Tabela 20**).

**Tabela 20.** Valores obtidos da média, desvio padrão e coeficiente de variação de 12 retas de calibração, tendo em vista a avaliação da sensibilidade do método.

	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b><math>\bar{b}</math> (<math>\mu\text{S min L mg}^{-1}</math>)</b>	1,9	1,6	1,3	3,7	2,3
<b>s (<math>\mu\text{S min L mg}^{-1}</math>)</b>	0,010	0,041	0,070	0,11	0,030
<b>CV (%)</b>	0,53	2,5	5,5	3,0	1,3

Através da análise dos resultados apresentados na **Tabela 20**, verificam-se, para todos os cátions, reduzidos valores de desvio padrão (**s**), bem como coeficientes de variação (**CV**) inferiores ao critério definido pelo laboratório para este parâmetro de 10 %, refletindo assim a baixa dispersão dos valores de sensibilidade obtidos.

### 5.5. Seletividade

A seletividade consiste na capacidade que um método apresenta para quantificar com a confiança necessária o analito de interesse na presença de componentes que poderão influenciar o sinal instrumental obtido, e, assim a sua quantificação. Deste modo, este parâmetro de desempenho foi avaliado recorrendo aos resultados obtidos em ensaios de recuperação, em que se adicionaram quantidades conhecidos de analito (amostra fortificada), efetuados ao longo do tempo em amostras reais que englobaram toda a gama de trabalho, em duplicado, com matrizes diferentes.

Os resultados obtidos a partir de dez ensaios de recuperação, efetuados em condições de precisão intermédia e em amostras reais, para duas matrizes diferentes (águas de consumo humano e águas naturais doces superficiais), encontram-se na **Tabela K5.1** e na **Tabela K5.2 (Anexo K5)**.

Atendendo aos dados obtidos se na **Tabela K5.1** e na **Tabela K5.2 (Anexo K5)** foi efetuado o cálculo dos valores de recuperação média (**Equação D3**), bem como do desvio padrão dos ensaios de recuperação realizados para ambas as matrizes, para cada catião, tal como se verifica na **Tabela 21**.

**Tabela 21.** Taxa de recuperação média obtida em dez ensaios de recuperação, em duas matrizes diferentes, bem como o desvio padrão obtido para os ensaios de recuperação.

Matriz	Na <sup>+</sup>		NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		K <sup>+</sup>		Mg <sup>2+</sup>		Ca <sup>2+</sup>	
	R (%)	s (%)	R (%)	s (%)	R (%)	s (%)	R (%)	s (%)	R (%)	s (%)
<b>Água de consumo humano</b>	104,0	6,0	98,4	7,8	108,9	6,4	100,5	9,6	101,7	7,5
<b>Água natural doce superficial</b>	106,9	5,7	98,7	4,7	102,7	6,6	100,5	7,9	99,2	4,6

Pela análise dos valores presentes na **Tabela 21**, é possível verificar que as taxas de recuperação média obtidas, para todos os catiões, não ultrapassaram o intervalo de aceitação estabelecido pelo laboratório (90 - 110 %). Também foi possível verificar, que os desvios padrões obtidos são inferiores a 10 %, portanto, dentro dos critérios definidos pelo laboratório.

Deste modo, uma vez que as taxas de recuperação se encontram dentro do intervalo de aceitação e próximas de 100 %, conclui-se que o método analítico é seletivo nas matrizes estudadas, isto é, tanto para águas de consumo humano como para águas naturais doces superficiais, possibilitando a determinação seletiva dos catiões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio.

## 5.6. Limiares analíticos

Após confirmação da linearidade e da seletividade do método de determinação, a etapa seguinte consistiu na determinação dos limiares analíticos, permitindo avaliar as concentrações mais baixas dos catiões possíveis de serem detetadas (LD) e quantificadas (LQ).

De modo a determinar os limiares analíticos do método em estudo, foram analisados dez brancos fortificados, com as concentrações do padrão de menor concentração da curva de calibração, para cada catião (Na<sup>+</sup>: 2,000 mg/L; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 0,04995 mg/L; K<sup>+</sup>: 0,2000 mg/L; Mg<sup>2+</sup>: 0,1968 mg/L e Ca<sup>2+</sup>: 1,9980 mg/L).

Os dados de concentração obtidos da análise de dez réplicas de brancos fortificados, em condições de repetibilidade, encontram-se apresentados na **Tabela K6.1 (Anexo K6)**, sendo que nenhum valor foi rejeitado pelo teste de *Grubbs*.

Com base nos resultados obtidos presentes na **Tabela K6.1 (Anexo K6)**, foi possível a determinação da média, do desvio padrão (**s**) e do desvio padrão corrigido (**s'**), tal como se verifica na **Tabela 22**.

**Tabela 22.** Parâmetros determinados através da análise de dez réplicas de brancos fortificados, especialmente, a média, o desvio padrão e o desvio padrão corrigido obtidos.

	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b><math>\bar{C}</math> (mg/L)</b>	1,98	0,0473	0,227	0,203	2,02
<b>s (mg/L)</b>	0,048	0,0026	0,013	0,0093	0,083
<b>s' (mg/L)</b>	0,015	0,00083	0,0041	0,0029	0,026

Atendendo aos valores apresentados na **Tabela 24**, referente aos dez ensaios independente dos brancos fortificados, os limiares analíticos foram calculados, recorrendo às **equações E3 e E4 (Anexo E)**, respetivamente, apresentados na **Tabela 23**.

**Tabela 23.** Limiares analíticos do método de determinação dos catiões em estudo.

	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b>LD (mg/L)</b>	0,050	0,0028	0,013	0,0097	0,087
<b>LQ (mg/L)</b>	0,15	0,0083	0,041	0,030	0,26

De acordo com os resultados obtidos na **Tabela 23**, é possível afirmar que o método de determinação consegue detetar os iões sódio, amónio, magnésio, potássio e cálcio a concentrações significativamente reduzidas, 0,050; 0,0028; 0,013; 0,0097 e 0,087 mg/L, respetivamente, mas apenas para valores superiores a 0,15, 0,0083, 0,041, 0,030 e 0,26 mg/L é que o método é capaz de quantificar.

Estes limites alcançados são considerados adequados, uma vez que o Decreto-Lei n.º 152/2017<sup>[10]</sup> e o Decreto-Lei n.º 236/98<sup>[22]</sup> determinam para águas de consumo humano e águas naturais doces, respetivamente, que o limite de deteção obtido não excederá a percentagem do valor paramétrico requerida, bem como do valor máximo recomendado, para todos os catiões.

Contudo, uma vez que os valores determinados de LD e LQ do método são extremamente baixos e o equipamento não apresenta a devida capacidade para obter resultados fiáveis em limites tão reduzidos, foi necessário ajustar o valor do padrão mais baixo escolhido para a curva de calibração.

Nesse sentido, foi implementado o procedimento alternativo que permite a confirmação, por parte dos laboratórios, da solução padrão de menor concentração da curva de calibração (Na<sup>+</sup>: 2,000 mg/L; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 0,04995 mg/L; K<sup>+</sup>: 0,2000 mg/L; Mg<sup>2+</sup>: 0,1968 mg/L e Ca<sup>2+</sup>: 1,9980 mg/L), como limiar analítico de quantificação.

Desta forma, a partir dos resultados obtidos de dez réplicas independentes do padrão de menor concentração da curva de calibração (**Tabela K6.2 do Anexo K6**), foi possível a determinação da média, do desvio padrão, do coeficiente de variação (**CV**), assim como do erro relativo (**Er**), tendo como objetivo a confirmação do LQ do método, tal como se verifica na **Tabela 24**.

**Tabela 24.** Parâmetros determinados recorrendo à análise de dez réplicas independentes do padrão de menor concentração da curva de calibração, especialmente, a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação e o erro relativo.

	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
<b><math>\bar{C}</math> (mg/L)</b>	2,044	0,0472	0,198	0,201	2,015
<b>s (mg/L)</b>	0,033	0,0033	0,013	0,0082	0,047
<b>CV (%)</b>	1,6	6,9	6,8	4,1	2,4
<b>Er (%)</b>	2,5	5,8	0,90	4,3	0,84

Atendendo aos resultados obtidos da **Tabela 24**, verifica-se, para todos os catiões, que o padrão de menor concentração da curva de calibração apresenta valores de coeficiente de variação (**CV**) e erro relativo (**Er**) inferiores ao critério estabelecido pelo laboratório de 10%, em condições de precisão intermédia.



Assim, é possível concluir que o padrão de concentração mais baixa escolhido para a elaboração da curva de calibração, para cada catião, corresponde ao limite de quantificação exequível para o método de determinação de catiões.

## 5.7. Precisão

Durante este trabalho foi possível avaliar a precisão sob duas condições específicas: a repetibilidade e a precisão intermédia, com o objetivo de comparar o grau de concordância entre os valores obtidos. Não foi possível avaliar a precisão em condições de reprodutibilidade, uma vez que o seu estudo requer a realização de ensaios em diferentes laboratórios.

### 5.7.1. Repetibilidade

Como referido anteriormente, a repetibilidade do método expressa a precisão obtida em análises realizadas nas mesmas condições experimentais, isto é, no mesmo dia, com mesmo o analista e equipamento, entre outros.

Assim, a precisão em condições de repetibilidade foi avaliada, para cada catião, recorrendo à análise, num único dia de dez soluções independentes dos padrões de menor e maior concentração da reta de calibração, que equivalem respetivamente, ao limite de quantificação e ao limite de aplicabilidade. Com o objetivo de avaliar a repetibilidade do método, os resultados obtidos para cada catião, encontram-se expostos na **Tabela k7.1 (Anexo K7)**.

Assim, com base na análise dos resultados exibidos na **Tabela K7.1 (Anexo K7)**, foi possível realizar o cálculo dos parâmetros que determinam a repetibilidade do método, nomeadamente, o limite de repetibilidade (**r**), o desvio padrão (**s**), o coeficiente de variação (**CV**), bem como o erro relativo (**Er**), apresentados na **Tabela 25**, para cada catião.

**Tabela 25.** Resultados obtidos dos parâmetros de avaliação da precisão, em condições de repetibilidade.

	<b>Na<sup>+</sup></b>		<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>		<b>K<sup>+</sup></b>		<b>Mg<sup>2+</sup></b>		<b>Ca<sup>2+</sup></b>	
<b>Padrão (mg/L)</b>	<b>1,9950</b>	<b>19,950</b>	<b>0,05005</b>	<b>0,5005</b>	<b>0,2000</b>	<b>2,000</b>	<b>0,2004</b>	<b>2,004</b>	<b>1,9980</b>	<b>19,980</b>
<b><math>\bar{C}</math> (mg/L)</b>	2,062	20,042	0,0488	0,4996	0,2272	2,002	0,1958	2,001	2,092	20,01
<b><math>s</math> (mg/L)</b>	0,062	0,062	0,0021	0,0023	0,013	0,021	0,0076	0,0061	0,065	0,056
<b><math>r</math> (mg/L)</b>	0,17	0,18	0,0059	0,0063	0,036	0,059	0,021	0,017	0,18	0,16
<b>CV (%)</b>	3,0	0,31	4,3	0,45	5,6	1,1	3,9	0,30	3,12	0,28
<b>Er (%)</b>	3,4	0,46	-2,4	-0,17	0,14	0,0010	-2,3	2,1	4,7	0,15

Através da análise dos resultados obtidos na **Tabela 25**, verifica-se que o método revela, para todos os cátions, um erro relativo (**Er**) e um coeficiente de variação (**CV**) muito reduzidos para ambos os padrões analisados, estando de acordo com o critério definido pelo laboratório de 10%. Além disso, é possível concluir que para concentrações menores a precisão apresenta uma maior variância do que para concentrações maiores, para todos os cátions, cumprindo assim com o previsto. Assim, o método apresenta uma repetibilidade intra-dia satisfatória.

Em relação ao limite de repetibilidade, este parâmetro indica o valor abaixo do qual se deve situar, com uma probabilidade de 95 %, a diferença absoluta entre dois resultados obtidos em ensaios independentes, em condições de repetibilidade. Assim, os valores de limite de repetibilidade obtidos foram 0,17 e 0,18 mg/L para o padrão mais diluído e mais concentrado, do íon sódio. Nesse sentido, num curto espaço de tempo, a diferença entre dois duplicados relativos ao padrão de 1,995 e 19,950 mg/L deverá ser inferior a 0,17 e 0,18 mg/L, respetivamente. No caso do íon amónio, em medições efetuadas no mesmo dia, os duplicados dos padrões 0,05005 e 0,5005 não deverão apresentar diferenças superiores a 0,0059 e 0,0063 mg/L, respetivamente. No caso do íon potássio, a diferença entre dois duplicados relativos ao padrão de 0,200 e 2,000 mg/L deverá ser inferior a 0,036 e 0,059 mg/L, respetivamente. A diferença entre duplicados do padrão mais diluído e mais concentrado do íon magnésio de 0,2004 e 2,0044 mg/L não poderá ser superior a 0,021 e 0,017 mg/L, respetivamente. Por último, num curto espaço de tempo, a diferença entre dois duplicados deverá ser inferior a 0,18 e 0,16 mg/L para os padrões de 1,998 e 19,980 mg/L, respetivamente, do íon cálcio.

### 5.7.2. Precisão Intermédia

A precisão em condições de precisão intermédia foi avaliada recorrendo à análise de dez soluções independentes, em dias diferentes, para três diferentes níveis de concentração, correspondentes ao padrão no limite de quantificação, ao padrão de concentração intermédia e ao padrão mais elevado da curva de calibração, para cada um dos catiões em estudo. Os dados obtidos para a determinação da precisão intermédia de três conjuntos de dez análises independentes, para cada um dos três níveis de concentração da curva de calibração, para cada catião, encontram-se expostos nas **Tabelas K8.1, K8.2 e K8.3 (Anexo K8)**.

Com base nos resultados obtidos em termos de concentração, ao longo do tempo, foi possível determinar a média, o desvio padrão (**s**), o limite de repetibilidade (**r**), o coeficiente de variação (**CV**) e o erro relativo (**Er**), para cada catião. Os valores obtidos destes parâmetros para o ião sódio encontram-se na **Tabela 26**. A determinação destes parâmetros teve como objetivo avaliar o desempenho do método em termos de precisão, em condições de precisão intermédia.

**Tabela 26.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião sódio.

	<b>Na<sup>+</sup></b>								
	<b>1,9950</b>			<b>9,9750</b>			<b>19,950</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>C</b> <b>(mg/L)</b>	1,971	2,024	2,013	10,002	10,092	10,096	20,093	20,019	20,220
<b>s</b> <b>(mg/L)</b>	0,039	0,039	0,037	0,087	0,13	0,028	0,23	0,093	0,13
<b>r</b> <b>(mg/L)</b>	0,11	0,11	0,10	0,25	0,36	0,078	0,66	0,26	0,36
<b>CV (%)</b>	2,0	1,9	1,8	0,87	1,3	0,28	1,2	0,35	0,64
<b>Er (%)</b>	-1,2	1,5	0,90	0,27	1,2	1,2	0,72	0,095	1,1

Atendendo aos valores apresentados na **Tabela 26**, é possível verificar, para todos os níveis de concentração avaliados, valores obtidos de coeficiente de variação (**CV**) e erro relativo (**Er**) inferiores a 10 %. Assim, é possível aferir o cumprimento de forma satisfatória do critério definido pelo laboratório para a precisão.

Além disso, verificou-se, apenas no dia 15 de junho, uma diminuição dos valores do coeficiente de variação em função do aumento de concentração, o que seria de esperar.

Para o catião amónio, a avaliação do desempenho do método em termos de precisão, em condições de precisão intermédia, foi realizada recorrendo ao cálculo dos parâmetros representados na **Tabela 27**.

**Tabela 27.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião amónio.

	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>								
	<b>0,05005</b>			<b>0,2503</b>			<b>0,5005</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>C</b> <b>(mg/L)</b>	0,0474	0,0456	0,0454	0,2478	0,2521	0,2518	0,4947	0,5046	0,5009
<b>s</b> <b>(mg/L)</b>	0,0032	0,0004	0,0004	0,011	0,0044	0,0030	0,0048	0,0024	0,0010
<b>r</b> <b>(mg/L)</b>	0,0089	0,0010	0,0011	0,030	0,012	0,0084	0,014	0,0066	0,0027
<b>CV (%)</b>	6,7	0,77	0,84	4,3	1,7	1,2	0,98	0,47	0,19
<b>Er (%)</b>	-5,3	-8,9	-9,3	-0,97	0,75	0,64	-1,2	0,81	0,082

A partir da análise da **Tabela 27**, verifica-se mais uma vez que os valores obtidos de coeficiente de variação (**CV**) e erro relativo (**Er**) revelaram-se abaixo dos 10% exigidos, cumprindo assim com o critério especificado pelo laboratório, para os três níveis de concentração. Ademais, apenas no dia 13 de junho, verifica-se a tendência esperada de diminuição do coeficiente de variação em função do aumento da concentração.

Para o catião potássio, os valores dos parâmetros obtidos para a determinação da precisão do método em condições de precisão intermédia, encontram-se na **Tabela 28**.

Após análise da **Tabela 28**, é possível demonstrar, uma vez mais, o cumprimento dos valores de coeficiente de variação (**CV**) e erro relativo (**Er**) em relação ao estabelecido pelo laboratório. Além disso, apenas no dia 17 de junho, foi comprovada a tendência decrescente dos valores de CV em função do aumento da concentração.

**Tabela 28.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião potássio.

<b>K<sup>+</sup></b>									
	<b>0,2000</b>			<b>1,000</b>			<b>2,000</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>C (mg/L)</b>	0,2012	0,1987	0,1915	0,9863	1,020	1,012	1,974	2,032	2,012
<b>s (mg/L)</b>	0,010	0,0032	0,0059	0,031	0,0071	0,014	0,066	0,024	0,021
<b>r (mg/L)</b>	0,028	0,0090	0,017	0,087	0,020	0,039	0,19	0,066	0,058
<b>CV (%)</b>	5,0	1,6	3,1	3,2	0,70	1,4	3,4	1,2	1,0
<b>Er (%)</b>	0,62	-0,67	-4,3	-1,4	2,0	1,2	-1,3	1,6	0,58

Seguidamente, da mesma forma que os catiões anteriores, a precisão do método em condições de precisão intermédia para o catião magnésio, foi avaliada recorrendo aos parâmetros expostos na **Tabela 29**.

**Tabela 29.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião magnésio.

<b>Mg<sup>2+</sup></b>									
	<b>0,2004</b>			<b>1,002</b>			<b>2,004</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>C (mg/L)</b>	0,2009	0,1908	0,1997	0,9996	0,9924	1,004	1,994	2,016	2,012
<b>s (mg/L)</b>	0,0029	0,00075	0,0058	0,0043	0,013	0,0052	0,023	0,0069	0,010
<b>r (mg/L)</b>	0,0081	0,0021	0,016	0,011	0,038	0,015	0,065	0,019	0,029
<b>CV (%)</b>	1,4	0,39	2,9	0,42	1,4	0,52	1,2	0,34	0,51
<b>Er (%)</b>	0,24	-4,8	-0,37	-0,26	-0,98	0,22	-0,55	0,59	0,39

Após análise da **Tabela 29**, verifica-se também valores obtidos de coeficiente de variação (**CV**) e erro relativo (**Er**) significativamente reduzidos, para todos os níveis de concentração, permitindo assim cumprir de forma satisfatória o critério definido pelo laboratório. Tal como no catião potássio, apenas no dia 17 de junho, verifica-se a redução do CV à medida que o nível de concentração aumenta.

Por último, à semelhança do processo realizados para os catiões anteriores, para a avaliação da precisão do método em condições de precisão intermédia para o catião cálcio, foi necessário determinar os parâmetros apresentados na **Tabela 30**.

**Tabela 30.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, para cada nível de concentração, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do método para o catião cálcio.

	<b>Ca<sup>2+</sup></b>								
	<b>1,9980</b>			<b>9,9900</b>			<b>19,980</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>C</b> <b>(mg/L)</b>	1,973	1,990	2,003	9,977	10,122	10,097	20,194	20,188	20,096
<b>s</b> <b>(mg/L)</b>	0,022	0,015	0,013	0,073	0,12	0,034	0,059	0,072	0,065
<b>r</b> <b>(mg/L)</b>	0,061	0,042	0,035	0,20	0,33	0,095	0,17	0,20	0,18
<b>CV (%)</b>	1,1	0,75	0,62	0,73	1,2	0,34	0,29	0,35	0,32
<b>Er (%)</b>	-1,3	-0,4	0,25	-0,13	1,3	1,1	1,1	1,0	0,58

Com base nos resultados obtidos presentes na **Tabela 30**, verifica-se novamente valores bastante reduzidos de coeficiente de variação (**CV**), assim como de erro relativo (**Er**), para todos os níveis de concentração, cumprindo assim de forma satisfatória o critério estabelecido pelo laboratório. Foi também possível verificar a diminuição do valor do CV à medida que o nível de concentração aumenta, exceto no dia 15 de junho.

Para a determinação do valor da precisão intermédia foi fundamental recorrer à ferramenta estatística da análise de variância (ANOVA) de fator único. Cada um dos três grupos de dez soluções independentes foi avaliado em condições de repetibilidade dentro do grupo, no mesmo dia e em condições de precisão intermédia entre grupos, realizados em dias diferentes, para cada catião.

Assim, após a realização da ANOVA de fator único, foi possível determinar diversos parâmetros, especificamente, o desvio padrão de repetibilidade (**s<sub>r</sub>**), o desvio padrão “entre grupos” (**s<sub>between</sub>**) e o desvio padrão de precisão intermédia (**s<sub>i</sub>**), através das **equações A11, A13 e A12 (Anexo A)**, respetivamente. O limite de precisão intermédia (**r**) e o coeficiente de variação de repetibilidade (**CV<sub>r</sub>**) e de precisão intermédia (**CV<sub>i</sub>**) também foram determinados com base na análise da ANOVA unifatorial, para cada catião. Os valores obtidos encontram-se na **Tabela 31**.

**Tabela 31.** Resultados obtidos da precisão em condições de repetibilidade (CV<sub>r</sub>) e de precisão intermédia (CV<sub>i</sub>) do padrão referente ao limite de quantificação, para cada catião com o auxílio da ANOVA.

	<b>MQ<sub>w</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>r</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>MQ<sub>b</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>between</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>i</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>r</b> <b>(mg/L)</b>	<b>CV<sub>r</sub></b> <b>(%)</b>	<b>CV<sub>i</sub></b> <b>(%)</b>
<b>Na<sup>+</sup></b> <b>1,9950</b> <b>(mg/L)</b>	0,0015	0,038	0,0078	0,0080	0,039	0,11	1,9	2,0
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b> <b>0,05005</b> <b>(mg/L)</b>	0,0000034	0,0019	0,000012	0,0010	0,0021	0,0058	4,0	4,5
<b>K<sup>+</sup></b> <b>0,2000</b> <b>(mg/L)</b>	0,000049	0,0070	0,00025	0,0045	0,0083	0,023	3,5	4,2
<b>Mg<sup>2+</sup></b> <b>0,2004</b> <b>(mg/L)</b>	0,000014	0,0038	0,00031	0,0054	0,0066	0,019	1,9	3,3
<b>Ca<sup>2+</sup></b> <b>1,9980</b> <b>(mg/L)</b>	0,00028	0,017	0,0023	0,0045	0,017	0,049	0,85	0,87

Com base na análise dos resultados expostos na **Tabela 31**, verifica-se preliminarmente, que os valores de precisão intermédia obtidos para o padrão de concentração mais baixa da curva de calibração relativos aos iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio foram 0,039, 0,0021, 0,0083, 0,0066 e 0,017 mg/L, respetivamente.

Foi também possível a obtenção dos valores de precisão em condições de repetibilidade, 0,038, 0,0019, 0,0070, 0,0038 e 0,017 mg/L, respetivamente correspondendo aos valores obtidos relativos aos três conjuntos de análises realizados em dias diferentes. Além disso, estes valores obtidos após a realização da ANOVA de fator único não diferem significativamente com os valores de desvio padrão de repetibilidade expostos nas **Tabelas 26 a 30**.

Com o objetivo em aferir o valor máximo permitido de diferença entre duas réplicas do padrão de menor concentração obtidas, independentemente do tempo que decorra entre leituras, foi necessário determinar o valor do limite de precisão intermédia, para cada catião. Deste modo, após a análise do padrão de menor concentração da curva de calibração, a diferença entre dois valores obtidos, para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio deverá ser inferior a 0,11, 0,0058, 0,023, 0,019 e 0,049 mg/L, respetivamente. A caracterização da precisão em condições de repetibilidade recorrendo ao coeficiente de variação deve ser efetuada, para cada catião, segundo o maior valor obtido para este parâmetro.

Desta forma, atendendo aos valores expostos na **Tabela 25** e **31**, o CV<sub>r</sub> estabelecido para o padrão de concentração mais baixa para os cátions sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio é 3,0 %, 4,3 %, 5,6 %, 3,9 % e 3,1 %, respetivamente. Assim, com base na análise dos valores obtidos para os coeficientes de variação de repetibilidade e de precisão intermédia, é possível concluir que o método em estudo, é preciso em condições de precisão intermédia para o padrão de menor concentração, visto que estes parâmetros se revelaram inferiores a 10 %, tal como definido pelo laboratório.

Na **Tabela 32** encontram-se representados os resultados obtidos para a determinação da precisão em condições de precisão intermédia do padrão de concentração intermédia da curva de calibração com base em diversos parâmetros recorrendo à ANOVA de fator único.

**Tabela 32.** Resultados obtidos da precisão em condições de repetibilidade (CV<sub>r</sub>) e de precisão intermédia (CV<sub>i</sub>) do padrão de concentração intermédia da curva de calibração, para cada cátion com o auxílio da ANOVA.

	<b>MQ<sub>w</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>r</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>MQ<sub>b</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>S<sub>between</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>i</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>r</b> <b>(mg/L)</b>	<b>CV<sub>r</sub></b> <b>(%)</b>	<b>CV<sub>i</sub></b> <b>(%)</b>
<b>Na<sup>+</sup></b> <b>9,9750</b> <b>(mg/L)</b>	0,0084	0,092	0,028	0,045	0,10	0,29	0,91	1,0
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b> <b>0,2503</b> <b>(mg/L)</b>	0,000035	0,0059	0,00023	0,0044	0,0074	0,021	2,4	2,9
<b>K<sup>+</sup></b> <b>1,000</b> <b>(mg/L)</b>	0,00040	0,020	0,0032	0,017	0,026	0,073	2,0	2,6
<b>Mg<sup>2+</sup></b> <b>1,002</b> <b>(mg/L)</b>	0,000075	0,0087	0,00036	0,0054	0,010	0,029	0,87	1,0
<b>Ca<sup>2+</sup></b> <b>9,9900</b> <b>(mg/L)</b>	0,0067	0,082	0,060	0,073	0,11	0,31	0,81	1,1

Com base na análise dos valores presentes na **Tabela 32**, é possível aferir o valor de precisão intermédia estimado após realização da ANOVA de fator único, para o padrão de concentração intermédia da curva de calibração, referente aos iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, que foram 0,10, 0,0074, 0,026, 0,010 e 0,11 mg/L, respetivamente.

A precisão em condições de repetibilidade também foi avaliada, tendo sido obtido os valores 0,092, 0,0059, 0,020, 0,0087 e 0,082 mg/L, que correspondem aos valores obtidos nos



três conjuntos de análises efetuadas em diferentes dias, para os iões citados anteriormente, respetivamente.

O valor do limite de precisão intermédia obtido foi 0,29, 0,021, 0,073, 0,029 e 0,31 mg/L para os catiões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, respetivamente, o que revela que a diferença entre dois valores obtidos, para o padrão de concentração intermédia da curva de calibração, não deverá ultrapassar estes valores, independentemente do tempo que decorra entre leituras.

Em relação aos valores de CV, obtidos do padrão de concentração intermédia para os catiões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, verificou-se a inexistência de diferenças significativas com os resultados obtidos nas **Tabelas 26 a 30**.

Por conseguinte, é possível concluir que o método de determinação de catiões é preciso, em condições de precisão intermédia, para o padrão de concentração intermédia, uma vez que os valores do coeficiente de variação de repetibilidade (**CV<sub>r</sub>**), bem como os valores do coeficiente de variação de precisão intermédia (**CV<sub>i</sub>**) obtidos, para todos os catiões, revelaram-se inferiores a 10 %, tal como está estabelecido pelo laboratório.

Por último, através da utilização da ANOVA de fator único, foi possível determinar a precisão intermédia do padrão de maior concentração, que corresponde ao limite de aplicabilidade da curva de calibração. Os valores obtidos após realização da ANOVA de fator único encontram-se na **Tabela 33**.

**Tabela 33.** Resultados obtidos da precisão em condições de repetibilidade (CV<sub>r</sub>) e de precisão intermédia (CV<sub>i</sub>) do padrão de concentração de maior da curva de calibração, para cada catião com o auxílio da ANOVA.

	<b>MQ<sub>w</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>r</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>MQ<sub>b</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>S<sub>between</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>s<sub>i</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b>r</b> <b>(mg/L)</b>	<b>CV<sub>r</sub></b> <b>(%)</b>	<b>CV<sub>i</sub></b> <b>(%)</b>
<b>Na<sup>+</sup></b> <b>19,950</b> <b>(mg/L)</b>	0,027	0,16	0,10	0,088	0,19	0,52	0,81	0,92
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b> <b>0,5005</b> <b>(mg/L)</b>	0,000015	0,0039	0,00031	0,0017	0,0043	0,012	0,78	0,85
<b>K<sup>+</sup></b> <b>2,000</b> <b>(mg/L)</b>	0,0018	0,042	0,0087	0,026	0,050	0,14	2,1	2,5
<b>Mg<sup>2+</sup></b> <b>2,004</b> <b>(mg/L)</b>	0,00023	0,015	0,0015	0,011	0,019	0,053	0,76	0,94
<b>Ca<sup>2+</sup></b> <b>19,980</b> <b>(mg/L)</b>	0,0043	0,066	0,030	0,051	0,083	0,23	0,33	0,41

Os valores de precisão intermédia obtidos com o auxílio da ferramenta estatística acima referenciada, para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, foram 0,19, 0,0043, 0,050, 0,019 e 0,083 mg/L, respetivamente, que reflete os valores obtidos nos três conjuntos de análises efetuados em diferentes dias.

Novamente, verificou-se a conformidade entre o valor de precisão em condições de repetibilidade exposta nas **Tabelas 26 a 30** e o obtido pela ANOVA, isto é, a inexistência de diferenças significativas, para todos os catiões em estudo.

Os valores do limite de precisão intermédia obtidos foram 0,52, 0,012, 0,14, 0,053 e 0,23 mg/L para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio, respetivamente, o que demonstra que a diferença entre dois valores obtidos, para o padrão de maior concentração da curva de calibração, não deverá ultrapassar estes valores, para cada catião, apesar do tempo que suceda entre as leituras.

No que diz respeito ao CV, os valores obtidos deste parâmetro do padrão de maior concentração para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio foram 0,81 %, 0,78 %, 2,1 %, 0,76 % e 0,33 %, respetivamente, não apresentando diferenças significativas com os resultados obtidos na avaliação individual da repetibilidade (**Tabela 25**). Posto isto, conclui-se que o método de determinação de catiões é preciso, em condições de precisão intermédia, para o padrão de concentração mais elevada, uma vez que tanto os valores do coeficiente de variação de repetibilidade (**CV<sub>r</sub>**) como os valores do coeficiente de precisão intermédia (**CV<sub>i</sub>**) obtidos, para todos os catiões, não ultrapassaram o valor critério (10 %) definido pelo laboratório e descrito no Decreto-Lei n.º 152/2017<sup>[10]</sup> e Decreto-Lei n.º 236/98<sup>[10,22]</sup>.

## 5.8. Justeza

A justeza é um parâmetro de desempenho que pode ser avaliado de diversas formas, tal como foi referido anteriormente no subcapítulo 3.2.8, nomeadamente, a realização de ensaios de recuperação, a participação em ensaios interlaboratoriais (EIL), ou ainda a utilização de materiais de referência certificados, MRC.

Neste trabalho para avaliar a justeza recorreu-se às três formas distintas de análise acima abordadas. O estudo da exatidão do método relativamente aos iões sódio, potássio, magnésio e cálcio foi realizado através da utilização de materiais de referência certificados (MRC). Tendo em conta que o LabAdNorte não tem por prática utilizar MRC para este parâmetro, no caso do ião amónio, uma das alternativas apresentadas foi a realização de ensaios de recuperação.

Além disso, foi possível a participação num ensaio interlaboratorial, nomeadamente, um ensaio de aptidão da AQUACHECK envolvendo todos os catiões.

A avaliação da justeza com recurso a materiais de referência certificados foi realizada através dos seguintes MRC's da marca *CPAchem*: MRC (Lot:746550), MRC (Lot:761669), MRC (Lot:640184) e MRC (Lot:640197), contendo os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio, respetivamente. Desta forma, foi realizada uma diluição de 1,00 mL do MRC contendo o ião sódio, 1,00 mL do MRC contendo o ião cálcio, 0,1mL do MRC contendo o ião potássio e 0,1mL do MRC contendo o ião magnésio num volume de 100,00mL. Os valores obtidos dos parâmetros determinados através da avaliação da exatidão pelo material de referência certificado, nomeadamente, a média ( $\bar{C}$ ), o desvio padrão (**s**), o *bias* relativo (**b**), o *Z-score*, o erro normalizado ( $E_n$ ), bem como o valor do teste t, encontram-se na **Tabela 34**.

**Tabela 34.** Resultados obtidos com recurso à análise dos MRC's, com o objetivo em avaliar a exatidão do método de determinação de catiões.

	$C_{mrc} \pm U_{mrc}$ (mg/L)	$\bar{C}$ (mg/L)	<b>s</b> (mg/L)	<b>b</b> (%)	<i>Z-score</i>	$E_n$	<b>T</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	10,013 ± 0,026	10,04	0,069	0,25	0,99	0,85	1,291
<b>K<sup>+</sup></b>	1,0010 ± 0,0033	1,003	0,021	0,26	0,88	0,061	0,4431
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	1,0027 ± 0,0029	1,007	0,0070	0,42	1,4	0,25	2,067
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	10,030 ± 0,028	10,02	0,033	0,21	0,74	0,71	2,174

Após análise dos resultados expostos na **Tabela 34**, é possível verificar que os valores obtidos do *bias* relativo, **b (%)**, são bastante reduzidos para todos os catiões, cumprindo de forma satisfatória o critério geralmente aplicado no LabAdNorte que requer valores de  $b < 5\%$ .

De acordo com o Guia Relacre n° 3, Validação de Resultados em Laboratórios, um valor do *Z-score* inferior a 2 em módulo, traduz-se num desempenho satisfatório do método analítico [69]. Tal como se verifica na **Tabela 34**, o fator de desempenho *Z-score* encontra-se abaixo do valor 2, sendo possível afirmar que os resultados apresentam uma boa exatidão. Em relação aos resultados do erro normalizado ( $E_n$ ) é possível aferir, mais uma vez, o desempenho aceitável do método em termos de exatidão, para todos os catiões, uma vez que todos os valores obtidos são inferiores a 1 em módulo.

Por último, de forma a avaliar a presença de diferenças significativas entre os valores obtidos no laboratório e o valor de referência, foi efetuado um teste estatístico, especificamente o teste de hipóteses  $t$ , recorrendo à **Equação A5 (Anexo A)**. Como todos os valores do teste  $t$  (em módulo) obtidos apresentam-se abaixo do valor crítico (2,201), é possível aferir que não existem diferenças significativas entre os resultados obtidos em laboratório e o valor de referência do MRC. Deste modo, conclui-se que não foi evidenciada estatisticamente a existência de erros sistemáticos, comprovando assim que o método apresenta um ótimo desempenho para os cátions sódio, potássio, magnésio e cálcio, em termos de exatidão.

A determinação da veracidade como parâmetro de desempenho do método para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio foi também efetuada com recurso à participação de ensaios interlaboratoriais, particularmente, ensaios de aptidão, permitindo comparar os ensaios realizados com laboratórios externos. É importante realçar que para os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio, as amostras fornecidas foram analisadas diretamente no cromatógrafo. No entanto, como a amostra do ensaio interlaboratorial apresentava uma concentração acima do limite de aplicabilidade do método, para o ião magnésio, foi necessário efetuar uma diluição 1:2, isto é, 25,00 mL de amostra num volume de 50,00 mL. Para o ião amónio, foi necessário diluir a solução fortificada com a água matriz (fator de diluição de 100). Os resultados obtidos para o ensaio de aptidão da AQUACHECK, especificamente os valores de justeza quantitativamente sob a forma de *Z-score* para cada um dos cátions analisados, são apresentados na **Tabela 35**.

**Tabela 35.** Resultados obtidos no ensaio interlaboratorial da AQUACHECK realizado, para todos os cátions em estudo.

	$C_{EIL}$ (mg/L)	$\bar{C}$ (mg/L)	$b$ (%)	<i>Z-score</i>
<b>Na<sup>+</sup></b>	8,78	8,85	0,80	0,11
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,331	0,300	9,4	-0,94
<b>K<sup>+</sup></b>	0,954	0,870	8,8	-0,42
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	2,10	2,11	0,48	0,04
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	10,09	10,09	0,00	0,00

A partir da análise da **Tabela 35** foi possível verificar reduzidos valores obtidos de *Z-score*. Assim, considerando que o desempenho do método é satisfatório quando o valor de *Z-score*, em módulo, for inferior a 2, é possível concluir que o laboratório produziu resultados aceitáveis. Como tal, o método a ser avaliado é considerado justo, o que indica que não existem evidências da ocorrência de erros sistemáticos. Esta observação foi reforçada com os valores de *bias* relativo, **b (%)**, inferiores a 10 %, estando de acordo com o critério estabelecido pelo laboratório. Em suma, os valores obtidos no ensaio interlaboratorial demonstraram o excelente desempenho do método e do laboratório.

Como referido anteriormente a avaliação da exatidão do método para o ião amónio é também possível através da realização de ensaios de recuperação. Assim, procedeu-se à fortificação de seis amostras reais pela adição de 0,5 mL da solução independente (10,1 mg/L) e perfazendo num volume de 100mL. Na **Tabela 36** encontram-se os resultados dos parâmetros obtidos através dos ensaios de recuperação realizados, destacando-se, a taxa de recuperação e ainda a justeza, quantitativamente caracterizada pelo erro relativo.

**Tabela 36.** Resultados obtidos nos ensaios de recuperação realizados de amostras reais fortificadas, para a avaliação da exatidão do método para a determinação do ião amónio.

<b>Matriz</b>	<b>Taxa de recuperação (%)</b>	<b>Justeza (%)</b>
<b>Água de consumo humano</b>	96,3	5,8
<b>Água natural doce superficial</b>	97,1	2,3

Atendendo aos resultados expostos na **Tabela 36**, é possível afirmar que o valor da taxa de recuperação para o ião amónio, encontra-se dentro do critério de aceitação ( $100 \pm 10$  %) definido pelo laboratório para este nível de concentração, isto é, no intervalo entre 90 % e 110 %. Deste modo, é possível afirmar que o método de determinação para o ião amónio é justo para águas de consumo humano e águas naturais doces superficiais, uma vez que o erro relativo é de 5,8 % e 2,3 %, respetivamente, isto é, inferior ao valor de 10 % definido pelo laboratório e estabelecido pela legislação.

Em suma, conclui-se que o método demonstra uma boa exatidão, uma vez que os valores obtidos nos ensaios com materiais de referência certificados, em ensaios de recuperação, bem

como na participação de ensaios interlaboratoriais, revelaram um desempenho satisfatório do método para a avaliação deste parâmetro.

### 5.9. Incerteza da medição

A incerteza de medição associada ao método de determinação foi efetuada recorrendo à metodologia utilizada pelo Laboratório como rotina, auxiliando-se com o definido na norma ISO 11352:2012<sup>[72]</sup>.

A abordagem utilizada consistiu pela recolha de dados de validação e do controlo do método em ambiente Intralaboratorial. Deste modo, a incerteza de medição foi estimada combinando a componente dos erros aleatórios e a componente dos erros sistemáticos, ou seja, as incertezas associadas à precisão, em condições de precisão intermédia, e as incertezas associadas à veracidade, quantificada pelo bias, respetivamente e de forma independente.

Em relação à quantificação da incerteza associada à precisão, esta foi avaliada para os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio recorrendo ao MRC (*Lot:746550*), MRC (*Lot:761669*), MRC (*Lot:640184*) e MRC (*Lot:640197*), respetivamente. Todos estes MRC's utilizados são da marca CPAchem. Os valores foram determinados através de 8 ensaios independentes dos MRC's acima referidos. Os resultados da média, bem como do desvio padrão obtidos experimentalmente do MRC ( $u_{Rw}$ ), determinado recorrendo à **Equação H2 (Anexo H)**, encontram-se expostos na **Tabela 37**, para cada catião.

**Tabela 37.** Resultados obtidos experimentalmente relativos a oito ensaios independentes do MRC para a determinação da componente associada à reprodutibilidade intralaboratorial, para cada catião.

	$C_{mrc} \pm U_{mrc}$ (mg/L)	$\bar{C}$ (mg/L)	$U_{Rw}$
<b>Na<sup>+</sup></b>	10,013 ± 0,026	10,03	0,0076
<b>K<sup>+</sup></b>	1,0010 ± 0,0033	1,002	0,016
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	1,0027 ± 0,0029	1,008	0,0039
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	10,030 ± 0,028	10,03	0,0011

Com base nos resultados presentes na **Tabela 37**, é possível verificar que os valores obtidos do desvio padrão experimental, para os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio, foram 0,76 %, 1,6 %, 0,39 % e 0,11 %, respetivamente.

Como referido anteriormente, não foi possível estimar a componente dos erros aleatórios para o ião amónio, através da análise de um material de referência certificado (MRC), uma vez que o laboratório não tinha à sua disposição este material durante o período de Dissertação.

Assim, no caso do ião amónio, foram realizadas oito análises independentes de um padrão de controlo de concentração intermédia da curva de calibração, a fim de determinar a média e o desvio padrão experimental, expostos na **Tabela 38**.

**Tabela 38.** Resultados obtidos experimentalmente relativos a oito ensaios independentes do padrão de concentração intermédia da curva de calibração, a fim de determinar a componente associada à reprodutibilidade intralaboratorial, para o ião amónio.

	<b>C<sub>padrão</sub></b> <b>(mg/L)</b>	<b><math>\bar{C}</math></b> <b>(mg/L)</b>	<b>U<sub>Rw</sub></b>
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,250	0,251	0,034

A partir da análise da **Tabela 38** verifica-se que para a determinação do ião amónio, o resultado obtido do U<sub>rew,rel</sub> foi de 3,4 %.

Tal como na incerteza associada à precisão, em condições de precisão intermédia, a quantificação da incerteza associada à veracidade foi avaliada recorrendo a materiais de referência certificados (MRC's) para os iões designados. Assim, atendendo aos resultados obtidos apresentados na **Tabela 39**, foram determinados diversos parâmetros, nomeadamente, o *bias* relativo (**b<sub>rel</sub>**), o desvio padrão (**s<sub>b</sub>**) e a incerteza padrão do MRC (**u<sub>cref</sub>**), a fim de determinar, com base na **Equação H7 (Anexo H)**, a componente de incerteza associada ao bias do método e laboratório (**u<sub>b</sub>**), para os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio.

**Tabela 39.** Resultados obtidos através do MRC da marca CPAchem utilizados a fim de calcular a componente associada aos erros sistemáticos do método, para os cátions designados.

	$b_{rel}$	$s_b$	$u_{Cref,rel}$	$u_{b,rel}$
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,0021	0,076	0,00087	0,0035
<b>K<sup>+</sup></b>	0,0010	0,016	0,0011	0,0057
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,0054	0,0039	0,0010	0,0056
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0,0027	0,011	0,00093	0,0028

De acordo com a **Tabela 39** é possível averiguar que os valores obtidos da componente associada aos erros sistemáticos foram extremamente reduzidos, especificamente, 0,35 %, 0,57 %, 0,56 % e 0,28 % para os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio, respetivamente.

Em relação ao ião amónio, a componente associada aos erros sistemáticos (*bias*) foi determinada recorrendo à realização de dez réplicas independente de ensaios de recuperação. Deste modo, através dos valores obtidos nos ensaios de recuperação foi possível determinar, alguns parâmetros (**Tabela 40**), nomeadamente, o somatório do quadrado dos desvios relativamente à recuperação completa, ( $\sum b_{i,rel}^2$ ), o valor quadrático médio dos desvios dos ensaios de recuperação ( $b_{rms,rel}$ ), a incerteza do volume adicionado ( $u_v$ ), a incerteza da concentração da solução utilizada para fazer a fortificação ( $u_{conc}$ ), a incerteza da concentração de analito adicionada ( $u_{add}$ ), bem como a componente da incerteza associada ao *bias* do método e laboratório ( $u_{b,rel}$ ), para o ião amónio, calculado de acordo com a **Equação H6 (Anexo H)**.

**Tabela 40.** Resultados obtidos através de dez ensaios de recuperação realizados a fim de calcular a componente associada aos erros sistemáticos do método, para o ião amónio.

	$(\sum b_{i,rel}^2)$	$b_{rms,rel}$	$u_v(\text{mL})$	$u_{conc}(\text{mg/L})$	$u_{add}(\text{mg/L})$	$u_{b,rel}$
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,25	0,075	0,0002	0,0070	0,007	0,075

Através da análise da **Tabela 40** verifica-se que o valor obtido correspondente à componente da incerteza associada aos erros sistemáticos foi de 7,5 %.

Visto que os resultados das componentes associadas aos erros aleatórios e aos erros sistemáticos são inferiores ao valor do critério estabelecido na legislação, especificamente, no Decreto-Lei



nº152/2017<sup>10</sup> e no Decreto-Lei nº 236/98<sup>22</sup>, para todos os catiões de interesse, é possível confirmar que a metodologia realizada demonstra ser apropriada para a estimativa da incerteza. Após a determinação das incertezas relativas para as componentes associadas aos erros aleatórios e sistemáticos, foi possível obter a incerteza combinada ( $u_{c,rel}$ ), a partir da **Equação 4**. Seguidamente, procedeu-se à conversão em incertezas expandidas (**U**), a partir do produto das incertezas combinadas relativas pelo fator de expansão,  $k=2$  (**Equação 5**), considerando um nível de confiança de aproximadamente 95%, de acordo com o estabelecido no Guia Relacre nº3<sup>169</sup>, com o objetivo em obter o valor final da incerteza do método, tal como se verifica na **Tabela 41**.

**Tabela 41.** Valores obtidos da incerteza combinada e expandida do método, para cada catião.

	$u_{c,rel}$	<b>U</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,0084	0,017
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,082	0,16
<b>K<sup>+</sup></b>	0,017	0,033
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,0069	0,014
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0,0031	0,0061

Com base na análise da **Tabela 41**, é possível verificar que os valores obtidos para a incerteza combinada do método, foram 0,84 % ,8,2 %, 1,7 %, 0,69 % e 0,31 %, para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio. Por outro lado, os resultados obtidos para a incerteza final do método para os iões sódio, amónio, potássio, magnésio e cálcio foram respetivamente, 1,7 %, 16 %, 3,3 %, 1,4 % e 0,061 %. Assim, atendendo aos resultados obtidos para todos os iões, é demonstrada a conformidade com o requisito estabelecido no Decreto-Lei nº. 152/2017<sup>10</sup> e no Decreto-Lei nº. 236/98<sup>22</sup> e com o critério de aceitação definido pelo laboratório, uma vez que o valor do critério de aceitação é de 15 % para os iões sódio, magnésio e cálcio e 40 % para o ião amónio. Em relação ao ião potássio não foi possível comparar o valor obtido da incerteza com o critério de aceitação, uma vez que na legislação não se encontra definido.

## 5.10. Controlo de qualidade do método

Após concluído o processo de validação do método, procedeu-se à implementação do controlo de qualidade intralaboratorial, avaliada em rotina através da análise de amostras naturais doces superficiais e águas para consumo humano, incluindo todos os iões de interesse, possibilitando a monitorização contínua do desempenho do método analítico em rotina.

O controlo de qualidade estabelecido para este método e os critérios de aceitação constam na **Tabela 42**.

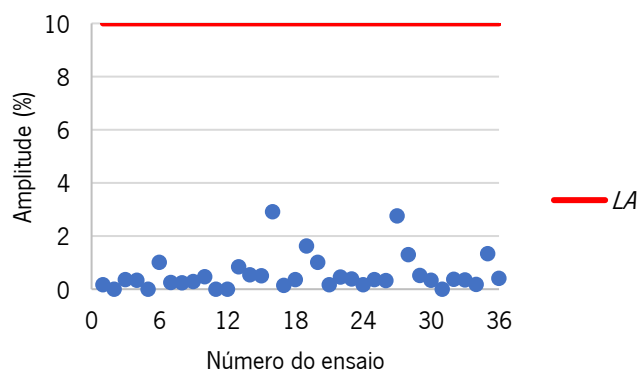
**Tabela 42.** Metodologia aplicada pelo laboratório para o controlo de qualidade.

	<b>Duplicado de uma amostra por série de trabalho</b>	<b>Dois padrões extremos por série de trabalho</b>	<b>Curva de calibração</b>
<b>CQ</b>	Carta de aceitação com amplitude relativa de 10%	Critério de aceitação: $\pm 10$ a 15% para o padrão mais baixo e $\pm 5\%$ para o padrão mais alto	Carta de controlo de indivíduos para declives de $\pm 3s$ em torno do valor médio

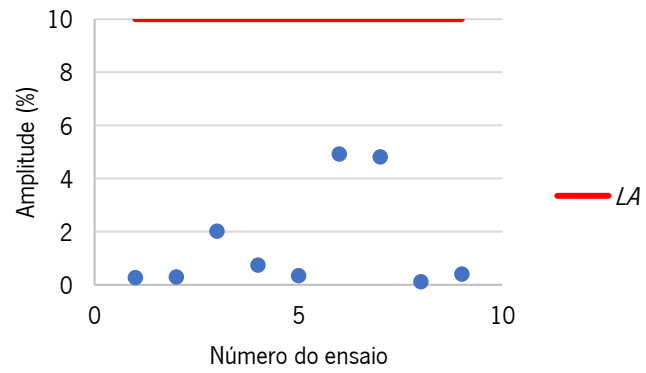
### 5.10.1. Controlo de Qualidade Interno

Atendendo aos critérios estabelecidos pelo laboratório expostos na **Tabela 42**, foi realizado um duplicado de uma amostra, em cada série de dez amostras. De forma a assegurar o controlo de qualidade interno e a precisão dos resultados, os valores obtidos dos duplicados foram monitorizados por meio de uma carta de aceitação cujo limite se situa nos 10 % apresentada na **Figura 21**, para os catiões sódio (**Figura 21A**), amónio (**Figura 21B**), potássio (**Figura 21C**), magnésio (**Figura 21D**) e cálcio (**Figura 21E**), respetivamente.

**A**



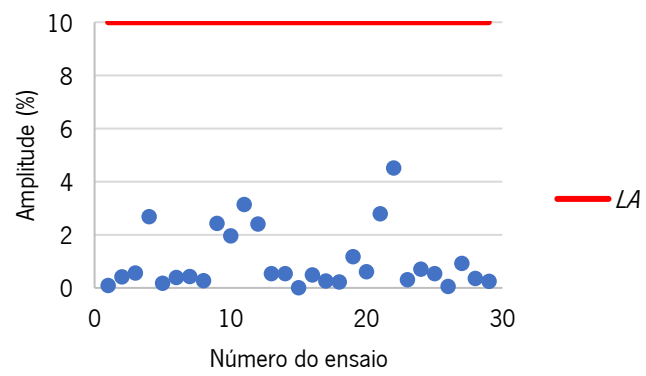
**B**



**C**



**D**



## E



**Figura 21.** Cartas de aceitação de duplicados (LA - 10 %), tendo como objetivo a monitorização do controlo de qualidade do método para cada cátion: A) Na<sup>+</sup>; B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; C) K<sup>+</sup>; D) Mg<sup>2+</sup>; E) Ca<sup>2+</sup>.

Com base nos gráficos expostos na **Figura 21**, é possível verificar que todas as amplitudes relativas se encontram abaixo da linha do limite de aceitação considerado de 10 %, para todos os cátions, permitindo assim a interpretação da demonstração de controlo obtido pelo método face ao nível de aceitação recomendado. Além disso, verifica-se que os valores na série de duplicados não ultrapassam os 5 %, para todos os cátions. Assim, no futuro, a redução do nível de aceitação para os 5 % pode ser uma alternativa a ter em consideração.

Seguidamente, procedeu-se à construção de cartas de controlo, tendo em consideração a implementação de um exigente supervisionamento do controlo da qualidade do método, tal como apresentado na **Tabela 42**. Dessa forma, foi necessário recorrer à elaboração de uma carta de aceitação, para cada um dos padrões extremos da curva de calibração, através de um critério de aceitação de  $\pm 10\%$  a  $15\%$  para o padrão mais diluído e  $\pm 5\%$  para o padrão de maior concentração, para cada cátion.

Os valores obtidos das medições do padrão de menor concentração da curva de calibração, usado para a construção da carta de controlo de indivíduos, para cada cátion de interesse, são apresentados na **Tabela K9.1 (Anexo K9)**. Através desses valores, foi possível calcular a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação, assim como o erro relativo, expostos na **Tabela 43**.

**Tabela 43.** Resultados dos parâmetros obtidos com base na análise do padrão de concentração mais baixa da curva de calibração, utilizado para a construção da carta de controlo.

	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b><math>\bar{C}</math> (mg/L)</b>	2,009	0,0456	0,199	0,202	1,993
<b>s (mg/L)</b>	0,046	0,00041	0,0094	0,0051	0,021
<b>CV (%)</b>	2,3	0,89	4,7	2,5	1,1
<b>Er (%)</b>	0,45	-8,7	-0,48	1,2	-0,32

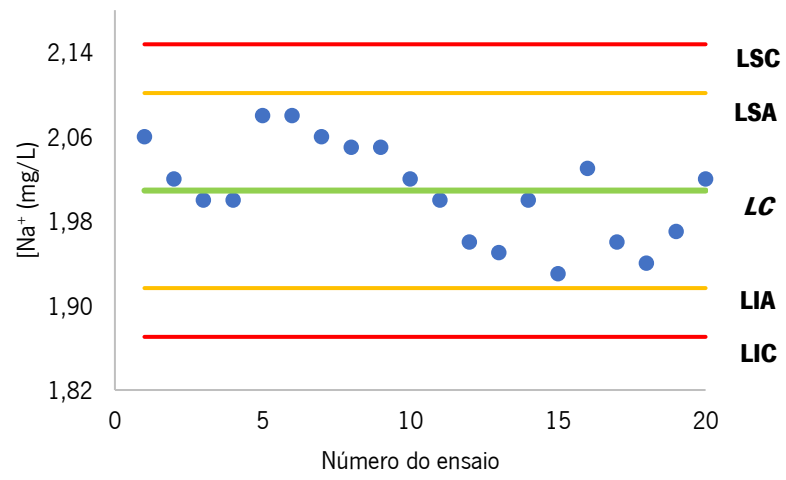
Considerando os resultados obtidos na **Tabela 43** foi possível a elaboração da carta de controlo de indivíduos sendo fundamental a definição da linha central (*LC*) e dos limites de aviso superior (LSA) e inferior (LIA), bem como dos limites de controlo superior (LSC) e inferior (LIC), determinados recorrendo às **Equações I1 e I2 (Anexo I)** e, apresentados na **Tabela 44**.

**Tabela 44.** Valores dos limites de controlo e de aviso definidos em termos de concentrações (mg/L) tendo em vista a construção da carta de controlo de indivíduos do padrão de menor concentração da curva de calibração para cada catião.

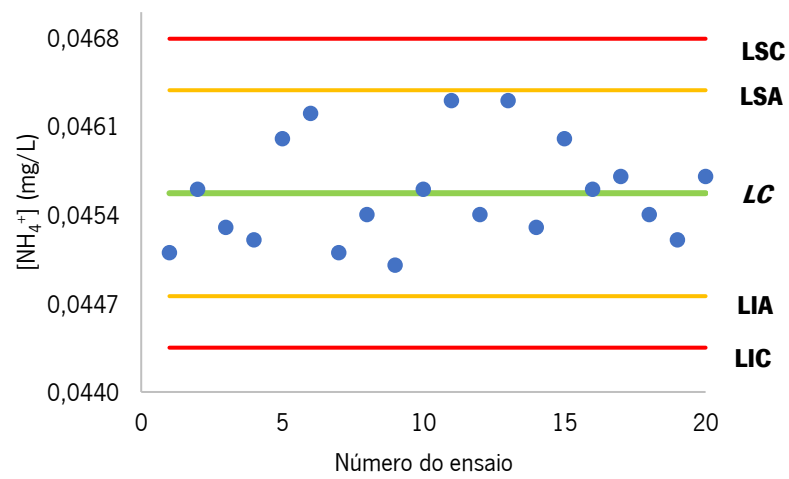
	<b>LC</b>	<b>LSC</b>	<b>LSA</b>	<b>LIA</b>	<b>LIC</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	2,01	2,15	2,10	1,92	1,87
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,0460	0,0468	0,0464	0,0448	0,0444
<b>K<sup>+</sup></b>	0,199	0,227	0,218	0,180	0,171
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,202	0,218	0,213	0,192	0,187
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	1,99	2,06	2,04	1,95	1,93

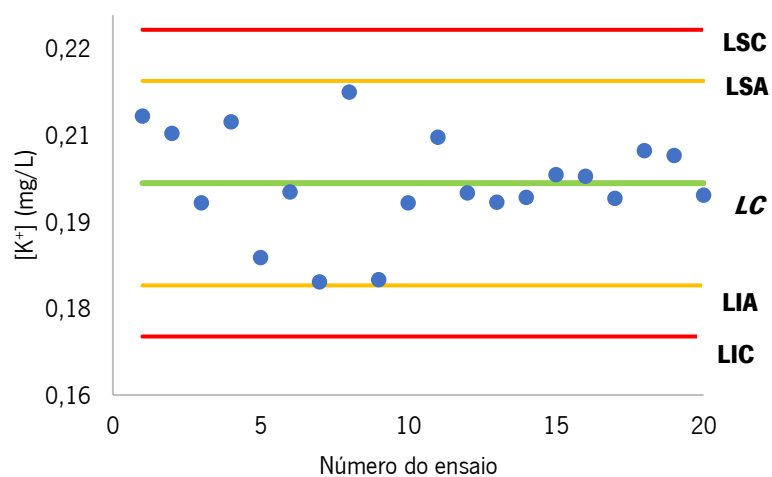
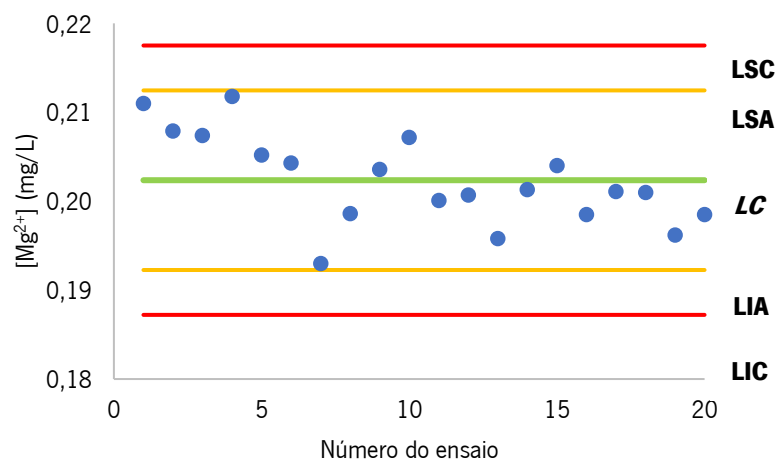
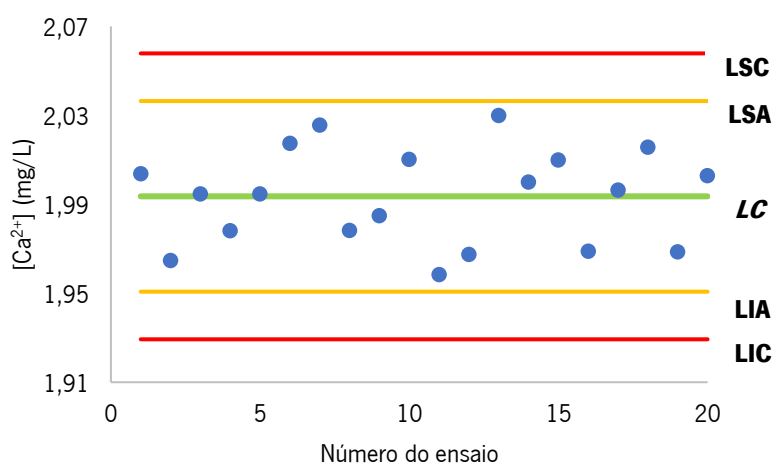
Atendendo aos valores determinados dos limites foi possível a construção das cartas de controlo de indivíduos para o padrão de menor concentração da curva de calibração (**Tabela 44**), para cada catião, que se traduz em representações gráficas, tal como se verifica na **Figura 22A** para o ião sódio, **Figura 22B** para o ião amónio, **Figura 22C** para o ião potássio, **Figura 22D** para o ião magnésio e a **Figura 22E** para o ião cálcio.

**A**



**B**



**C****D****E**

**Figura 22.** Cartas de controle de indivíduos para o padrão de menor concentração, a fim da monitorização do controle de qualidade do método, para cada catião: A) Na<sup>+</sup>; B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; C) K<sup>+</sup>; D) Mg<sup>2+</sup> e E) Ca<sup>2+</sup>.

Após a interpretação das cartas de controlo de indivíduos para o padrão de menor concentração da curva de calibração, é possível afirmar que os pontos experimentais obtidos se encontram dentro dos limites impostos, demonstrando assim que o método se encontra sob controlo.

Deste modo, uma vez que os valores obtidos não ultrapassaram os limites de controlo estabelecidos, conclui-se que os critérios de aceitação definidos para o padrão de menor concentração, especificamente, de 10 % para os iões sódio, potássio, magnésio e cálcio e de 15 % para ião amónio, encontram-se bem estipulados. Além disso, atendendo ao que se encontra descrito no Guia Relacre nº3, Validação de Resultados em Laboratórios Químicos,<sup>[69]</sup> não se veio a verificar nenhuma situação fora de controlo ou tendência não aleatória.

O controlo de qualidade do padrão relativo ao limite de aplicabilidade do método, isto é, do padrão de maior concentração da curva de calibração, também foi monitorizado, recorrendo à construção de cartas de controlo de indivíduos, considerando um critério de aceitação de  $\pm 5\%$ , para cada catião.

Através dos valores obtidos das medições do padrão de maior concentração da curva de calibração (**Tabela K9.2 do Anexo K9**), para cada catião, foi possível determinar a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação, bem como o erro relativo. A **Tabela 45** apresenta os parâmetros acima referidos.

**Tabela 45.** Resultados dos parâmetros obtidos através do padrão de maior concentração da curva de calibração, usado para a construção da carta de controlo.

	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b><math>\bar{C}</math> (mg/L)</b>	20,239	0,496	1,996	2,018	20,362
<b>s (mg/L)</b>	0,15	0,0058	0,054	0,032	0,19
<b>CV (%)</b>	0,75	1,2	2,7	1,5	0,91
<b>Er (%)</b>	1,2	-0,80	-0,22	0,92	1,8



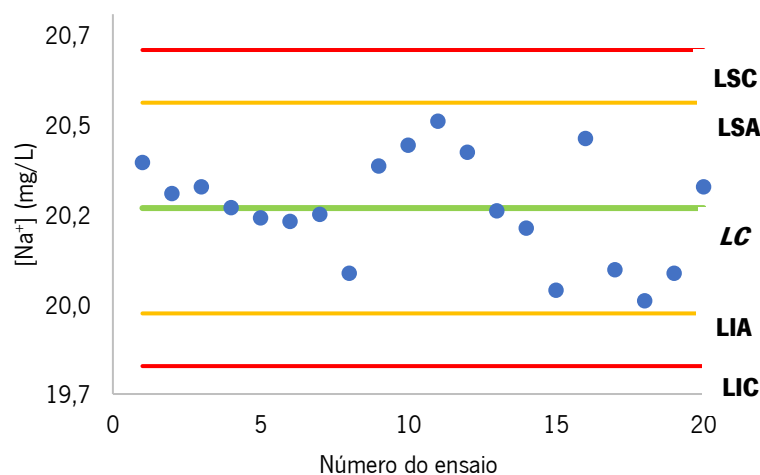
Com base nos resultados obtidos na **Tabela 45** foi possível construir as cartas de controlo de indivíduos para o padrão de maior concentração da curva de calibração, sendo necessária a definição da **LC** e dos **LSA**, **LIA**, **LSC** e **LIC**, apresentados na **Tabela 46**. Estes limites foram determinados segundo as **Equações I1 e I2 (Anexo I)**.

**Tabela 46.** Valores obtidos para os limites de controlo e de aviso, expressos em termos de concentração (mg/L), a fim da construção da carta de controlo de indivíduos do padrão de maior concentração da curva de calibração, para cada catião.

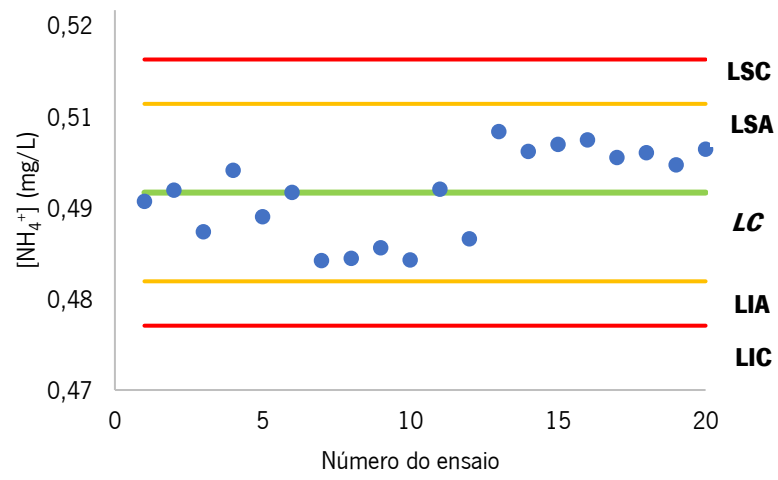
	<b>LC</b>	<b>LSC</b>	<b>LSA</b>	<b>LIA</b>	<b>LIC</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	20,24	20,70	20,54	19,93	19,78
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,496	0,514	0,508	0,484	0,479
<b>K<sup>+</sup></b>	2,00	2,16	2,10	1,89	1,83
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	2,02	2,11	2,08	1,96	1,93
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	20,36	20,92	20,73	19,99	19,80

A **Figura 23** representa as cartas de controlo de indivíduos para o padrão de maior concentração da curva de calibração, para cada catião, nomeadamente a **Figura 23A** para o ião sódio, **Figura 23B** para o ião amónio, **Figura 23C** para o ião potássio, **Figura 23D** para o ião magnésio e **Figura 23E** para o ião cálcio.

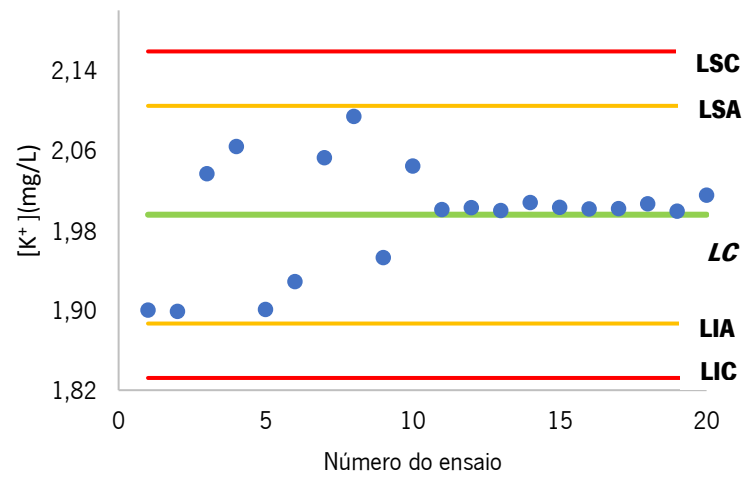
**A**



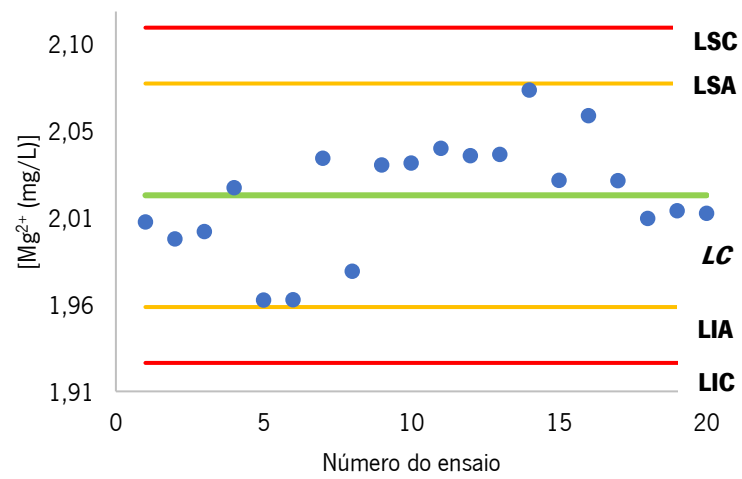
**B**



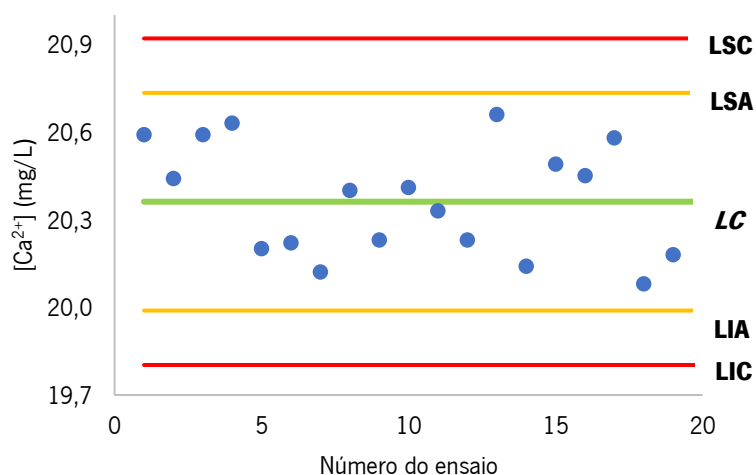
**C**



**D**



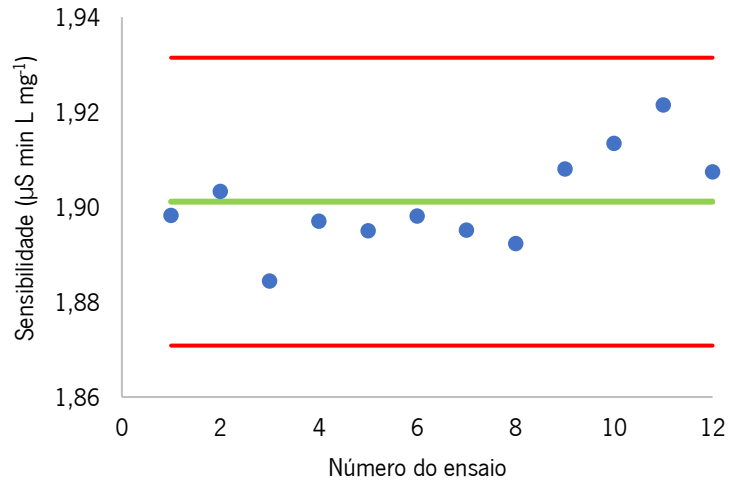
E



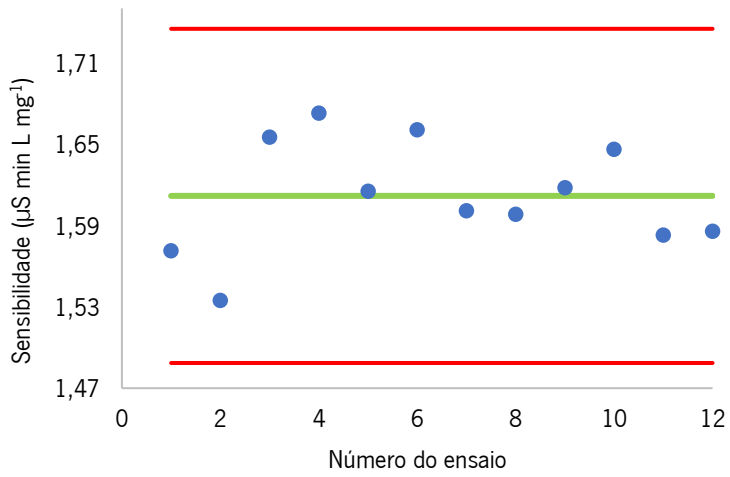
**Figura 23.** Cartas de controle de indivíduos para o padrão de maior concentração da curva de calibração, a fim da monitorização do controlo da qualidade do método, para cada catião: A) Na<sup>+</sup>; B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; C) K<sup>+</sup>; D) Mg<sup>2+</sup> e E) Ca<sup>2+</sup>.

A interpretação das cartas de controlo de indivíduos para o padrão de maior concentração da curva de calibração para cada catião, permitiu confirmar que todos os pontos experimentais obtidos se encontram dentro dos limites de controlo e de aviso estabelecidos, indicando assim que o método se encontra sob controlo. Também foi possível verificar a ausência de situações fora de controlo ou tendência não aleatória, tendo como apoio o Guia Relacre n<sup>o</sup>3<sup>[69]</sup>, para todos os catiões. Além disso, uma vez que os pontos experimentais obtidos não ultrapassaram os limites de controlo definidos, conclui-se que o critério de aceitação de 5 % estabelecido para o padrão de maior concentração da curva de calibração, encontra-se bem estipulado.

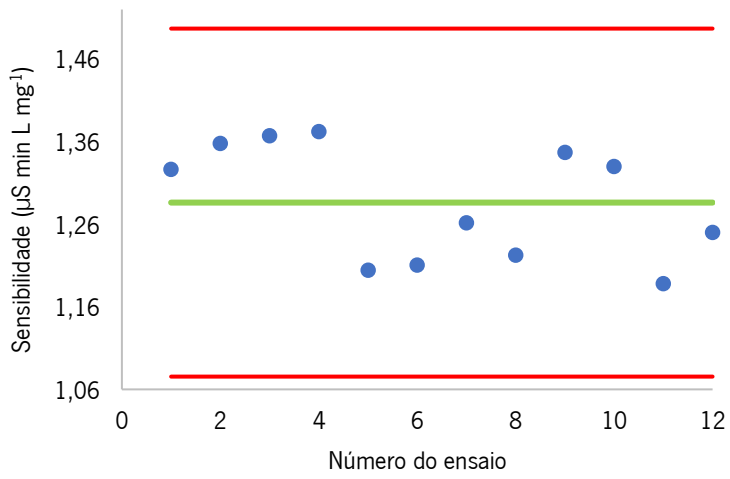
**A**



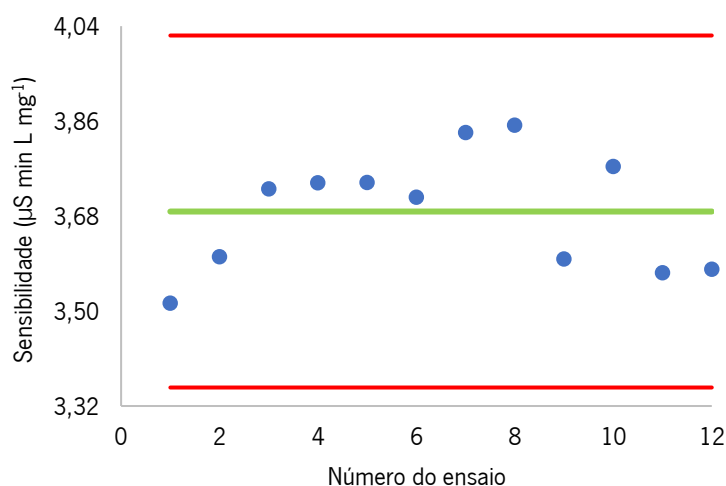
**B**



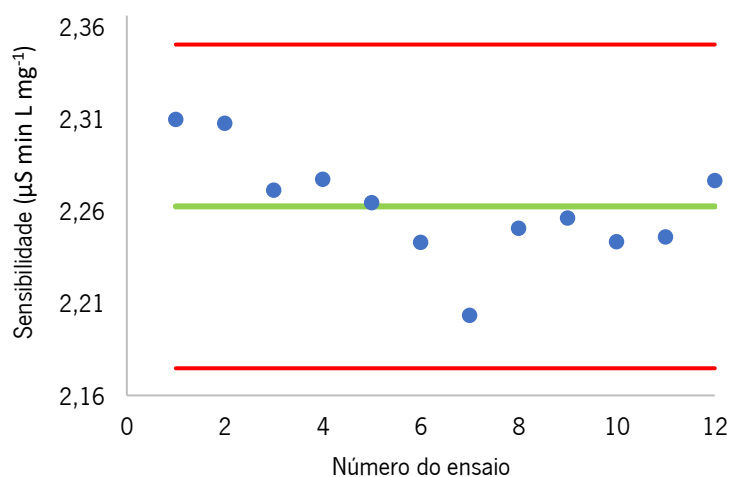
**C**



**D**



**E**



**Figura 24.** Cartas de controle de indivíduos para o acompanhamento da curva de calibração, tendo em vista a monitorização do controlo da qualidade do método para cada catião: A) Na<sup>+</sup>; B) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; C) K<sup>+</sup>; D) Mg<sup>2+</sup> e E) Ca<sup>2+</sup>.

A sensibilidade da curva de calibração foi monitorizada a partir de uma carta de controlo, tendo sido definido o intervalo de  $\bar{x} \pm 3s$ , de acordo com a **Tabela 42**. A partir desta carta de controlo de indivíduos é possível realizar o controlo de pequenas flutuações que possam suceder na sensibilidade do método. Deste modo, a **Figura 24** apresenta as cartas de controlo de indivíduos obtidas para a supervisão da sensibilidade do método, para os catiões sódio (**Figura 24A**), amónio (**Figura 24B**), potássio (**Figura 24C**), magnésio (**Figura 24D**) e cálcio (**Figura 24E**).

Com base na análise da **Figura 24**, é possível conferir que todos os pontos experimentais se encontram dentro dos limites de controlo definidos para o controlo da sensibilidade do método, para todos os catiões de interesse. Além disso, não se verifica nenhuma situação fora de controlo ou tendência não aleatória, tendo em conta com o definido na Guia Relacra nº3, Validação de Resultados em Laboratórios Químicos<sup>[69]</sup>. Desta forma, é possível concluir que os pontos experimentais relativos à sensibilidade se encontram distribuídos de forma aleatória ao longo do valor alvo (definido como o valor médio), demonstrando assim que a sensibilidade do método se encontra sob controlo.

## IV – Conclusão

Na presente Dissertação foi implementado e validado com sucesso o método de determinação dos cátions sódio, amônio, potássio, magnésio e cálcio por cromatografia iônica com detecção condutimétrica, no equipamento Dionex ICS-5000.

O processo de implementação e validação iniciou-se com a escolha da gama de concentrações em que os cátions possam ser determinados de forma rigorosa, para que se obtenha o modelo de melhor ajuste. Através da realização do teste de *Fisher-Snedecor* verificou-se que a gama de trabalho definida se encontra bem ajustada para todos os cátions em estudo.

A etapa seguinte no processo de implementação e validação do método consistiu na construção da curva de calibração. As correlações obtidas foram consideravelmente elevadas para todos os cátions ( $\text{Na}^+$  0,9999;  $\text{NH}_4^+$  0,9992;  $\text{K}^+$  0,9992;  $\text{Mg}^{2+}$  0,9999 e  $\text{Ca}^{2+}$  0,9999), o que permitiu considerar a reta de calibração adequada como modelo linear para o cálculo da concentração de analito.

A avaliação da sensibilidade do método ao longo do tempo foi efetuada recorrendo a doze retas de calibração, e permitiu aferir a estabilidade das curvas de calibração de todos os cátions, devido a valores de coeficiente de variação obtidos inferiores ao critério especificado pelo Laboratório de 10 % ( $\text{Na}^+$  0,53 %;  $\text{NH}_4^+$  2,5 %;  $\text{K}^+$  5,5 %;  $\text{Mg}^{2+}$  3,0 % e  $\text{Ca}^{2+}$  1,3 %).

A seletividade do método foi avaliada através da realização de ensaios de recuperação, para todos os cátions, em ambas as matrizes de interesse (águas para consumo humano e águas naturais doce superficiais). As taxas de recuperação obtidas encontraram-se dentro do intervalo de aceitação estabelecido pelo Laboratório (90 -110 %), permitindo concluir que o método é seletivo para as águas de consumo humano e águas naturais doces superficiais.

A determinação dos limiares analíticos permitiu avaliar as concentrações mais baixas dos cátions serem detetadas (LD) e quantificadas (LQ), tendo sido obtidos valores de LD ( $\text{Na}^+$  0,050 mg/L;  $\text{NH}_4^+$  0,0028 mg/L;  $\text{K}^+$  0,013 mg/L;  $\text{Mg}^{2+}$  0,0097 mg/L e  $\text{Ca}^{2+}$  0,087 mg/L) e LQ ( $\text{Na}^+$  0,15 mg/L;  $\text{NH}_4^+$  0,0083 mg/L;  $\text{K}^+$  0,041 mg/L;  $\text{Mg}^{2+}$  0,030 mg/L e  $\text{Ca}^{2+}$  0,26 mg/L). Contudo, através da metodologia alternativa de determinação do LQ, verificou-se que o CV obtido se encontra abaixo do critério definido pela legislação, especificamente, pelo Decreto-Lei n.º. 236/98 de 1 de agosto de 1998 e no Decreto-Lei n.º. 152/2017 de 7 de dezembro de 2017, bem como pelo Laboratório de 10%, para todos os cátions, ( $\text{Na}^+$  1,6 %;  $\text{NH}_4^+$  6,9 %;  $\text{K}^+$  6,8 %;  $\text{Mg}^{2+}$  4,1 % e  $\text{Ca}^{2+}$  2,4 %). Deste modo, o padrão de menor concentração da curva de calibração de cada cátion foi considerado o LQ.



No que diz respeito à precisão, este parâmetro foi avaliado em condições de repetibilidade e de precisão intermédia, tendo os resultados obtidos, para todos os catiões, sido satisfatórios, em ambas as condições, uma vez que cumpriram com o critério estabelecido pelo Laboratório de 10 %.

A determinação da justeza para os catiões sódio, potássio, magnésio e cálcio foi realizada através do uso de MRC, tendo sido alcançados resultados satisfatórios, visto que os valores de *Z-score* foram inferiores a dois em módulo, estando assim em conformidade com o requisito estabelecido no Guia Relacre n.º3, Validação de Resultados em Laboratórios Químicos.

Em relação ao ião amónio foram realizados ensaios de recuperação, em que os resultados obtidos permitiram comprovar o excelente desempenho do método em termos de justeza, dado que os mesmos não ultrapassaram o valor do critério especificado pelo Laboratório de 10 %.

A determinação da veracidade como parâmetro de desempenho para todos os catiões foi também efetuada com recurso à participação em ensaios interlaboratoriais. Neste caso, também foram obtidos valores de *Z-score* inferiores a dois em módulo.

A incerteza de medição, sob a forma de incerteza expandida, determinada recorrendo à metodologia utilizada pelo Laboratório como rotina e mediante a ISO 11352, com recurso a dados de validação do método analíticos recolhidos em ambiente intralaboratorial, permitiu demonstrar o cumprimento do requisito estabelecido no Decreto-Lei n.º. 236/98 de 1 de agosto de 1998 e no Decreto-Lei n.º. 152/2017 de 7 de dezembro de 2017, bem como o critério de aceitação do Laboratório, dado que os valores de incerteza de medição alcançados ( $\text{Na}^+$  0,84 %;  $\text{NH}_4^+$  8,2 %;  $\text{K}^+$  1,7 %;  $\text{Mg}^{2+}$  0,69% e  $\text{Ca}^{2+}$  0,31%) encontram-se significativamente abaixo do critério de aceitação definido de 15 % para os catiões sódio, magnésio e cálcio e de 40 % para o catião amónio.

Por último, avaliou-se o sistema de controlo de qualidade de forma a garantir a fiabilidade dos resultados ao longo da análise em rotina dos parâmetros em questão. Deste modo, tendo em consideração a monitorização do controlo da qualidade interno foi possível a confirmação de que o processo se encontra sob controlo, uma vez que nenhum dos resultados obtidos na análise dos padrões de controlo estipulados, extrapolou os critérios de aceitação definidos pelo Laboratório.

O Projeto Individual realizado ao longo do segundo ano do Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química possibilitou colocar em prática competências e conhecimentos alcançados durante o primeiro ano, bem como o desenvolvimento do espírito crítico indispensável para o tratamento e discussão de resultados e deteção de problemas. Ao longo de vários meses de estágio

em ambiente empresarial, foi também desenvolvida a capacidade de trabalhar em equipa, entendendo como uma mais-valia para o meu futuro pessoal e profissional.

## V – Bibliografia

- [1] Diário da República, 1º Série - N° 259 - Decreto-Lei n° 379/93 de 5 de novembro de **1993**.
- [2] ADN, S.A, Águas de Norte. A minha Empresa, 2021. Disponível em [onossoadn.adnorte.pt/empresa/SitePages/aminhaempresa.aspx](https://onossoadn.adnorte.pt/empresa/SitePages/aminhaempresa.aspx), acessado a 15/10/**2021**.
- [3] Diário da República, 1º Série - N° 132 - Decreto-Lei n° 92/2013 de 11 de julho de **2013**.
- [4] Diário da República, 1º Série - N° 83 - Decreto-Lei n° 41/2010 de 29 de abril de **2010**.
- [5] Diário da República, 1º Série - N° 104 - Decreto-Lei n° 93/2015 de 29 de maio de **2015**.
- [6] Diário da República, 1º Série - N° 23 - Decreto-Lei n° 16/2017 de 1 de fevereiro de **2017**.
- [7] ADP, S.A, Águas de Portugal. *O que fazemos*, 2022. Disponível em: <https://www.adp.pt/pt/atividade/o-que-fazemos/o-ciclo-urbano-da-agua/?id=28>, acessado a 30/09/**2022**.
- [8] NP EN ISO/IEC 17025:2018. Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaios de calibração. **2018**.
- [9] IPAC, *Guia para a aplicação da NP EN ISO/IEC 17025*; OGC001, **2018**-12-31.
- [10] Diário da República, 1º Série - N° 235 - Decreto-Lei n° 152/2017 de 7 de dezembro de **2017**.
- [11] Caçador E.M.T.; *Implementação e Validação de Métodos Analíticos*. Tese de Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, Universidade do Minho, Escola de Ciências, Braga. **2018**.
- [12] dos Anjos Garcia, E.N.; Moreno, D.A.A.C.; Fernandes, A.L.V.; *A Importância da Preservação e Conservação das Águas Superficiais: Um Panorama sobre a escassez da Água no Brasil*. Fórum Ambiental da Alta Paulista, v.11, n.6, pp.235-249. **2015**.
- [13] dos Santos E.P.M.; *Validação de métodos analíticos e monitorização da qualidade de águas subterrâneas*. Dissertação de Mestrado Técnicas de Caracterização e Análise Química, Escola de Ciências, Universidade do Minho, Braga. **2016**.
- [14] ABAS, Associação Brasileira de Águas Subterrâneas.; *Águas Subterrâneas O que são?* Disponível em <https://abas.org/aguas-subterraneas-o-que-sao/> , acessado a 25/10/**2021**.
- [15] APA, I.P.; Agência Portuguesa do Ambiente. *Relatório do Estado do Ambiente Portugal 2020/21*. Disponível em: <https://sniambgeoviewer.apambiente.pt/GeoDocs/geoportaldocs/rea/REA2020/REA2020.pdf>, acessado a 09/09/**2022**.
- [16] Ribeiro. L.; *Ecosistemas e Bem-Estar Humano, Avaliação para Portugal do Millennium Ecosystem Assessment – Águas Subterrâneas*. Pereira. H, Domingos. T, Vicente. T, Proença, eds. ESCOLAR EDITORA, Lisboa, 381-384. **2009**.
- [17] NATIONAL GEOGRAPHIC. *Surface Water, 2021*. Disponível em <https://nationalgeographic.org/encyclopedia/surface-water> , acessado a 25/10/**2021**.

- [18] EPA, United States Environmental Protection Agency. *Fresh Surface Water*. Disponível em <https://epa.gov/report-environment/fresh-surface-water>, acessado a 25/10/**2021**.
- [19] Costa, M.P.; *Qualidade da água e problemas de saúde pública associados a processos de contaminação – Caso de Estudo de nascentes da Freguesia de DEM (Caminha, N de Portugal)*. Dissertação de Mestrado em Ciências e Tecnologias do Ambiente, Especialização em Remediação e Monitorização Ambiental, Universidade do Minho, Braga. **2016**.
- [20] Abelho, M.; *Manual de Monitorização Microbiológica Ambiental*. Curso de Especialização Tecnológica em Qualidade Ambiental. **2012**.
- [21] Araújo, V.I.M.; *Validação e controlo de qualidade do método para determinação de anião sulfato em águas naturais*. Tese de Mestrado em Química, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto. **2018**.
- [22] Diário da República, 1º Série - N° 176 – Decreto-Lei n° 236/98 de 1 de agosto de **1998**.
- [23] ERSAR, Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos. *Água para Consumo Humano em Portugal mantém o nível de excelência em 2020*. 2020-09-30. Disponível em: <https://www.ersar.pt/pt/site-comunicacao/site-notas-a-imprensa/Paginas/agua-consumo-humano-portugal-mantem-excelencia-2020.aspx>, acessado a 28/10/**2021**.
- [24] Diário da República, Diretiva 2000/6/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de outubro de **2000**.
- [25] Diário da República, 1º Série - N° 249 - Decreto-Lei n° 58/2005 de 29 de dezembro de **2005**.
- [26] Diário da República, 1º Série - N° 120 - Decreto-Lei n° 130/2012 de 22 de junho de **2012**.
- [27] Diário da República, 1º Série - N° 164 - Decreto-Lei n° 306/2007 de 27 de agosto de **2007**.
- [28] Diário da República, 1º Série - N° 143 - Decreto-Lei n° 92/2010 de 26 de julho de **2010**.
- [29] de Figueiredo, M.J.A.; *Caracterização físico-química de águas*. Dissertação de Mestrado, Mestrado em Ciências – Formação Contínua de Professores Área de Especialização em Física e Química, Escola de Ciências, Universidade do Minho, Braga. **2015**.
- [30] Dias, S.R.G.; *Modelação da Qualidade da Água em Sistemas de Abastecimento Público*. Dissertação de Mestrado em Química, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora. **2010**.
- [31] Molins-Legua, C., Meseguer-Lloret, S., Moliner-Martinez, Y.; Campins-Falcó, P., *A Guide for selecting the most appropriate method for ammonium determination in water analysis*. Trends in Analytical Chemistry, **2006**.

- [32] Ammonia in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, **2003**.
- [33] EPAL, Empresa Portuguesa das Águas Livres, S.A.; *Qualidade da Água para Consumo Humano fornecida pela EPAL*, 2009. Disponível em: <https://www.epal.pt/EPAL/docs/default-source/epal/relatorio-qualidade/relatorio-de-qualidade-2009.pdf?sfvrsn=12>, acessado a 28/10/**2021**.
- [34] Hardness in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, **2010**.
- [35] Guardezi J.S.; *Análise de cálcio, potássio e sódio em águas naturais: sistema potenciométrico de multisensores*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança. **2018**.
- [36] Peixoto, E.M.A.; *Elemento Químico – Magnésio*. Química Nova na Escola, Vol.12. **2020**.
- [37] NHI, National Institutes of Health.; *Magnesium, Fact Sheet for Health Professionals*, 2021. Disponível em: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Magnesium-HealthProfessional/>, acessado a 20/10/**2021**.
- [38] Gray, N.F.; *Drinking Water Quality - Problems and Solutions*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K, 2ªEd, 95-206. **2008**.
- [39] Peixoto, E.M.A.; *Elemento Químico – Sódio*. Química Nova na Escola, Vol.10. **1999**.
- [40] Peixoto, E.M.A.; *Elemento Químico – Potássio*. Química Nova na Escola, Vol.19. **2004**.
- [41] Santos, A., Gregório, M.J., de Sousa, S.M., C. Martins, S., Bica, M. Graça, P.; *A importância do potássio na regulação da pressão arterial*. Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável/Programa Nacional para as Doenças Cérebro-Cardiovasculares, Direção-Geral da Saúde, Lisboa. **2018**.
- [42] WHO. *Guideline: Potassium intake for adults and children*. Geneva, World Health Organization. **2012**.
- [43] APA, I.P.; Agência Portuguesa do Ambiente. *Programas de monitorização - Águas de superfície*. Disponível em <https://apambiente.pt/dqa/programas-monitorizacao.html>, acessado a 26/10/**2021**.
- [44] APA, I.P.; Agência Portuguesa do Ambiente. *Relatório do Estado do Ambiente Portugal, 2016, Estado das massas de água superficiais e subterrâneas*. Disponível em: <https://rea.apambiente.pt/content/estado-das-massas-de-água-superficiais-e-subterrâneas?language=pt-pt>, acessado a 26/10/**2021**.
- [45] ANA, CETESB. *Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras - Água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos*. 2ª edição, Agência Nacional de Águas, Companhia Ambiental de São Paulo, Brasil. **2011**.
- [46] ERSAR, Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos. *Recomendação ERSAR n.º 01/2017 - Procedimento para a colheita de amostras de água para consumo humano em sistemas de abastecimento*. **2017**.

- [47] RELACRE. *Guia Relacre 28- Amostragem de águas*. Lisboa; Comissão Técnica da Relacre 07, Grupo de Trabalho GT3. 01-**2017**. Portugal: 978-972-8574-42-0.
- [48] Águas do Norte, S.A.; *Manual da Qualidade do Laboratório, Capítulo 7 - Requisitos dos Processos, Capítulo 7.3 - Amostragem*. Barcelos. **2020**.
- [49] ISO 5667-1. *Water quality – Sampling – Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques*. 3rd edition. 12-**2020**.
- [50] ISO 5667-3. *Water quality – Sampling – Part 3: Preservation and handling of water samples*. 5th edition. 05-**2018**
- [51] ISO 5667-4. *Water quality – Sampling – Part 4: Guidance on sampling from lakes, natural and man-made*. 2th edition. 01-07-**2016**
- [52] ISO 5667-5. *Water quality – Sampling – Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems*. 2th edition. 15-04-**2006**
- [53] ISO 5667-6. *Water quality - Sampling- Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams*. 3th edition. 15-07-**2014**
- [54] ISO 5667-11. *Water quality - Sampling - Part 11: Guidance on sampling of groundwaters*. 2th edition. 15-04-**2009**
- [55] Águas do Norte, S.A. *Procedimento - Colheita de Amostras*. Barcelos. **2021**.
- [56] Klein, A. C.; *Cromatografia Iónica como Método Analítico alternativo para análise quantitativa de analitos*. Trabalho de conclusão de curso em Química Industrial, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Porto Alegre. **2010**.
- [57] de Miranda, A.C.P.; *Caracterização da Contaminação de PCB's*. Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia de Metais, Universidade do Minho, Escola de Engenharia, Braga. **2015**
- [58] Pier, Parpot. *Apontamentos da Unidade Curricular Técnicas de Separação e Análise*, Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, Universidade do Minho, 2020/2021
- [59] Rodrigues, J. F.; *Optimização da incerteza da determinação, por cromatografia iónica, da composição maioritária e vestigial de soluções salinas*. Dissertação de Mestrado em Química, Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Lisboa. **2012**.
- [60] Crompton, T.R.; *Determination of Anions – Applications of Ion Chromatography*. Springer – Verlag, Heidelberg. **1996**.
- [61] de Jesus, J. S.; *Desenvolvimento de metodologia para determinação simultânea de ânions e cátions em gasolina por Cromatografia Iónica*. Trabalho de conclusão de curso de Química do Petróleo, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Instituto de Química, Rio Grande do Norte, Brasil. **2015**
- [62] Michalski, R.; *Current Chromatography – Recent Development and Applications of Ion Chromatography*. Institute of Environmental Engineering of Polish of Science, Vol. 1, No. 2, 90-99. **2014**.
- [63] Michalski, R.; *Ion Chromatography Applications in Wastewater Analysis*. Review, Institute of Environmental Engineering, Polish Academy of Sciences, 41-819 Zabrze, Poland. **2018**.

- [64] THERMO SCIENTIFIC. *Dionex ICS-5000 Ion Chromatography System Operator's Manual*. Thermo Fisher Scientific Inc., No. 065446, 69-71. 12- **2014**.
- [65] Haddad, P.R., Jackson, P.E., Shaw, M.J.; *Developments in suppressor technology for inorganic ion analysis by ion chromatography using conductivity detection, Review*. Journal of Chromatography A, Vol. 1000, 725-742. **2003**
- [66] ThermoFisher SCIENTIFIC. *Ion Chromatography Detectors*. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/industrial/chromatography/ion-chromatography-ic/ic-chromatography-ic-detectors.html>, acessado a 05/10/**2022**
- [67] Martins, A.F.S.; *Implementação e Validação de Métodos Analíticos*, Dissertação de Mestrado em Química, Área de especialização em Controle de Qualidade e Ambiente, Universidade de Coimbra, Departamento de Química, Coimbra. **2016**.
- [68] Magnusson B., Ornemark U. (eds.) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2th edition. **2014**.
- [69] RELACRE. *Guia Relacre 3 – Validação de Resultados em Laboratórios Químicos*. Lisboa; Comissão Técnica da Relacre 03, Grupo de Trabalho GT02. 01-**1996**. Portugal 972-96727-2-5
- [70] RELACRE. *Guia Relacre 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*. Lisboa; Comissão Técnica da Relacre 03, Grupo de Trabalho GT03. 02-**2000**. Portugal 972-8574-02-9
- [71] Bettencourt Ana P.; Geraldo Maria D.S.; Apontamentos da Unidade Curricular Controlo de Qualidade e Validação de Métodos Analíticos, Mestrado em Técnicas de Caracterização em Análise Química, Universidade do Minho, **2020/2021**.
- [72] ISO 11352. *Water Quality - Estimation of Measurement Uncertainty Based on Validation and Quality Control Data*. 1<sup>st</sup> Edition. 01-07-**2012**.
- [73] EA, *European Accreditation. The Selection and Use of Reference Materials*, EA – 4/14 INF: **2003**
- [74] Miller, J. N.; Miller, J. C.; *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6<sup>st</sup> Edition. Pearson Education Limited. **2010**.
- [75] Machado, R.F.S.; *Implementação e Validação Da Determinação de Cátions Por Cromatografia Iónica*. Dissertação de Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, Universidade do Minho, Escola de Ciências, Braga. **2021**.
- [76] Rawski, R. I.; Sanecki, P. T.; Kijowska, K. M.; Skitał, P. M.; Saletnik, D. E. *Regression Analysis in Analytical Chemistry. Determination and Validation of Linear and Quadratic Regression Dependencies*. South African J. Chem. Vol. 69, 166-173.**2016**.
- [77] IPQ, Instituto Português da Qualidade. *Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), Conceitos fundamentais e gerais e termos associados*. Caparica, 1<sup>a</sup> edição Luso-Brasileira. **2012**.



- [78] Ribani, M., Bottoli, C.B.G., Collins, C.H., Jardim, C.S.F e Melo, L.F.C.; *Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos*. Química Nova, Vol 27, No.5, 771-780. **2004**.
- [79] Eurachem/CITAC Guide. *The Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes*. 3rd Edition. **2021**.
- [80] RELACRE. *Guia Relacre 7 - Ensaios Interlaboratoriais em Química*. Lisboa; Comissão Técnica da Relacre 03, Grupo de Trabalho GT02; **1996**. Portugal 972-96727-6-8.
- [81] IPAC; *Guia para Acreditação de Laboratórios Químicos - OGC002*. 18-05-**2011**
- [82] GUM. *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement*. International Organization for Standardization. Geneva. 134 (2008). JCGM 100:2008. **2010**.
- [83] IPAC; *Guia para a Quantificação de Incerteza em Ensaios Químicos - OGC007*. 31-01-**2007**
- [84] RELACRE. *Guia Relacre 31 – Quantificação de Incerteza de Medição em Ensaios Químicos*. Lisboa; Comissão Setorial Relacre CSR04. 09-**2018**. Portugal: 978-972-8574-46-8
- [85] RELACRE. *Guia Eurachem/Relacre 1 – Exemplos de Cálculos de Incertezas*. Lisboa; Comité EURACHEM/RELACRE, Grupo de Trabalho GT01. 09-**2002**
- [86] IPAC; *Avaliação da Incerteza de Medição em Calibração – OGC010*. 06-01-**2015**
- [87] RELACRE. *Guia Relacre 9 – Alguns Exemplos de Cartas de Controlo em Laboratório de Análise Química*; Lisboa; Comissão Técnica da Relacre 03, Grupo de Trabalho GT02; 1ª Edição. 07-**1998**. Portugal 972-96727-8-4.
- [88] Águas do Norte, S.A.; *Destilação de Ácido Nítrico para a Determinação de Metais*, Barcelos, **2021**.
- [89] Águas do Norte, S.A.; *Determinação de Oxidabilidade – Titulometria ISO 8467*, Barcelos. **2020**.
- [90] ASTM D6919 – 17. *Standard Test Method for Determination of Dissolved Alkali and Alkaline Earth Cations and Ammonium in Water and Wastewater by Ion Chromatography*. (ASTM International, ed.); **2017**.

## VI – Anexos

### Teste de *Grubbs*

Com o objetivo de eliminar um valor suspeito obtido na realização de um método de ensaio, o teste estatístico mais vulgarmente adotado é o Teste de *Grubbs*. Além disso, o teste de *Grubbs* admite que os resultados seguem uma distribuição normal. Os valores suspeitos ( $x_s$ ) a considerar correspondem aos maior e menor valores obtidos após a realização da análise. Neste teste, a  $H_0$  é descrita como “não existem diferenças significativas entre o valor suspeito e os restantes valores obtidos na medição”, ou seja,  $H_0: x_s = x$ , sendo assim necessário calcular o valor de  $G$  através da **Equação A1** <sup>[73,74]</sup>:

#### Equação A1

$$G = \frac{|x_s - \bar{x}|}{s}$$

Após a determinação do valor de  $G$ , o mesmo é comparado com o valor de  $G$  estabelecido na tabela de *Grubbs* para  $n$  observações, englobando o suspeito, e para a probabilidade de 95 %. No final, como resultado do teste é possível obter umas das seguintes conclusões <sup>[71]</sup>:

- $G_{\text{cal}} < G_{\text{tab}}$ :  $H_0$  não é rejeitada, o que indica que o valor suspeito não deve ser rejeitado;
- $G_{\text{cal}} \geq G_{\text{tab}}$ :  $H_0$  é rejeitada, o que indica que o valor suspeito deve ser desprezado.

### Teste *F* de *Snedecor-Fisher*

O teste  $F$  de *Snedecor-Fisher* é um teste estatístico bastante empregue para avaliar a componente dos erros aleatórios de um conjunto de medições obtido pelo mesmo método, no qual recorre à variância amostral ( $s^2$ ), (**Equação A2**) <sup>[74]</sup>.

#### Equação A2

$$s^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

A fim de testar se a diferença entre duas variâncias da amostra é significativa, a  $H_0$  é descrita como “a variância dos resultados do primeiro conjunto de medições ( $s_1^2$ ) não difere estatisticamente do segundo conjunto de medições ( $s_2^2$ ), o que por outras palavras traduz como  $H_0: s_1^2 = s_2^2$ . A razão entre as variâncias ( $PG$ ) é determinada de modo que o resultado obtido seja um valor superior a 1, o que implica que a maior  $s^2$  seja colocada no numerador (**Equação A3 e A4**) <sup>[71,74]</sup>.

### Equação A3

$$PG = \frac{s_1^2}{s_2^2}, \text{ se } s_1^2 > s_2^2$$

### Equação A4

$$PG = \frac{s_2^2}{s_1^2}, \text{ se } s_2^2 > s_1^2$$

Por último, o valor de PG é comparado com o valor descrito na tabela F *two-side tailed* para n-1 G.L tanto no numerador como no denominador e para 95 % de probabilidade. Com isto é possível tirar as seguintes conclusões <sup>[71,74]</sup>:

- $PG < F_{\text{tab}}$ :  $H_0$  não é rejeitada e assim as variâncias dos dois conjuntos de medição não são estatisticamente diferentes;
- $PG \geq F_{\text{tab}}$ :  $H_0$  é rejeitada e assim as variâncias dos dois conjuntos de medição diferem-se estatisticamente.

### Teste t

O teste *t-student*, conhecido simplesmente por teste t, é um teste estatístico que permite averiguar a existência de erros sistemáticos. Neste teste, a  $H_0$  assume que “não existe diferenças significativas entre o  $\bar{x}$  e o valor de referência ( $x_{\text{ref}}$ ), isto é,  $H_0: \bar{x} = x_{\text{ref}}$ .”

Para comparar um valor médio com um valor verdadeiro, o teste t é aplicado recorrendo à **Equação A5** <sup>[70,74]</sup>.

### Equação A5

$$|t| = |\bar{x} - x_{\text{ref}}| \times \sqrt{\frac{n}{s}}$$

Em seguida, o valor  $t$  (em módulo) é comparado com o valor crítico (que se encontra na tabela *t-student* para n-1 G.L e 95 % de confiança) e toma-se como critério de aceitação <sup>[70]</sup>:

- Se  $|t| \leq t_{\text{tab}}$ , a  $H_0$  não é rejeitada, logo os dois valores não diferem significativamente, indicando assim que não ficou evidenciada estatisticamente a existência de erros sistemáticos;
- Se  $|t| > t_{\text{tab}}$ , a  $H_0$  é rejeitada, logo os dois valores diferem significativamente, indicando assim que ficou estatisticamente evidenciada a existência de erros sistemáticos.

## Análise de variâncias de fator único (ANOVA)

A análise de variâncias (ANOVA) de fator único admite uma distribuição normal dos resultados e permite fazer a comparação das variâncias de três ou mais conjuntos de ensaios, efetuados em replicado, considerando somente a variação de um fator e desta forma avaliar a precisão intermédia<sup>[70,72]</sup>.

Quando o teste da ANOVA é aplicado, realizam-se ao mesmo tempo duas comparações: a comparação “dentro do grupo” e a comparação “entre grupos”. A comparação “dentro do grupo” consiste na determinação da variância dos resultados gerados dentro de cada ensaio, separadamente, enquanto a comparação “entre grupos” permite avaliar a homogeneidade das variâncias entre os diferentes grupos, tendo em especial atenção os valores obtidos nos diferentes ensaios<sup>[11]</sup>. Deste modo, para este teste, a  $H_0$  é descrita por duas possíveis maneiras: “não existem diferenças significativas entre as variâncias dos inúmeros ensaios”, o que significa que  $H_0: s_1^2 = s_2^2 = \dots = s_n^2$ , ou “não existem diferenças significativas entre as variâncias dentro do grupo ( $s^2$  dentro do grupo) e entre grupos ( $s^2$  entre grupos), o que significa que  $H_0: s^2$  dentro do grupo =  $s^2$  entre grupos.

A informação que se obtém a partir da ANOVA de fator único, considerando,  $p$  grupos, com  $n$  replicados com um total de  $N$  análises ( $N = p \times n$ ) para GL, graus de liberdade, encontra-se esquematizada na **Tabela A1**, abaixo representada<sup>[71,74]</sup>.

**Tabela A1.** Informações relevantes da análise de variâncias de fator único (ANOVA).

Fonte de variação	Soma dos Quadrados (SQ)	Equações	Graus de liberdade	Média quadrada (MQ)	Equações
<b>Entre grupos (b)</b>	$SQ_b = n \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	A6	$p-1$	$MQ_b = \frac{SQ_b}{(p-1)}$	A7
<b>Dentro dos grupos (w)</b>	$SQ_w = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	A8	$N-p$	$MQ_w = \frac{SQ_w}{(N-p)}$	A9
<b>Total</b>	$SQ_{tot} = SQ_b + SQ_w$	A10	$N-1$		

Cada linha da **Tabela A1** está relacionada com uma diferente fonte de variação. A primeira linha descreve a variação entre grupos (**Equações A6 e A7**), enquanto a segunda linha revela a variação dentro dos grupos (**Equações A8 e A9**). A última linha está relacionada com a variação do conjunto de dados como um todo (**Equação A10**).

Por último, o valor obtido após a razão entre as duas variâncias é comparado com o valor crítico (que se encontra na tabela F *one-tailed test* para p-1 no numerador e N-p no denominador, e 95 % de probabilidade). Caso a  $H_0$  não seja rejeitada, não existem indícios de que as variâncias dentro dos grupos e entre grupos sejam significativamente diferentes, sendo possível concluir que existem não diferenças significativas nas variâncias dos ensaios realizados.

Assim, atendendo às equações apresentadas na **Tabela A1** referente à Análise de variâncias de fator único, os valores de  $s_r$  e  $s_{I_{podem}}$  ser determinados de acordo com as **Equações A11** e **A12**, respetivamente<sup>[68]</sup>.

**Equação A11**

$$s_r = \sqrt{MQ_w}$$

**Equação A12**

$$s_I = \sqrt{s_r^2 + s_{between}^2}$$

em que  $s_{between}$  representa o desvio padrão entre grupos, e é determinado de acordo com a **Equação A13**<sup>[68]</sup>.

**Equação A13**

$$s_{between} = \sqrt{\frac{MQ_b - MQ_w}{n}}$$

$MQ_w$  e  $MQ_b$  representam o quadrado das médias “dentro do grupo” e o quadrado das médias “entre grupos”, respetivamente.

## Anexo B. Curva de Calibração – parâmetros estatísticos

A expressão que permite a determinação do coeficiente de correlação ( $r$ ) traduz-se na **Equação B1**<sup>[71]</sup>.

**Equação B1**

$$r = \frac{\sum[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{[\sum(x_i - \bar{x})^2][\sum(y_i - \bar{y})^2]}}$$

O desvio padrão residual do método de regressão linear,  $S_{y/x}$ , exprime a dispersão dos valores do sinal instrumental em torno da curva de calibração e pode ser calculado recorrendo à **Equação B2**<sup>[71]</sup>:

**Equação B2**

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

Em que, n corresponde ao número de soluções padrão utilizadas para a construção da curva de calibração e  $\hat{y}_i$  representa o sinal obtido ( $y_i$ ) quando se interpola o valor de uma determinada concentração ( $x_i$ ).

Após a obtenção do valor do desvio padrão residual ( $S_{y/x}$ ), é possível determinar o desvio padrão associado à ordenada na origem ( $s_a$ ), bem como ao declive ( $s_b$ ), de acordo com as **Equações B3 e B4**, respetivamente <sup>[70]</sup>:

**Equação B3**

$$s_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

**Equação B4**

$$s_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

Os valores de a e de b devem ser acompanhados da respetiva incerteza associada, ou seja,  $S_b t$  e  $S_a t$ , respetivamente, sendo o valor de  $t$  a variável de *Student* que é obtido da tabela *t-student* para 95% de confiança e n-2 graus de liberdade, tal como se verifica nas **Equações B5 e B6** <sup>[70]</sup>.

**Equação B5**

$$b \pm S_b t$$

**Equação B6**

$$a \pm S_a t$$

Por fim, a equação da reta de calibração de um modelo de regressão linear deve ser apresentada da seguinte forma (**Equação B7**) <sup>[70]</sup>:

**Equação B7**

$$y = (b \pm S_b t)x + (a \pm S_a t)$$

### Teste de significância para o r

Neste teste estatístico, a hipótese nula ( $H_0$ ) é definida como “não existe correlação linear entre  $x$  e  $y$ ” o que significa matematicamente que  $H_0 = r = 0$ . O valor de  $t$  é determinado recorrendo à seguinte expressão **(Equação C1)** <sup>[71]</sup>:

#### Equação C1

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

no qual  $n$  corresponde ao número de padrões utilizados na elaboração da curva de calibração. De seguida, o valor de  $t$  calculado (em módulo) é comparado com o valor  $t$  que se encontra na tabela *t-student* para  $n-2$  G.L e 95 % de confiança. No caso do valor de  $t$  calculado (em módulo) ser igual ou inferior ao valor de  $t$  tabelado, então a  $H_0$  é aceite o que significa que não existe uma correlação linear entre  $x$  e  $y$ . Pelo contrário, no caso do valor de  $t$  calculado (em módulo) ser superior ao valor de  $t$  tabelado, a  $H_0$  é rejeitada, indicando assim que existe uma correlação linear entre  $x$  e  $y$ . Deste modo, o modelo eleito é aquele que melhor se ajusta aos resultados obtidos <sup>[70,71]</sup>.

### Teste de Mandel

Este teste permite fazer a comparação entre o ajuste dos valores experimentais para a função linear,  $S_{y/x}$  **(Equação B2)**, e o ajuste dos mesmos para a função quadrática  $S_{y2}$  **(Equação C2)** <sup>[70]</sup>.

#### Equação C2

$$S_{y2} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-3}}$$

Em que,  $n$  designa o número de soluções padrão utilizadas na elaboração da curva de calibração e  $\hat{y}_i$  representa o sinal obtido ( $y_i$ ) quando se interpola, na função quadrática, o valor de uma determinada concentração ( $x_i$ ).

A diferença das variâncias ( $DS^2$ ) é determinada de acordo com a seguinte expressão **(Equação C3)** <sup>[70]</sup>:

#### Equação C3

$$DS^2 = (n-2) \times (S_{y/x})^2 - (n-3) \times (S_{y2})^2$$

Sendo que,  $(S_{y/x})^2$ , representa o desvio-padrão residual da função de calibração linear e  $(S_{y2})^2$ , o desvio-padrão residual da função de calibração não linear.



O valor de  $DS^2$  obtido e a variância do modelo quadrático  $S_{y^2}$  são utilizados no cálculo do valor de PG (Teste F), de acordo com a **Equação C4**, de forma a analisar a existência de diferenças significativas<sup>[70]</sup>.

#### Equação C4

$$PG = \frac{DS^2}{(S^2_{y^2})}$$

Por último, o valor de PG é comparado com o valor tabelado na distribuição F de *Fisher-Snedecor* para 1 G.L no numerador, n-3 G.L no denominador e 95% de confiança. Se o valor de PG for igual ou inferior ao valor F tabelado, significa que a função não linear (quadrática) não proporciona o melhor ajuste nos resultados obtidos, ou seja, a calibração é linear. Pelo contrário, no caso do valor de PG for superior ao valor F tabelado, deve-se avaliar a possibilidade de reduzir a gama de trabalho de forma a garantir uma calibração linear. Se não for possível, os dados da amostra deverão ser avaliados recorrendo à ISO 8466-2 ou a uma função suscetível de bom ajuste<sup>[68,70]</sup>.

#### Anexo D. Avaliação da seletividade recorrendo a ensaios de recuperação

De um modo geral, num ER é analisada a amostra de interesse e o valor médio da concentração de analito nessa amostra ( $\bar{x}$ ). De seguida, as mesmas amostras são fortificadas com uma solução que contém uma concentração de analito conhecida ( $x_{add}$ ) e o valor médio da concentração de analito na amostra após fortificação é determinado ( $\bar{x}'$ ). A taxa de recuperação do analito (R) pode ser calculada de acordo com a **Equação D1**<sup>[68,70]</sup>.

#### Equação D1

$$R' = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{add}} \times 100 (\%)$$

ou, em alternativa, à **Equação D2**<sup>[68,70]</sup>:

#### Equação D2

$$R' = \frac{\bar{x}}{x_{efetiva}} \times 100 (\%)$$

no qual,  $x_{efetiva}$  corresponde à concentração de analito determinada na amostra que provém da fortificação e cuja determinação está associada com o procedimento analítico.

## Anexo E. Determinação dos limiares analíticos

### Com recurso a brancos de amostras ou amostras com baixa concentração de analito

Em primeiro lugar, o desvio padrão usado para calcular LD e LQ ( $s'_0$ ) é determinado de acordo com a **Equação E1** ou **E2**<sup>[68]</sup>:

#### Equação E1

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$$

#### Equação E2

$$s'_0 = s_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}}$$

em que,  $s_0$  representa o desvio padrão de  $m$  ensaios realizados em condições de repetibilidade (entre 10 e 20),  $n$  corresponde ao número de réplicas efetuadas em análises de rotina e  $n_b$  corresponde ao número de réplicas efetuadas para o branco (quando o procedimento inclui a correção do branco). Assim, o LD e LQ pode ser calculado de acordo com a **Equação E3** e **E4**, respetivamente<sup>[68]</sup>.

#### Equação E3

$$LD = K \times s'_0$$

#### Equação E4

$$LQ = K_Q \times s'_0$$

Partindo do princípio que se trata de uma distribuição normal de erros e que a lei de probabilidade de  $x_0$  é suficientemente conhecida, então considera-se que o valor de  $K$  (constante de distribuição normal) para um nível de confiança de 99,7 % é igual a 3,3 e o valor de  $K_Q$  igual a 10<sup>[68,70]</sup>.

### Com recurso a dados de calibração linear

#### Equação E5

$$LD = \frac{3,3 S_{y/x}}{b}$$

#### Equação E6

$$LQ = \frac{10 S_{y/x}}{b}$$

em que,  $S_{y/x}$  corresponde ao desvio padrão residual da curva de calibração e  $b$  representa o declive da curva de calibração.

## Anexo F. Avaliação da precisão

### Repetibilidade

O coeficiente de variação de repetibilidade (CV) e o limite de repetibilidade são determinados de acordo com a **Equação F1** e **F2**, respetivamente <sup>[68,70]</sup>.

#### Equação F1

$$CV_r = \frac{S_r}{\bar{x}} \times 100 (\%)$$

#### Equação F2

$$r = 2,8 \times S_r$$

### Precisão Intermédia

O desvio padrão de precisão intermédia ( $s_I$ ) é determinado de acordo com a **Equação F3** <sup>[68,70]</sup>.

#### Equação F3

$$s_I = \sqrt{\frac{1}{t \times (n - 1)} \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2}$$

no qual,  $y_{jk}$  corresponde a um resultado individual para cada amostra e  $\bar{y}_j$  representa o valor médio obtido dos resultados da amostra. Se o número de replicados efetuados for igual a dois, então a expressão anterior pode ser simplificada (**Equação F4**) <sup>[68,70]</sup>:

#### Equação F4

$$s_I = \sqrt{\frac{1}{2 \times t} \sum_{j=1}^t (y_{j1} - y_{j2})^2}$$

onde  $y_{j1}$  corresponde ao primeiro resultado para o duplicado da amostra e  $y_{j2}$  corresponde ao segundo resultado para o mesmo duplicado da amostra.

O coeficiente de variação de precisão intermédia (CV) é determinado de acordo com a **Equação F5** <sup>[68]</sup>.

## Equação F5

$$CV_I = \frac{S_I}{\bar{x}} \times 100 (\%)$$

## Anexo G. Justeza

### Avaliação do *bias*

Na prática o *bias* absoluto (*b*) é determinado como a diferença entre a média obtida a partir de um número elevado de medições repetidas ( $\bar{x}$ ) e o valor de referência de uma amostra ( $x_{ref}$ ), tal como é descrito na **Equação G1**<sup>[68]</sup>.

### Equação G1

$$bias = \bar{x} - x_{ref}$$

O *bias* também pode ser calculado na forma de *bias* relativo, *b* (%), a partir da **Equação G2**, que corresponde ao erro relativo<sup>[68]</sup>.

### Equação G2

$$bias \text{ relativo} = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$$

### Fator de desempenho *Z* (*Z-score*)

A utilização do fator de desempenho z-score permite quantificar a avaliação do desempenho obtido pelo laboratório, envolvendo o valor obtido pelo laboratório ( $X_{lab}$ ), o valor de referência do material em estudo (valor aceite como verdadeiro),  $X_{ref}$ , e a unidade de desvio admissível, ou seja, a variação máxima permitida pelo ensaio (*d*), de acordo com a **Equação G3**<sup>[70,80]</sup>:

### Equação G3

$$Z = \frac{X_{lab} - X_{ref}}{d}$$

O valor *d* pode corresponder ao desvio padrão robusto obtido pelos laboratórios participantes, à incerteza do material utilizado ou a outro desvio escolhido com base em critérios de exigência da entidade organizadora.

Assim, se  $|Z|$  for inferior ou igual a 2, o desempenho do laboratório é considerado satisfatório, se  $|Z|$  fica contínuo no intervalo entre 2 e 3, o desempenho é questionável e nas situações em que  $|Z|$  é superior a 3, o desempenho é não satisfatório<sup>[77,79-81]</sup>.

## Erro normalizado

O Erro normalizado ( $E_n$ ) é outro parâmetro que permite avaliar o desempenho obtido pelo laboratório, tal como se verifica na **Equação G4** <sup>[70,80]</sup>:

### Equação G4

$$E_n = \frac{(X_{\text{lab}} - X_{\text{ref}})}{\sqrt{U_{\text{lab}}^2 + U_{\text{ref}}^2}}$$

em que,  $X_{\text{lab}}$  representa o valor médio obtido experimentalmente na análise do MRC,  $X_{\text{ref}}$  corresponde ao valor aceite como verdadeiro do MRC,  $U_{\text{lab}}$  a incerteza expandida do resultado do laboratório participante e  $U_{\text{ref}}$  a incerteza expandida do MRC.

Com base no valor de  $E_n$  é possível concluir que sempre que  $|E_n| \leq 1$ , o resultado é satisfatório, isto é, a incerteza expandida obtida pelo laboratório encontra-se bem estimada <sup>[70,80]</sup>.

## Anexo H. Estimativa da Incerteza de Medição

### Componente de incerteza associada à precisão do método

#### Equação H1

$$u_{R_w} = s_{R_w}$$

A **Equação H2** traduz o cálculo da componente de incerteza associada à precisão de uma forma relativa <sup>[83,84]</sup>:

#### Equação H2

$$u_{R_w} = \frac{s}{\bar{x}}$$

Em que,  $s$  corresponde ao desvio padrão obtido experimentalmente de padrões de controlo, em condições de precisão intermédia e  $\bar{x}$  corresponde à média da concentração dos padrões de controlo obtida pelo laboratório ao longo do tempo.

### Componente de incerteza associada à exatidão do método

Caso esteja disponível apenas um material de referência, os resultados obtidos das análises deste, são tratados como a melhor estimativa disponível para a determinação da componente de incerteza associada aos erros sistemáticos, de acordo com a **Equação H3** <sup>[83,84]</sup>.

### Equação H3

$$u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{s_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{C_{ref}}^2}$$

Em que,  $b$  corresponde ao *bias* (diferença entre o valor medido e o valor de referência aceite),  $s_b$  refere-se ao desvio padrão obtido experimentalmente da análise do MRC,  $n_M$  define o número de ensaios efetuados com o MRC (mínimo de seis) e  $u_{C_{ref}}$  define-se a incerteza do MRC.

A incerteza do valor de referência do MRC encontra-se no certificado do fornecedor. Porém, pode ser necessário converter a incerteza indicada numa incerteza padrão (**Equação H4**), como por exemplo, no caso da incerteza se encontrar expressa em incerteza expandida ou como intervalo de confiança<sup>[83,84]</sup>.

### Equação H4

$$u_{C_{ref}} = \frac{\left(\frac{U_{MRC}}{k}\right)}{MRC}$$

Em que,  $U_{MRC}$  corresponde à incerteza expandida do MRC,  $k$  refere-se ao fator de expansão apresentado no certificado do MRC, e  $MRC$  é o valor da concentração constante no certificado do MRC.

Na avaliação da incerteza associada aos erros sistemáticos a partir de ensaios de recuperação é necessário considerar duas componentes, a diferença entre a recuperação observada e a recuperação completa (100 %) ou a diferença entre a recuperação observada e a recuperação média (quando os resultados do método são corrigidos com base na recuperação média) (**Equação H5**) e a incerteza da concentração de analito adicionado (**Equação H6**)<sup>[83,84]</sup>.

### Equação H5

$$b_{rms} = \sqrt{\frac{\sum b_i^2}{n_n}}$$

Em que,  $b_i$  corresponde ao desvio relativamente à recuperação completa ou à média (no ensaio  $i$ ) e  $n_n$  refere-se ao número de ensaios de recuperação realizados.

### Equação H6

$$u_{add} = \sqrt{u_V^2 + u_{conc}^2}$$

Sendo  $u_V$  a incerteza associada ao volume adicionado e  $u_{conc}$  designa a incerteza da concentração da solução utilizada para a fortificação.

Deste modo, a componente de incerteza associada ao *bias* do método e laboratório, recorrendo a ensaios de recuperação é obtida por (**Equação H7**)<sup>[83,84]</sup>.

## Equação H7

$$u_b = \sqrt{b_{rms}^2 + u_{add}^2}$$

Em que,  $b_{rms}$  refere-se ao valor quadrático médio (ou raiz quadrada média) dos desvios dos ensaios de recuperação e  $u_{add}$  denomina-se incerteza da concentração de analito adicionada.

## Anexo I. Cartas de controlo

### Cartas de controlo de indivíduos

Na carta de indivíduos, a linha central é obtida pelo valor atribuído correspondente à média das medições repetidas,  $\bar{x}$ . Os limites de aviso, LA, e os limites de controlo, LC, são determinados de acordo com as **Equações I1** e **I2**, que se encontram abaixo representadas e correspondem às probabilidades de 95 % e 99,7 %, respetivamente<sup>[69,87]</sup>.

#### Equação I1

$$LA = \bar{x} \pm 2s$$

#### Equação I2

$$LC = \bar{x} \pm 3s$$

### Cartas de controlo de médias

Nas cartas de médias, a linha central é obtida da mesma forma que na carta de indivíduos, contudo, os limites de aviso e controlo são calculados a partir das **Equações I3** e **I4**<sup>[69,87]</sup>.

#### Equação I3

$$LA = \bar{x} \pm 2 \frac{s}{\sqrt{n}}$$

#### Equação I4

$$LC = \bar{x} \pm 3 \frac{s}{\sqrt{n}}$$

### Cartas de controlo de amplitudes

Nas cartas de amplitudes, a linha central designa o valor médio das amplitudes e os limites podem ser determinados a partir de duplicados de uma amostra. O valor do desvio padrão de um resultado analítico,  $s$ , é determinado pelo quociente entre a média aritmética das amplitudes ( $\bar{R}$ ,

diferença entre dois valores num duplicado de amostras) e uma constante,  $d_2$ , tal como se verifica na **Equação I5**<sup>[69,87]</sup>.

**Equação I5**

$$s = \frac{\bar{R}}{d_2}$$

O valor de  $d_2$  depende do número de medições (n) efetuadas numa amostra, geralmente, em duplicado.



## Anexo J. Procedimento Experimental

### Anexo J1. Frases de advertência de perigo e recomendações de prudência

**Tabela J1.1.** Frases de advertência (H) e recomendações de prudência para as soluções padrão utilizadas na realização da parte experimental.

Reagente	Ficha de segurança	Pictograma (s)
<b>Ácido Nítrico</b>	H272, H290, H314, H331 P210, P220, P280; P303+P361+P353; P304+P340+P310; P305+P351+P338	
<b>Ácido Sulfúrico</b>	H314	
<b>Solução Padrão Sódio</b>	H290, H315, H319 P234, P264, P280; P302+P352; P305+P351+P338; P332+P313	
<b>Solução Padrão Potássio</b>	H290, H315, H319 P234, P264, P280; P302+P352; P305+P351+P338; P332+P313	
<b>Solução Padrão Magnésio</b>	H290, H315, H319 P234, P264, P280; P302+P352; P305+P351+P338; P332+P313	

**Tabela J1.2.** Índice das frases de perigo e respetivo significado.

<b>Frases de Perigo</b>	
H272	Pode agravar um incêndio, comburente.
H290	Pode ser corrosivo para os metais.
H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
H315	Provoca irritação cutânea.
H319	Provoca irritação ocular grave.
H331	Tóxico se inalado.

**Tabela J1.3.** Índice das frases de recomendações de prudência - prevenção e respetivo significado.

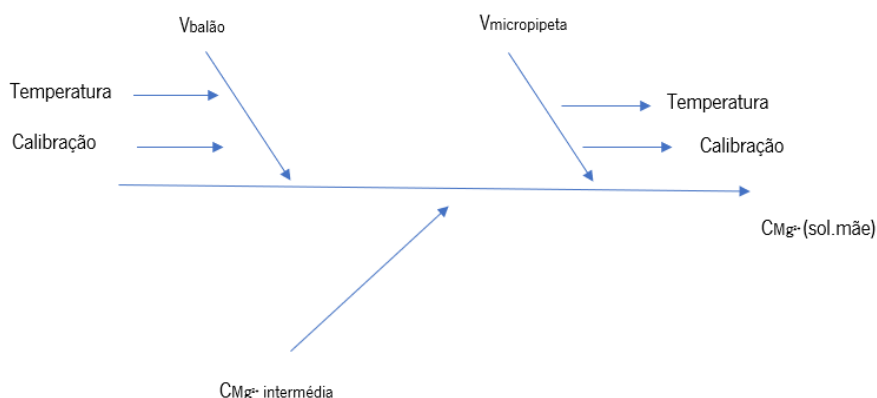
<b>Frases de recomendações de prudência - prevenção</b>	
P210	Manter afastado do calor/ faísca/ chama aberta/ superfícies quentes. Não fumar.
P220	Manter afastado da roupa e outros materiais combustíveis.
P234	Manter somente no recipiente original.
P264	Lavar a pele cuidadosamente após o manuseio.
P280	Usar luvas de proteção/vestuário de proteção ocular/proteção facial.

**Tabela J1.4.** Índice das frases de recomendações de prudência - resposta e respetivo significado.

<b>Frases de recomendações de prudência - resposta</b>	
P302+P352	Se entrar em contato com a pele, lavar com água em abundância.
P303+P361+P353	Se entrar em contato com a pele (ou com o cabelo), retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.
P304+P340+P310	Em caso de inalação: Remover a pessoa para local ventilado e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração. Contactar imediatamente um Centro de Informação Toxicológica ou um médico.
P305+P351+P338	Se entrar em contato com os olhos, enxaguar cuidadosamente com água durante alguns minutos. No caso de usar lentes de contato, removê-las, se for fácil. Continuar enxaguando.
P332+P313	Em caso de irritação cutânea: Consultar um médico.

## Anexo K. Tratamento de resultados

### Anexo K1. Incerteza expandida da concentração da solução mãe para a curva de calibração



**Figura K1.1.** Diagrama espinha de peixe para a identificação das fontes de incerteza da concentração da solução mãe de magnésio para a curva de calibração e considerando a concentração do ião magnésio intermédia e solução comercial  $984 \pm 5$  mg/L.

<b>Micropipeta 1 mL</b>			
<b>Descrição</b>	<b>Incerteza de x</b>	<b>Incerteza padrão (u(x))</b>	<b>Incerteza padrão relativa (u(x)/x)</b>
Calibração	0,00022	0,0001	0,00037
Temperatura (a)	0,00063	0,00036	
u(Vpip)		0,000374	
<b>Balão volumétrico 100 mL</b>			
<b>Descrição</b>	<b>Incerteza de x</b>	<b>Incerteza padrão (u(x))</b>	<b>Incerteza padrão relativa (u(x)/x)</b>
Calibração	0,100	0,04082	0,00055
Temperatura	0,063	0,03637	
u(Vpip)		0,05468	
<b>Cálculo da Incerteza combinada uc(y) e da Incerteza expandida U(y)</b>			
<b>Descrição</b>	<b>Valor de x</b>	<b>uc (x)</b>	<b>uc (x)/x</b>
Concentração Sol.stock (mg/L)	984,00	2,887	0,00293
Volume da pipeta (mL)	1,000	0,00037	0,00037
Volume do balão volumétrico	100,00	0,05468	0,00055
Concentração da Sol.mãe (mg/L)	9,840	0,02959	0,00301
<b>Valor da mensuranda</b>	<b>Fator de expansão (k)</b>	<b>Incerteza expandida</b>	
9,84	2	0,05919	
<b>CMg<sup>2</sup>(sol.mãe) = 9,840 ± 0,059 mg/L</b>			

**Figura K1.2.** Cálculos auxiliares para a determinação das incertezas associadas ao volume da micropipeta, do balão volumétrico de 100mL e da incerteza combinada e expandida da concentração da solução mãe de magnésio para a curva de calibração.

Anexo K2. Incerteza expandida da concentração de soluções padrão

<b>Micropipeta 1 mL</b>			
<b>Descrição</b>	<b>Incerteza de x</b>	<b>Incerteza padrão (u(x))</b>	<b>Incerteza padrão relativa (u(x)/x)</b>
Calibração	0,0002178	0,0001	0,000374
Temperatura	0,00063	0,000364	
u(Vpip)		0,000374	
<b>Balão volumétrico 50 mL</b>			
<b>Descrição</b>	<b>Incerteza de x</b>	<b>Incerteza padrão (u(x))</b>	<b>Incerteza padrão relativa (u(x)/x)</b>
Calibração	0,060	0,02449	0,00061
Temperatura	0,0315	0,01819	
u(Vpip)		0,03051	
<b>Cálculo da incerteza combinada uc(y) e da incerteza expandida U(y)</b>			
<b>Descrição</b>	<b>Valor de x</b>	<b>uc (x)</b>	<b>uc (x)/x</b>
Concentração intermédia (mg/L)	9,84	0,03417	0,00342
Volume da pipeta (mL)	1,000	0,000374	0,000374
Volume do balão volumétrico	50,00	0,03051	0,00061
Concentração Padrão (mg/L)	0,4920	0,00172	0,00349
<b>Valor da mensuranda</b>	<b>Fator de expansão (k)</b>	<b>Incerteza expandida</b>	
0,4920	2	0,00344	
		<b>C Mg<sup>2+</sup> = 0,4920 ± 0,0034 mg/L</b>	

**Figura K2.1.** Cálculos auxiliares para a determinação das incertezas associas ao volume da micropipeta, do balão volumétrico de 50 mL e da incerteza combinada e expandida da concentração de uma solução padrão de magnésio de 0,500 mg/L.

### Anexo K3. Estudo da Gama de trabalho

**Tabela K3.1.** Valores obtidos das áreas dos picos para o estudo da gama de trabalho de dez soluções independentes do padrão de menor e maior concentração para cada catião.

		<b>Área do pico (<math>\mu</math>S min)</b>									
<b>C</b> <b>(mg/L)</b>	<b>Réplica</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>2,000</b>	4,108	4,105	4,097	4,092	4,090	3,986	3,966	3,984	3,967	3,966
	<b>20,000</b>	37,824	37,880	37,900	37,922	38,940	38,048	38,066	38,015	38,088	38,068
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>0,04995</b>	0,148	0,150	0,150	0,150	0,149	0,149	0,153	0,154	0,153	0,155
	<b>0,4995</b>	0,962	0,966	0,968	0,965	0,969	0,973	0,971	0,970	0,975	0,971
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>0,200</b>	0,538	0,550	0,551	0,537	0,538	0,549	0,548	0,550	0,539	0,538
	<b>2,000</b>	2,821	2,834	2,840	2,843	2,844	2,849	2,848	2,860	2,840	2,845
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>0,1968</b>	0,796	0,800	0,803	0,803	0,803	0,810	0,774	0,780	0,784	0,782
	<b>1,968</b>	7,148	7,173	7,179	7,167	7,174	7,172	7,180	7,185	7,135	7,132
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>1,9980</b>	5,273	5,022	5,270	5,058	5,111	5,103	5,120	5,293	5,270	5,292
	<b>19,980</b>	46,346	46,416	46,147	46,295	46,411	46,639	46,429	46,327	46,589	46,342

#### Anexo K4. Sensibilidade ao longo do tempo

**Tabela K4.1.** Valores obtidos dos declives das retas de calibração para cada catião, tendo em vista o estudo da sensibilidade ao longo do tempo.

<b>Sensibilidade (<math>\mu\text{S min L mg}^{-1}</math>)</b>					
<b>Catião</b>					
<b>Data</b>	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b>31/03/2022</b>	1,898	1,571	1,326	3,515	2,313
<b>01/04/2022</b>	1,903	1,535	1,358	3,603	2,311
<b>04/04/2022</b>	1,884	1,655	1,367	3,731	2,274
<b>05/04/2022</b>	1,897	1,673	1,372	3,743	2,280
<b>06/04/2022</b>	1,895	1,615	1,204	3,743	2,267
<b>07/04/2022</b>	1,898	1,660	1,210	3,716	2,245
<b>08/04/2022</b>	1,898	1,601	1,261	3,838	2,204
<b>11/04/2022</b>	1,892	1,598	1,223	3,852	2,253
<b>12/04/2022</b>	1,908	1,618	1,347	3,599	2,258
<b>21/04/2022</b>	1,913	1,646	1,330	3,774	2,245
<b>26/04/2022</b>	1,925	1,583	1,188	3,572	2,248
<b>09/05/2022</b>	1,907	1,586	1,250	3,579	2,279

## Anexo K5. Ensaios de recuperação em matrizes diferentes para o estudo da seletividade

**Tabela K5.1.** Valores de concentração obtidos em amostras reais, sendo a matriz água de consumo humano, recorrendo a ensaios de recuperação para o estudo da seletividade.  $[X^+]$  e  $[X^+ + f.]$  corresponde à concentração do catião X na amostra original e a concentração do catião X na solução fortificada respetivamente.

<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>[Na<sup>+</sup>]</b>	11,189	7,166	8,800	6,929	5,940	6,892	2,765	5,952	6,514	7,625
	<b>[Na<sup>+</sup> + f.]</b>	12,926	9,234	10,563	8,833	7,844	8,728	4,812	7,924	8,544	9,819
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]</b>	0,232	0,394	0,000	0,136	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,080
	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + f.]</b>	0,289	0,449	0,057	0,193	0,047	0,046	0,052	0,046	0,056	0,139
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>[K<sup>+</sup>]</b>	0,112	1,053	1,025	0,357	0,986	1,008	0,985	1,278	0,964	0,392
	<b>[K<sup>+</sup> + f.]</b>	0,306	1,261	1,220	0,560	1,202	1,186	1,201	1,474	1,164	0,611
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>[Mg<sup>2+</sup>]</b>	0,321	0,817	0,627	0,730	0,446	0,734	0,764	0,738	0,714	0,638
	<b>[Mg<sup>2+</sup> + f.]</b>	0,492	0,996	0,798	0,918	0,638	0,955	0,941	0,956	0,892	0,823
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>[Ca<sup>2+</sup>]</b>	17,279	5,222	14,378	2,052	11,736	2,006	19,980	14,272	17,128	18,465
	<b>[Ca<sup>2+</sup> + f.]</b>	18,990	6,916	15,921	3,879	14,039	3,743	22,013	15,981	18,796	20,185

**Tabela K5.2.** Valores de concentração obtidos em amostras reais, sendo a matriz água natural doce superficial, recorrendo a ensaios de recuperação para o estudo da seletividade.  $[X^+]$  e  $[X^+ + f.]$  corresponde à concentração do catião X na amostra original e a concentração do catião X na solução fortificada respetivamente.

<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>[Na<sup>+</sup>]</b>	4,045	4,047	4,291	3,361	2,410	2,605	6,063	8,285	6,231	3,632
	<b>[Na<sup>+</sup> + f.]</b>	6,080	6,039	6,538	5,380	4,715	4,584	8,103	10,165	8,223	5,675
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]</b>	0,303	0,510	0,666	0,044	0,640	0,698	0,586	0,501	0,000	0,032
	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + f.]</b>	0,360	0,559	0,723	0,093	0,689	0,746	0,633	0,559	0,058	0,079
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>[K<sup>+</sup>]</b>	0,667	1,139	0,264	0,231	0,327	0,770	1,329	1,064	0,918	0,878
	<b>[K<sup>+</sup> + f.]</b>	0,859	1,317	0,468	0,460	0,510	0,950	1,505	1,235	1,105	1,081
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>[Mg<sup>2+</sup>]</b>	0,505	0,501	0,301	0,317	0,662	0,369	0,541	0,589	0,577	0,541
	<b>[Mg<sup>2+</sup> + f.]</b>	0,677	0,671	0,521	0,502	0,846	0,563	0,736	0,805	0,769	0,724
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>[Ca<sup>2+</sup>]</b>	1,389	1,396	10,019	7,414	0,803	8,246	2,215	1,016	1,810	1,864
	<b>[Ca<sup>2+</sup> + f.]</b>	3,395	3,289	11,738	9,441	2,806	9,972	4,113	3,183	3,772	3,864

## Anexo K6. Limiares analíticos do método

**Tabela K6.1.** Concentração obtida da análise de dez réplicas de brancos fortificados, em condições de repetibilidade, para cada catião em estudo.

<b>C (mg/L)</b>					
<b>Réplica</b>	<b>[Na<sup>+</sup>]</b>	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]</b>	<b>[K<sup>+</sup>]</b>	<b>[Mg<sup>2+</sup>]</b>	<b>[Ca<sup>2+</sup>]</b>
<b>y<sub>1</sub></b>	2,00	0,0456	0,204	0,215	2,04
<b>y<sub>2</sub></b>	1,96	0,0434	0,205	0,212	1,97
<b>y<sub>3</sub></b>	1,91	0,0479	0,230	0,205	1,94
<b>y<sub>4</sub></b>	2,00	0,0502	0,230	0,201	2,00
<b>y<sub>5</sub></b>	1,92	0,0493	0,224	0,196	1,92
<b>y<sub>6</sub></b>	2,03	0,0457	0,239	0,201	1,97
<b>y<sub>7</sub></b>	1,96	0,0456	0,239	0,218	2,00
<b>y<sub>8</sub></b>	2,02	0,0511	0,237	0,201	2,03
<b>y<sub>9</sub></b>	1,97	0,0498	0,232	0,190	2,19
<b>y<sub>10</sub></b>	2,06	0,0452	0,232	0,195	2,10

**Tabela K6.2.** Estudo do padrão de menor concentração da curva de calibração, em condições de precisão intermédia, para cada catião, de modo a confirmar o LQ do método de determinação dos catiões em estudo.

<b>C (mg/L)</b>					
<b>Réplica</b>	<b>[Na<sup>+</sup>] 1,9950</b>	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] 0,05005</b>	<b>[K<sup>+</sup>] 0,2000</b>	<b>[Mg<sup>2+</sup>] 0,2004</b>	<b>[Ca<sup>2+</sup>] 1,9980</b>
<b>y<sub>1</sub></b>	2,06	0,0506	0,211	0,208	2,05
<b>y<sub>2</sub></b>	2,02	0,0456	0,208	0,207	1,96
<b>y<sub>3</sub></b>	2,00	0,0453	0,195	0,205	1,99
<b>y<sub>4</sub></b>	2,00	0,0472	0,210	0,204	2,09
<b>y<sub>5</sub></b>	2,08	0,0460	0,185	0,180	2,08
<b>y<sub>6</sub></b>	2,10	0,0552	0,197	0,199	2,02
<b>y<sub>7</sub></b>	2,06	0,0451	0,181	0,204	2,03
<b>y<sub>8</sub></b>	2,05	0,0454	0,218	0,207	1,98
<b>y<sub>9</sub></b>	2,05	0,0450	0,180	0,200	1,98
<b>y<sub>10</sub></b>	2,02	0,0463	0,195	0,199	1,96



## Anexo K7. Precisão do método em condições de repetibilidade

**Tabela K7.1.** Valores obtidos da avaliação da precisão do método, em condições de repetibilidade, para cada catião em estudo.

	<b>Na<sup>+</sup></b>		<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>		<b>K<sup>+</sup></b>		<b>Mg<sup>2+</sup></b>		<b>Ca<sup>2+</sup></b>	
	<b>1,9950</b>	<b>19,950</b>	<b>0,05005</b>	<b>0,5005</b>	<b>0,2000</b>	<b>2,000</b>	<b>0,2004</b>	<b>2,004</b>	<b>1,9980</b>	<b>19,980</b>
<b>y<sub>1</sub></b>	2,056	19,981	0,0487	0,496	0,204	1,973	0,200	1,993	2,101	20,046
<b>y<sub>2</sub></b>	2,052	19,979	0,0479	0,497	0,205	1,975	0,198	1,998	2,109	20,130
<b>y<sub>3</sub></b>	2,066	19,973	0,0493	0,499	0,230	2,023	0,196	1,995	2,090	19,940
<b>y<sub>4</sub></b>	2,064	20,000	0,0502	0,502	0,230	2,029	0,195	1,999	2,085	19,985
<b>y<sub>5</sub></b>	2,064	20,047	0,0498	0,501	0,224	2,034	0,195	2,003	2,089	19,927
<b>y<sub>6</sub></b>	1,995	19,997	0,0511	0,500	0,239	1,988	0,187	1,997	1,999	19,963
<b>y<sub>7</sub></b>	2,000	20,097	0,0513	0,501	0,239	1,996	0,187	2,001	2,029	20,009
<b>y<sub>8</sub></b>	1,993	20,124	0,0494	0,503	0,237	2,003	0,187	2,010	2,030	20,092
<b>y<sub>9</sub></b>	2,165	20,109	0,0453	0,499	0,232	1,988	0,208	2,008	2,195	20,064
<b>y<sub>10</sub></b>	2,166	20,109	0,0454	0,500	0,232	1,997	0,208	2,010	2,197	20,056

Anexo K8. Precisão do método em condições de precisão intermédia

**Tabela K8.1.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do padrão mais diluído catião.

	<b>Na<sup>+</sup></b>			<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>			<b>K<sup>+</sup></b>			<b>Mg<sup>2+</sup></b>			<b>Ca<sup>2+</sup></b>		
	<b>1,9950</b>			<b>0,05005</b>			<b>0,2000</b>			<b>0,2004</b>			<b>1,9980</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>y<sub>1</sub></b>	2,02	1,92	2,04	0,051	0,046	0,046	0,211	0,196	0,196	0,201	0,192	0,192	1,99	1,96	2,03
<b>y<sub>2</sub></b>	2,00	2,00	2,05	0,047	0,046	0,046	0,208	0,196	0,194	0,201	0,191	0,190	2,00	1,97	1,99
<b>y<sub>3</sub></b>	2,00	2,04	2,00	0,045	0,046	0,045	0,195	0,196	0,193	0,200	0,192	0,199	1,98	2,00	2,00
<b>y<sub>4</sub></b>	2,02	2,03	1,98	0,047	0,045	0,046	0,210	0,200	0,194	0,199	0,189	0,196	1,98	2,00	2,00
<b>y<sub>5</sub></b>	1,94	2,04	2,05	0,046	0,045	0,045	0,185	0,196	0,193	0,201	0,191	0,199	1,98	1,99	2,00
<b>y<sub>6</sub></b>	1,96	2,04	1,98	0,055	0,045	0,045	0,197	0,200	0,196	0,204	0,190	0,201	1,97	2,00	2,02
<b>y<sub>7</sub></b>	1,91	2,05	2,03	0,045	0,045	0,046	0,196	0,201	0,181	0,204	0,191	0,204	1,96	2,01	2,00
<b>y<sub>8</sub></b>	1,97	2,04	1,97	0,045	0,046	0,046	0,218	0,206	0,180	0,199	0,191	0,201	1,98	1,99	1,99
<b>y<sub>9</sub></b>	1,92	2,03	1,97	0,046	0,046	0,045	0,196	0,196	0,195	0,205	0,191	0,207	1,92	1,99	2,00
<b>y<sub>10</sub></b>	1,97	2,05	2,06	0,046	0,046	0,046	0,196	0,200	0,195	0,196	0,191	0,208	1,97	1,99	2,00

**Tabela K8.2.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do padrão de concentração intermédia da curva de calibração, para cada catião.

	<b>Na<sup>+</sup></b>			<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>			<b>K<sup>+</sup></b>			<b>Mg<sup>2+</sup></b>			<b>Ca<sup>2+</sup></b>		
	<b>9,975</b>			<b>0,2503</b>			<b>1,000</b>			<b>1,002</b>			<b>19,980</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>y<sub>1</sub></b>	9,96	10,14	10,09	0,262	0,244	0,250	0,995	1,03	1,05	0,999	0,967	0,996	9,90	9,81	10,06
<b>y<sub>2</sub></b>	9,93	9,73	10,08	0,262	0,247	0,252	0,992	1,01	1,00	1,01	0,967	1,00	9,98	10,06	10,03
<b>y<sub>3</sub></b>	9,94	10,16	10,14	0,254	0,255	0,250	1,01	1,02	1,01	0,998	1,00	1,00	9,97	10,21	10,08
<b>y<sub>4</sub></b>	9,95	10,14	10,08	0,240	0,252	0,250	0,969	1,02	1,01	1,00	0,999	1,01	10,02	10,16	10,11
<b>y<sub>5</sub></b>	10,04	10,11	10,10	0,240	0,254	0,253	0,997	1,03	1,01	0,996	0,999	1,00	10,00	10,16	10,13
<b>y<sub>6</sub></b>	10,05	10,16	10,10	0,235	0,256	0,247	0,919	1,02	1,00	0,998	1,00	1,00	10,04	10,18	10,08
<b>y<sub>7</sub></b>	10,02	10,12	10,07	0,233	0,255	0,257	0,982	1,02	1,01	1,00	0,999	1,01	9,98	10,15	10,13
<b>y<sub>8</sub></b>	10,12	10,11	10,13	0,247	0,254	0,255	0,968	1,01	1,01	0,994	0,999	1,01	10,02	10,15	10,13
<b>y<sub>9</sub></b>	10,14	10,16	10,05	0,248	0,257	0,253	0,996	1,02	1,01	0,998	1,00	1,01	10,05	10,19	10,12
<b>y<sub>10</sub></b>	9,87	10,09	10,12	0,257	0,248	0,253	1,04	1,02	1,02	0,999	0,994	1,01	9,81	10,15	10,10

**Tabela K8.3.** Valores obtidos da análise de três conjuntos de dez soluções independentes, ao longo do tempo, para a determinação da precisão intermédia do padrão de maior concentração da curva de calibração, para cada catião.

	<b>Na<sup>+</sup></b>			<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>			<b>K<sup>+</sup></b>			<b>Mg<sup>2+</sup></b>			<b>Ca<sup>2+</sup></b>		
	<b>19,950</b>			<b>0,5005</b>			<b>2,000</b>			<b>2,004</b>			<b>19,980</b>		
	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>	<b>13/06</b>	<b>15/06</b>	<b>17/06</b>
<b>y<sub>1</sub></b>	19,56	19,90	20,03	0,495	0,501	0,501	1,90	2,01	2,04	2,00	2,01	2,01	20,20	20,08	20,02
<b>y<sub>2</sub></b>	20,00	19,94	20,07	0,496	0,502	0,503	1,90	2,09	2,00	2,00	2,01	2,04	20,22	20,10	20,03
<b>y<sub>3</sub></b>	20,21	20,02	20,09	0,491	0,503	0,500	2,00	2,02	2,00	1,99	2,01	2,01	20,12	20,15	20,09
<b>y<sub>4</sub></b>	20,20	20,03	20,31	0,499	0,505	0,502	2,06	2,02	2,00	1,98	2,01	2,03	20,14	20,15	20,04
<b>y<sub>5</sub></b>	19,86	20,03	20,18	0,493	0,505	0,500	1,90	2,04	2,00	2,00	2,02	2,01	20,23	20,18	20,06
<b>y<sub>6</sub></b>	20,05	20,14	20,32	0,496	0,504	0,501	1,93	2,03	2,00	1,96	2,02	2,01	20,26	20,19	20,10
<b>y<sub>7</sub></b>	20,23	19,86	20,40	0,487	0,508	0,502	2,05	2,04	2,00	1,96	2,03	2,00	20,28	20,30	20,20
<b>y<sub>8</sub></b>	20,24	20,13	20,26	0,496	0,509	0,501	2,00	2,03	2,00	2,02	2,02	2,01	20,23	20,27	20,09
<b>y<sub>9</sub></b>	20,30	20,08	20,18	0,490	0,503	0,500	1,95	2,02	2,01	2,03	2,02	2,01	20,13	20,26	20,13
<b>y<sub>10</sub></b>	20,28	20,06	20,36	0,504	0,506	0,500	2,05	2,03	2,06	2,00	2,02	2,01	20,13	20,20	20,20

## Anexo K9. Cartas de Controle

**Tabela K9.1.** Concentração determinada do padrão de menor concentração da curva de calibração, ao longo do tempo, para a construção da carta de controle, para cada catião.

<b>Data</b>	<b>[Na<sup>+</sup>] (mg/L) 1,9950</b>	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] (mg/L) 0,05005</b>	<b>[K<sup>+</sup>] (mg/L) 0,2000</b>	<b>[Mg<sup>2+</sup>] (mg/L) 0,2004</b>	<b>[Ca<sup>2+</sup>] (mg/L) 1,9980</b>
04/04/2022	2,06	0,0451	0,211	0,211	2,00
05/04/2022	2,02	0,0456	0,208	0,208	1,96
06/04/2022	2,00	0,0453	0,195	0,207	1,99
07/04/2022	2,00	0,0452	0,210	0,212	1,98
11/04/2022	2,08	0,0460	0,185	0,205	1,99
12/04/2022	2,08	0,0462	0,197	0,204	2,02
21/04/2022	2,06	0,0451	0,181	0,193	2,03
26/04/2022	2,05	0,0454	0,216	0,199	1,98
09/05/2022	2,05	0,0450	0,181	0,204	1,98
11/05/2022	2,02	0,0456	0,195	0,207	2,01
12/05/2022	2,00	0,0463	0,208	0,200	1,96
16/05/2022	1,96	0,0454	0,197	0,201	1,97
18/05/2022	1,95	0,0463	0,196	0,196	2,03
24/05/2022	2,00	0,0453	0,196	0,201	2,00
01/06/2022	1,93	0,0460	0,201	0,204	2,01
06/06/2022	2,03	0,0456	0,200	0,199	1,97
13/06/2022	1,96	0,0457	0,196	0,201	2,00
14/06/2022	1,94	0,0454	0,205	0,201	2,02
15/06/2022	1,97	0,0452	0,204	0,196	1,97
16/06/2022	2,02	0,0457	0,197	0,199	2,00

**Tabela K9. 2.** Concentração determinada do padrão de maior concentração da curva de calibração, ao longo do tempo, para a construção da carta de controle, para cada catião.

<b>Data</b>	<b>[Na<sup>+</sup>] (mg/L) 19,950</b>	<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup>] (mg/L) 0,5005</b>	<b>[K<sup>+</sup>] (mg/L) 2,000</b>	<b>[Mg<sup>2+</sup>] (mg/L) 2,004</b>	<b>[Ca<sup>2+</sup>] (mg/L) 19,980</b>
04/04/2022	20,37	0,495	1,90	2,00	20,59
05/04/2022	20,28	0,496	1,90	1,99	20,44
06/04/2022	20,30	0,491	2,04	2,00	20,59
07/04/2022	20,24	0,499	2,06	2,02	20,63
11/04/2022	20,21	0,4923	1,90	1,97	20,20
12/04/2022	20,20	0,496	1,93	1,96	20,22
21/04/2022	20,22	0,487	2,05	2,04	20,12
26/04/2022	20,05	0,487	2,09	1,98	20,40
09/05/2022	20,36	0,489	1,95	2,04	20,23
11/05/2022	20,42	0,487	2,04	2,04	20,41
12/05/2022	20,49	0,496	2,00	2,04	20,33
16/05/2022	20,40	0,490	2,00	2,04	20,23
18/05/2022	20,23	0,504	2,00	2,05	20,66
24/05/2022	20,18	0,501	2,01	2,08	20,14
01/06/2022	20,00	0,502	2,00	2,03	20,49
06/06/2022	20,44	0,503	2,00	2,06	20,45
13/06/2022	20,06	0,501	2,00	2,03	20,58
14/06/2022	19,97	0,501	2,01	2,01	20,08
15/06/2022	20,05	0,500	2,00	2,01	20,18
16/06/2022	20,30	0,502	2,02	2,01	20,26