



CONTROL, TRATAMIENTO Y REDUCCIÓN DE MICRO PLÁSTICOS
Y CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES
URBANAS Y EN EL MEDIO COSTERO FRONTERIZO

AVALIAÇÃO DA HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE DE AMOSTRAS DE INTERCOMPARAÇÃO

ATIVIDADE 1: Desenvolvimento de ferramentas para a avaliação de microplásticos e CEC em ETAR e no meio aquático.

Interreg



Cofinanciado por
la Unión Europea
Cofinanciado pela
União Europeia

España – Portugal





Atividade	1. Desenvolvimento de ferramentas para a avaliação de microplásticos e CEC em ETAR e no meio aquático.
Ação	1.3. Exercício interlaboratorial para a validação da metodologia analítica para a determinação de compostos indicadores em águas residuais.
Data da atualização	16/12/2024
Versão	1.0
Autores	INTECMAR
Participantes	USC, AEdP, IEO





Índice

1. OBJETO	4
2. ESCOPO	4
3. REFERÊNCIAS	5
4. DEFINIÇÕES	6
5. RESPONSABILIDADES	6
6. DESENVOLVIMENTO	7
6.1. Receção e preparação de amostras	7
6.2. Verificações preliminares	7
6.3. Testes de homogeneidade	8
6.3.1. <i>Controlo de homogeneidade</i>	9
6.3.2. <i>Critérios de controlo de homogeneidade</i>	10
6.3.3. <i>Resumo dos critérios propostos na ISO 13528</i>	13
6.4. Testes de estabilidade	14
6.4.1. <i>Controle de estabilidade</i>	14
6.4.2. <i>Critérios de controlo de estabilidade</i>	15
6.4.3. <i>Estabilidade em condições de transporte</i>	16
7. APÊNDICES	16
7.1. Folha de cálculo Excel para cálculos de homogeneidade ISO 13528/IUPAC	16





1. OBJETO

O objetivo deste protocolo é descrever a abordagem sistemática estabelecida pelo INTECMAR para a avaliação prévia da homogeneidade e estabilidade de amostras destinadas a ensaios de proficiência, no âmbito do projeto BlueWWater, que visa avaliar a capacidade de diversos laboratórios analíticos para a determinação de contaminantes emergentes em amostras de águas superficiais e residuais.

Neste protocolo geral, o INTECMAR descreve o planeamento estatístico e os métodos utilizados para determinar a homogeneidade e a estabilidade suficientes das amostras do ensaio de proficiência durante o seu desenvolvimento.

2. ESCOPO

O procedimento aplica-se às amostras correspondentes ao teste de proficiência do projeto BlueWWater, incluídas no âmbito do projeto e dirigidas principalmente aos laboratórios de ensaio participantes.

O projeto BlueWWater visa melhorar a qualidade dos rios, das zonas de transição e das águas costeiras, controlando, monitorizando e avaliando as emissões de microplásticos e de contaminantes emergentes (CEs) no ambiente aquático. Isto será conseguido através do estudo da eficiência das estações de tratamento de águas residuais urbanas (ETARs) nas regiões da Galiza e do norte de Portugal, e do risco ambiental destes contaminantes, garantindo assim a utilização sustentável dos recursos hídricos e contribuindo para a implementação da regulamentação da UE.

Os detalhes básicos do Escopo são os seguintes:

- Número de laboratórios participantes: pelo menos 12 laboratórios de análise da Galiza e do norte de Portugal.
- Número de matrizes de água: 2, águas superficiais e águas residuais.
- Número de amostras de água: 4 amostras
 - 2 água superficial (rios e zonas costeiras)
 - 2 água residual (entrada e saída da ETAR)
- Parâmetros a analisar: contaminantes emergentes. Substâncias orgânicas incluídas na proposta de Directiva para o tratamento de águas residuais urbanas:





Categoria 1: Substâncias que podem ser tratadas com muita facilidade:

- *Amisulprida* (n.º CAS 71675-85-9)
- *Carbamazepina* (n.º CAS 298-46-4)
- *Citalopram* (n.º CAS 59729-33-8)
- *Claritromicina* (n.º CAS 81103-11-9)
- *Diclofenac* (n.º CAS 15307-86-5)
- *Hidroclorotiazida* (n.º CAS 58-93-5)
- *Metoprolol* (n.º CAS 37350-58-6)
- *Venlafaxina* (n.º CAS 93413-69-5)

Categoria 2: Substâncias que podem ser facilmente eliminadas:

- *Benzotriazol* (CAS n.º 95-14-7)
- *Candesartan* (n.º CAS 139481-59-7)
- *Irbesartan* (CAS n.º 138402-11-6)
- *mistura de 4-metilbenzotriazol (CAS n.º 29878-31-7) e 5-metil-benzotriazol (CAS n.º 136-85-6)*

- Método analítico proposto: cromatografia líquida de alta eficiência (UHPLC) acoplada a espectrometria de massas em tandem (MS/MS).

3. REFERÊNCIAS

1. *UNE-EN ISO/IEC 17043:2023. Avaliação da conformidade – Requisitos gerais para a competência dos prestadores de ensaios de proficiência.*
2. *UNE-EN ISO/IEC 17025:2017. Requisitos gerais para a competência dos laboratórios de ensaio e calibração.*
3. *ISO 13528:2022. Métodos estatísticos para utilização em ensaios de proficiência por comparação interlaboratorial.*
4. *Protocolo Internacional Harmonizado para Testes de Proficiência de Laboratórios de Química Analítica (2006). Pure Appl. Quím. Vol78, pp 145-196.*
5. *Guia EURACHEM “Seleção, Utilização e Interpretação de Programas de Ensaios de Proficiência (EP) – 2ª edição 2011 e 3ª edição 2021”.*
6. *Comité de Métodos Analíticos - Estatística Robusta Parte I e II. Analista 114, 1693-1702 (1989)*
7. *Resumo técnico da AMC (2006). Representação da distribuição de dados com estimativas de densidade de kernel.*
8. *Iria González-Mariño, Verónica Castro, Rosa Montes, Rosario Rodil, Ana Lores, Rafael Cela e José Benito Quintana: “Determinação de múltiplos resíduos de produtos farmacêuticos psicoativos, drogas*





ilícitas e metabolitos relacionados em águas residuais por cromatografia líquida de ultra-alto desempenho-espectrometria de massa em tandem” Journal of Chromatography A, Vol.1569 – setembro de 2018; 91-100

9. Rosa Montes, Sandra Méndez, Julio Cobas, Nieves Carro, Teresa Neuparth, Nelson Alves, Miguel M. Santos, José Benito Quintana e Rosario Rodil: “Ocorrência de produtos químicos persistentes e móveis e outros contaminantes de preocupação emergente em estações de tratamento de águas residuais espanholas e portuguesas, bacias hidrográficas transnacionais e águas costeiras” *Ciência do Ambiente Total* 885 (2023) 163737

4. DEFINIÇÕES

- **Teste de aptidão:** Avaliação do desempenho dos participantes em relação a critérios pré-estabelecidos através de comparações interlaboratoriais (Ref. ISO 17043)
- **Ensaio interlaboratorial:** Este tipo de teste de proficiência envolve a distribuição simultânea aos participantes. É selecionado um material com um valor atribuído ou certificado, com o qual é comparado o resultado do participante. Serve para indicar o desempenho individual ou em grupo dos laboratórios.
- **Item do teste de aptidão:** Amostra, produto, artefacto, material de referência, equipamento, padrão de medição, conjunto de dados ou outras informações utilizadas para avaliar o desempenho dos participantes nos testes de competência.
- **Material de referência MR:** Um material suficientemente homogéneo e estável em relação a uma ou mais propriedades especificadas, e que tenha sido considerado adequado para a utilização prevista num processo de medição. (ISO 17034:2017)

5. RESPONSABILIDADES

A INTECMAR é responsável pela organização e gestão do teste de proficiência, cumprindo os requisitos da norma ISO 17043 e as diretrizes definidas no projeto BlueWWater.

As responsabilidades, neste caso referentes à avaliação da homogeneidade e estabilidade dos itens do teste de proficiência enviados aos participantes, serão as seguintes:

- ✓ Realizar medições para determinar a estabilidade e a homogeneidade, bem como os valores atribuídos e as incertezas associadas às grandezas medidas no item do teste de proficiência.
- ✓ Confie a realização de testes de homogeneidade e estabilidade a laboratórios de referência.
- ✓ Autorizar o envio dos artigos de teste após confirmação da homogeneidade.
- ✓ Verifique se os resultados de estabilidade foram satisfatórios durante toda a ronda de aptidão.
- ✓ Realizar testes preliminares dos itens do teste de proficiência adequados.





6. DESENVOLVIMENTO

A verificação da homogeneidade e estabilidade dos itens de ensaio são requisitos mínimos fundamentais para a correta execução dos ensaios de proficiência. A estimação de ambos os parâmetros é realizada através da análise estatística de medições de analitos selecionados em matrizes apropriadas, que são geralmente aquelas que apresentam maior variabilidade.

O INTECMAR garante a homogeneidade e a estabilidade dos itens de teste. A homogeneidade é analisada após a embalagem do artigo, tal como é fornecido ao participante, mas antes do envio. A estabilidade é avaliada durante o período de teste (antes e depois do envio). A INTECMAR dispõe de laboratório próprio, pelo que a preparação dos materiais de ensaio é realizada internamente. Os testes de homogeneidade e estabilidade são realizados por laboratórios de referência.

A homogeneidade e a estabilidade, sempre que possível, exigem uma amostragem prévia para garantir a fiabilidade, embora possa haver casos em que o número de itens é limitado. Se tal ocorrer, a homogeneidade e a estabilidade serão asseguradas através do registo dos métodos sistemáticos utilizados para obter e preparar os itens.

Os itens de ensaio devem cumprir as características de homogeneidade e estabilidade para o ensaio de proficiência, aplicando os critérios detalhados neste protocolo.

6.1. Receção e preparação de amostras

A INTECMAR garante o controlo de acesso ao material original amostrado através da sua identificação e de condições de armazenamento e segurança adequadas, o que permite que o material seja preservado e separado para evitar contaminação e degradação.

A INTECMAR aplicará procedimentos que definem e controlam os processos de embalagem e rotulagem (rótulos legíveis e seguros), o transporte (nacional e internacional), que é subcontratado, mas as condições de transporte, a sistemática e a entrega correta e atempada são controladas.

O processo de embalagem e rotulagem dos artigos de teste está definido no Protocolo Geral de Teste de Proficiência.

6.2. Verificações preliminares

A INTECMAR é responsável pela receção dos materiais amostrados. e realizar as verificações preliminares correspondentes.

Utilizando um agitador de varão, homogeneiza os volumes de água de cada matriz nas condições estabelecidas.

De seguida, são realizados o enchimento e a rotulagem dos lotes de amostra da fase de aptidão.





De seguida, realiza-se a amostragem do lote de amostras preparadas para se proceder aos respetivos testes de homogeneidade e estabilidade.

Os testes de homogeneidade e estabilidade serão realizados pelo laboratório de referência designado.

Uma vez concluído este processo, contacta co serviço de entregas para providenciar o envio das amostras do INTECMAR para os vários laboratórios aderentes.

6.3. Testes de homogeneidade

A INTECMAR garante a homogeneidade dos itens de teste, cumprindo os critérios estatísticos estabelecidos para o efeito na norma ISO 13528, no Protocolo Harmonizado da IUPAC e noutras normas. A homogeneidade é determinada após o item de teste ser embalado, tal como é fornecido ao participante, mas antes do envio.

O método para verificar a homogeneidade da amostra envolve a recolha aleatória de $n \geq 10$ porções do material de teste, homogeneizando-as separadamente, se necessário, retirando duas amostras de teste de cada porção e analisando as $2n$ porções por ordem aleatória utilizando um método cujo desvio padrão ($S_{amostra}$), em condições de repetibilidade, não é superior a 30% do desvio padrão alvo (σ_{PT}), ou seja, a reprodutibilidade esperada do teste de aptidão.

Assim sendo, o material passa no teste de homogeneidade se:

$$S_{amostra} \leq 0,3 * \sigma_{PT} \text{ (desvio padrão alvo)}$$

Se a homogeneidade for satisfatória, uma análise de variância de um factor deverá mostrar que a variância entre amostras não é significativamente maior do que a variância dentro das amostras.

Os itens correspondentes não serão distribuídos aos participantes pelo INTECMAR até que as subamostras individuais sejam suficientemente homogéneas.

Para garantir a homogeneidade do material preparado, são enviadas 10 amostras para o laboratório de referência para análise. Estas amostras são testadas em duplicado, em condições de repetibilidade. Após a receção, os resultados são submetidos a um estudo estatístico de acordo com os critérios de homogeneidade exigidos pela norma ISO 13528 e pelo Protocolo Harmonizado da IUPAC.



6.3.1. Controlo de homogeneidade.

A avaliação da homogeneidade de uma preparação de amostras é realizada seguindo as tarefas detalhadas abaixo.

- a) São escolhidos um ou mais compostos representativos para avaliar a verificação da homogeneidade e a sua respetiva medição na matriz correspondente, por exemplo:
 - Amostras de água: 4 amostras
 - 2 amostras de matriz de água superficial (1 de rio, 1 de costa)
 - 2 amostras da matriz de águas residuais (1 da entrada e 1 da saída da ETAR)
 - Parâmetros a analisar: Contaminantes emergentes
 - Um ou mais compostos representativos de entre os detalhados no Escopo do teste de proficiência.
- b) Os itens do teste de aptidão são preparados, acondicionados em frascos, etiquetados e embalados para a respetiva ronda, garantindo que existem itens suficientes para os participantes do programa e para a verificação da homogeneidade.
- c) De cada lote correspondente, são selecionadas $n \geq 10$ porções do material de teste na sua forma final de frasco, utilizando um processo de seleção aleatória adequado. O número de itens incluídos no controlo da homogeneidade pode ser reduzido se existirem dados suficientes de controlos de homogeneidade anteriores em artigos semelhantes preparados pelos mesmos procedimentos.
- d) As amostras são enviadas para o laboratório designado, previamente selecionado, para a realização de testes de homogeneidade, juntamente com o método de medição a utilizar. O método deve apresentar uma repetibilidade suficientemente baixa para detetar qualquer falta significativa de homogeneidade. A razão entre o desvio padrão da repetibilidade do método ($S_{analítica}$) e o desvio padrão para a avaliação da competência deve ser inferior a 0,5 conforme recomendado pelo Protocolo Harmonizado da IUPAC.

$$S_{analítica} / \sigma_{PT} (\text{desvio padrão alvo}) < 0,5$$

Isto nem sempre é possível, pelo que, nesse caso, devem ser utilizadas mais réplicas.

- e) O laboratório designado que recebe as amostras prepara $m \geq 2$ porções de ensaio de cada item do ensaio de proficiência, utilizando técnicas apropriadas para minimizar as diferenças entre as porções de ensaio.





Da mesma forma, procede à recolha de porções de teste $n \times m$ por ordem aleatória, obtendo um resultado analítico de cada uma e completando a série de medições em condições de repetibilidade.

Assim que os testes estiverem concluídos, o Laboratório enviará os relatórios com os resultados obtidos à INTECMAR.

- f) O INTECMAR determina, através da análise de variância (ANOVA), a média geral \bar{x} , o desvio padrão dentro das amostras S_w e o desvio padrão entre as amostras S_s (ver Anexo 1).

Em geral, nos desenhos experimentais para demonstrar a homogeneidade, são utilizadas análises de variância apropriadas, gerando estimativas para as componentes da variância, particularmente a estimativa do desvio padrão intra-amostra, incluindo a repetibilidade da medição (S_w) e a variação inter-amostra (S_s). A técnica seguinte aplica-se a um número escolhido n de itens do teste de aptidão, medidos em m repetições.

Quando não são possíveis medições repetidas, por exemplo, em ensaios destrutivos, o desvio padrão dos resultados pode ser utilizado como S_s . Neste cenário, é muito importante ter um método com valores baixos de S_r (desvio padrão de repetibilidade).

6.3.2. Critérios de controlo de homogeneidade

O critério fundamental é comparar o desvio padrão entre as amostras S_s com o desvio padrão da avaliação objetiva da competência σ_{PT} . Os itens do teste de aptidão podem ser considerados adequadamente homogéneos se:

$$S_{amostra} \leq 0,3 * \sigma_{PT} \text{ (desvio padrão alvo)}$$

NOTA: A justificação para o fator de 0,3 é que, quando este critério é cumprido, o desvio padrão entre amostras contribui com um máximo de aproximadamente 10% ($0,1 \sigma_{PT}$) do desvio padrão para a avaliação da competência (quando $\pm 3,0$ é o critério para um sinal de ação).

É também útil alargar os critérios e considerar o erro de amostragem real e a repetibilidade na verificação da homogeneidade (protocolo recomendado pela IUPAC). Nestes casos, adota-se o seguinte procedimento:

Calcular: $\sigma^2_{\text{permitido}} = (0,3 \sigma_{PT})^2$

Calcular: $C = F_1 \sigma^2_{\text{permitido}} + F_2 S_w^2$





onde:

Sw é o desvio padrão interno da repetibilidade (dentro das amostras)

F₁ e ***F₂*** Estes valores são derivados de tabelas estatísticas padrão, reproduzidas abaixo na Tabela 1, para o número de itens do teste de aptidão seleccionados e com cada item testado em duplicado.

O critério que demonstra que o lote de material não é suficientemente homogéneo é o seguinte:

$$\text{Sim } Ss > \sqrt{c}$$

Tabela 1

n	C (95%)	F1	F2
7	0,727	2.10	1,43
8	0,680	2.01	1,25
9	0,638	1,94	1.11
10	0,602	1,88	1.01
11	0,570	1,83	0,93
12	0,541	1,79	0,86
13	0,515	1,75	0,8
14	0,492	1,72	0,75
15	0,471	1,69	0,71
16	0,452	1,67	0,68
17	0,434	1,64	0,64
18	0,418	1,62	0,62
19	0,403	1,60	0,59
20	0,389	1,59	0,57

NOTA 1: “n” é o número de itens seleccionados do teste de aptidão, testados em duplicado ($m = 2$)

Os critérios adicionais para garantir que os dados do teste de homogeneidade são válidos para análise são detalhados abaixo:

Analisar os resultados de cada parte do teste, pela ordem em que foram medidos, para identificar uma tendência (ou desvio) na análise. Caso se verifique uma tendência



aparente, são tomadas as medidas corretivas adequadas relativamente ao método de medição, tendo em conta a importância da interpretação dos resultados.

Análise dos resultados médios da amostra por ordem de produção da amostra. Se houver uma tendência significativa que faça com que o item do teste de aptidão exceda o critério:

$$S_{amostra} \leq 0,3 * \sigma_{PT} \text{ (desvio padrão alvo)}$$

ou que de alguma forma impeça a utilização do item do teste de aptidão, então:

- São atribuídos valores individuais a cada item do teste de aptidão; ou
- O subconjunto de itens do teste de proficiência significativamente afetado é descartado, e o restante é retestado para verificar homogeneidade suficiente; ou
- Se a tendência afetar todos os itens do teste de aptidão, serão consideradas as seguintes ações:

- *Inclua o desvio padrão entre amostras no desvio padrão para a avaliação das competências, calculando σ'_{pt} como na seguinte equação:*

$$\sigma'_{pt} = \sqrt{\sigma_{pt}^2 + S_s^2}$$

Esta informação deve ser completamente explicada aos participantes.

- *Incluir S_s na incerteza do valor atribuído e utilize z' para avaliar o desempenho;*
- *Quando σ_{pt} é o desvio padrão robusto dos resultados dos participantes, pelo que a heterogeneidade entre os itens do teste de aptidão está incluída no σ_{pt} , por isso, o critério de aceitabilidade da homogeneidade pode ser flexibilizado com cautela.*

Compare a diferença entre réplicas (ou intervalo, se existirem mais de 2 réplicas) e, se necessário, verifica-se a significância estatística da diferença entre réplicas através do teste de Cochran (ISO 5725-2). Se a diferença entre as réplicas for grande para qualquer par de resultados, investiga-se a explicação técnica para a diferença e, se apropriado, um ou ambos os resultados são removidos da análise.





Caso nenhum destes cenários se aplique o INTECMAR:

- O item do teste de aptidão será descartado e a preparação será repetida após a correção da causa da falta de homogeneidade.
- A ronda de testes de proficiência prosseguirá, mas a avaliação da competência de desempenho (z-score) será realizada apenas para fins informativos, notificando os laboratórios participantes sobre esta eventualidade e a sua causa no Relatório de Testes de Proficiência..

6.3.3. Resumo dos critérios propostos na ISO 13528.

- Não se aplicam testes estatísticos, mas sim ensaios relacionados com a avaliação interna.
- São necessárias, no mínimo, 10 amostras e 2 réplicas, tal como no Protocolo IUPAC.
- Determine os valores do desvio padrão para:
 - ✓ *Desvio padrão da amostra (ANOVA)*
 - ✓ *Desvio padrão entre amostras $< 0,3 * \sigma_{alvo}$*
 - ✓ *Caso o critério acima não seja cumprido, o fornecedor deverá incluir um fator que tenha em conta esta falta de heterogeneidade da amostra no desvio padrão interlaboratorial geral.*
- Não é recomendável aplicar o teste F para comparar o valor crítico fornecido pelo SD^2/Sr^2 com o valor estatístico das tabelas, porque:
 - ✓ *Sr alta: teste pouco sensível (desvio padrão elevado seria uma mais-valia).*
 - ✓ *Sr baixa: teste pouco sensível (baixo desvio padrão não está em conformidade)*
- Quando as provas e a teoria demonstram homogeneidade suficiente, a experiência pode ser utilizada para reduzir o número de ensaios.
- Podem ser utilizados testes estatísticos semelhantes para verificar a conformidade com os critérios de estabilidade (mínimo de 3 amostras duplicadas).





6.4. Testes de estabilidade

As amostras de ensaio devem ser suficientemente estáveis durante toda a ronda de ensaios de proficiência. Isto inclui o tempo entre a preparação e o início do teste, bem como durante o transporte das amostras e o tempo concedido aos participantes para a realização dos testes.

Estes critérios foram estabelecidos através de testes de estabilidade, experiência em testes de proficiência, aconselhamento de especialistas e avaliação de dados históricos, comparando os dados de preparação e homogeneidade com os valores atribuídos.

Os itens para os testes de proficiência devem cumprir as características de estabilidade para os testes de proficiência, aplicando os critérios detalhados neste protocolo.

6.4.1. Controle de estabilidade

O controlo de estabilidade é realizado durante a duração típica da ronda de testes de proficiência (incluindo ou excluindo o transporte).

Quando existe uma garantia razoável, com base em estudos experimentais anteriores, experiência ou conhecimento prévio, de que a instabilidade é improvável, as verificações de estabilidade experimental do INTECMAR podem limitar-se à verificação de alterações significativas ao longo da ronda, realizadas durante e após a ronda de testes de proficiência.

Os seguintes aspetos são tidos em conta para as verificações de estabilidade:

- ✓ Todas as propriedades utilizadas na fase de ensaios de proficiência devem ser analisadas ou a sua estabilidade verificada. Isto pode ser conseguido através de experiência prévia e justificação técnica baseada no conhecimento da matriz e das medições.
- ✓ Pelo menos 3 itens do teste de proficiência são analisados em duplicado; devem ser utilizadas mais amostras ou mais réplicas se houver suspeita de repetibilidade, por exemplo, se:

$$S_r \text{ ou } S_w > 0,5\sigma_{PT}$$

- ✓ As medições de estabilidade têm o mesmo número de repetições que foram obtidas no estudo anterior ao início da ronda do teste de aptidão física (por exemplo, verificação da homogeneidade).

Para avaliar a estabilidade nos testes de aptidão, uma pequena amostra de itens do teste é analisada no final de uma ronda e comparada com os itens testados antes da ronda, para garantir que não há alterações durante o período do estudo.





A verificação pode incluir uma análise de qualquer efeito das condições de transporte, expondo adicionalmente os itens do teste de proficiência mantidos durante o estudo a condições que representem as condições de transporte.

Para garantir a estabilidade do material preparado, serão analisadas 3 amostras em duplicado, uma antes e outra depois da conclusão do exercício (após todos os laboratórios terem enviado os seus resultados), seguindo as tarefas detalhadas abaixo:

- As amostras são enviadas e analisadas no mesmo laboratório que realizou os ensaios de homogeneidade, utilizando o mesmo método analítico e testando a mesma propriedade ou propriedades para verificação de estabilidade que nos ensaios anteriores ao início da ronda de ensaios de proficiência.
- É estabelecido um intervalo de tempo entre a verificação da homogeneidade e o teste de estabilidade, semelhante ao intervalo de tempo experimentado pelos participantes na ronda de testes de proficiência. Se possível, os itens do teste de proficiência são avaliados nas mesmas condições de transporte e em simultâneo com a ronda de testes de proficiência.
- É selecionado aleatoriamente um número n de itens do teste de aptidão, onde $n \geq 3$.
- O mesmo número de medições repetidas (m) é realizado em todos os itens do teste de proficiência na verificação da estabilidade.
- Todas as réplicas dos itens do teste de aptidão são analisadas por ordem aleatória e em condições de repetibilidade.
- As médias e os resultados dos dois grupos (antes e depois) são calculados respetivamente.

6.4.2. Critérios de controlo de estabilidade.

Após a conclusão da ronda e a receção dos resultados, é realizado o estudo estatístico correspondente, referente à estabilidade dos itens, de acordo com os critérios da norma ISO 13528 e do Protocolo Harmonizado da IUPAC.

A média geral das medições obtidas no controlo de homogeneidade é comparada. \bar{y}_1 (ou outra verificação prévia efetuada) com a média geral dos resultados obtidos na verificação de estabilidade \bar{y}_2 . As amostras podem ser consideradas adequadamente estáveis se:

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0,3 \cdot \sigma_{PT}$$



A precisão intermédia do método de medição (ou a incerteza de medição do item) pode contribuir para a impossibilidade de cumprir este critério. Neste caso, o critério pode ser expandido adicionando a incerteza da diferença σ_{PT} e depois verifique a diferença da seguinte forma:

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0,3 \cdot \sqrt{\sigma_{PT}^2 + 2 \cdot u(x_i)^2}$$

Caso estes critérios não sejam cumpridos, poderão ser consideradas as seguintes opções:

- ✓ Quantificar o efeito da instabilidade e tê-lo em conta na avaliação (por exemplo, com índices de desempenho de z'-score).
- ✓ Analisar os procedimentos de preparação e armazenamento de amostras para verificar se é possível realizar melhorias.
- ✓ Não avaliar o desempenho dos participantes, nem a fazê-lo apenas para fins informativos.

6.4.3. Estabilidade em condições de transporte.

O INTECMAR poderá também ter em conta quaisquer efeitos conhecidos do transporte ao avaliar o desempenho. Qualquer aumento da incerteza devido ao transporte será incluído na incerteza do valor atribuído.

Uma vez que o valor atribuído e o desvio padrão para a avaliação da competência são determinados a partir dos resultados dos participantes, estas estatísticas podem refletir quaisquer efeitos de viés e incerteza causados pelas condições de transporte.

7. APÊNDICES

7.1. Folha de cálculo Excel para cálculos de homogeneidade ISO 13528/IUPAC



Verificación Homogeneidad (ISO 13528:2015)

Datos

Muestra	valor1, $x_{t,1}$	valor2, $x_{t,2}$	\bar{x}_t	s_t^2	w_t^2
1	0,185	0,194	0,1895	0,00002025	4,05E-05
2	0,187	0,189	0,188	0,000001	0,000002
3	0,182	0,186	0,184	4E-06	8E-06
4	0,188	0,196	0,192	0,000016	3,2E-05
5	0,191	0,181	0,186	0,000025	5E-05
6	0,188	0,18	0,184	0,000016	3,2E-05
7	0,187	0,196	0,1915	0,00002025	4,05E-05
8	0,177	0,186	0,1815	0,00002025	4,05E-05
9	0,179	0,187	0,183	0,000016	3,2E-05
10	0,188	0,196	0,192	0,000016	3,2E-05
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Homogeneidad

número de muestras	10		
número de replicados	2		
Media general \bar{x}	0,18715		
Varianza de medias muestral s_x^2	1,5836E-05	Dev. standard de emdias muestral s_x	0,00397946
Varianza intra-muestras s_w^2	3,095E-05	Dev. standard intra-muestras s_w	0,00556327
Varianza entre-muestras s_s^2	3,6111E-07	Dev. standard entre-muestras s_s	0,00060093

Desv. standard esperada del ensayo de aptitud (objetivo) σ_{pt} 0,02807

Homogeneidad OK Valor control 0,008421

Con margen adicional para error de muestreo real y repetibilidad (B2.3)

σ_{allow}^2	7,09132E-05	critico F_1	1,88
c	0,000164576	critico F_2	1,01
\sqrt{c}	0,012828733		

Homogeneidad OK