Artigo

Determinação do Teor de Ferro Utilizando o Aplicativo Photo Metrix PRO®: a Tecnologia a favor do Ensino de Química

Lourenço, E. C.; Paula, S.; Setti, G. O.; Toci, A. T.; Padilha, J. C.; Silva, E. M. Boroski, M.*

Rev. Virtual Quim., 2021, 13 (1), 192-206. Data de publicação na Web: 24 de Novembro de 2020

http://rvq.sbq.org.br

Determination of Iron Content Using the PhotoMetrix PRO® Application: Technology in Favor of Teaching Chemistry

Abstract: Information and Communications Technology in the teaching of chemistry has been a trend in the field of education, especially when the teacher aims to increase student interest and raise the quality of the classes. In this work, the PhotoMetrix PRO® app, free and available for smartphones, was used to in a colorimetry practice to measure iron by the reaction with thiocyanate. Spectrometer set at visible range is used to monitoring this reaction. At practical classes in high school, in technical and undergraduate courses the number of equipment is generally insufficient for handling by the students, and in many institutions, they are not available. The methodology was adjusted with a focus on sustainability at the chemistry laboratory, by using reduced volumes of reagents to mitigate the generation of waste and the analysis costs. The methodology presented R² values of 0.999, detection and quantification limits of 0.34 e 0.98 mg L¹, respectively, and 6.0 % RSD. Iron content was measured in three samples, namely tap water, razor blade and food supplement. The level of iron was satisfactory, compared to visible-spectrophotometry results.

Keywords: Analytical chemistry; free software; technology in the teaching of chemistry; sample preparation; PhotoMetrix PRO®; chemistry app; TICs.

Resumo

O uso de tecnologias de informação e comunicação no ensino de química tem sido uma tendência na área da educação, em especial quando o docente tem como objetivo aumentar o interesse dos estudantes e elevar a qualidade das aulas. Neste trabalho empregou-se o aplicativo PhotoMetrix PRO®, gratuito e disponível para *smartphone*, em uma prática de colorimetria para determinação de íons ferro empregando tiocianato. Esta reação pode ser monitorada por espectrofotômetro na região do visível. O número destes equipamentos disponíveis para as aulas práticas no ensino médio, em cursos técnicos e de graduação são em geral insuficientes para manuseio por parte dos alunos, e em muitas instituições, não se encontram disponíveis. O método foi adaptado com enfoque na sustentabilidade em um laboratório de química, utilizando volumes reduzidos de reagentes para mitigação de resíduos e custos da análise. A metodologia apresentou valores de R² de 0,999, limites de detecção e quantificação de 0,34 e 0,98 mg L⁻¹, respectivamente, e valores inferiores a 6,0 % de DPR. Determinações de ferro foram realizadas em três amostras, água de torneira, lâmina de barbear e suplemento alimentar. Os níveis de ferro foram satisfatórios quando comparados com os resultados obtidos por espectrofotometria na região do visível.

Palavras-chave: Química analítica; software livre; tecnologia no ensino de química; preparo de amostra; PhotoMetrix PRO®; aplicativos de química; TICs.

marcela.boroski@unila.edu.br DOI: 10.21577/1984-6835.20200137

^{*} Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, CEP 85867-970, Foz do Iguaçu-PR, Brasil.

Volume 13, Número 1





Determinação do Teor de Ferro Utilizando o Aplicativo PhotoMetrix PRO®: a Tecnologia a favor do Ensino de Química

Emilene de C. Lourenço, Salete de Paula, Grazielle de O. Setti, Aline T. Toci,

Janine C. Padilha, Eleandro M. da Silva, Marcela Boroski*

Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, CEP 85867-970, Foz do Iguaçu-PR, Brasil.

*marcela.boroski@unila.edu.br

Recebido em 18 de Agosto de 2020. Aceito para publicação em 23 de Outubro de 2020.

1. Introdução

2. Procedimento Experimental

- 2.1. Materiais e reagentes
- 2.2. Preparo das soluções
- 2.4. Análise de Fe³⁺ em amostras
- 2.5. Análise por espectrofotômetro
- 2.6. Análise por PhotoMetrix PRO®
- 2.7. Validação da metodologia

3. Resultados e Discussões

- 3.1. Linearidade
- 3.2. Limite de detecção e quantificação
- 3.3. Repetibilidade
- 3.4. Determinação de ferro em amostras reais

4. Conclusões

1. Introdução

A evolução tecnológica avançou de forma significativa nas últimas décadas, tornando imprescindível que diferentes áreas do conhecimento acompanhem esse novo ciclo. Uma das estratégias para despertar o interesse dos discentes é relacionar os experimentos laboratoriais com a vivência cotidiana do estudante, por exemplo, a escolha de amostras reais e a adoção de tecnologias atuais, como o uso de aplicativos

de celular.¹⁻³ Esta última é uma das alternativas que pode auxiliar o professor a compreender o universo do estudante, fazendo com que o ensino da química se torne mais interessante, prazeroso e possibilite a inserção do aluno nos conteúdos trabalhados, de forma prática.⁴

Os smartphones já estão inseridos na realidade das salas de aulas e podem ser utilizados como uma ferramenta de ensino em diferentes disciplinas, mesmo nos laboratórios, local em que seu uso muitas vezes não é recomendado, devido às normas de segurança.⁵⁻⁷ Por outro lado, o uso consciente



associado ao planejamento do professor, com foco no ensino e na aprendizagem, podem constituir uma estratégia que modificará a percepção dos discentes durante as aulas práticas.⁸⁻¹⁰ O uso de aplicativos como ferramenta pedagógica está associado ao uso das Tecnologias de Informação e Comunicação (TICs), as quais têm reconhecida aderência ao ensino de qualidade, pois envolvem o desenvolvimento de aplicações específicas que podem ser um apoio no processo do ensino em inúmeras áreas do conhecimento.^{4-11,12}

Percebe-se que o uso de aplicativos para o ensino de química tem se mostrado como uma tendência, e esta deverá crescer ainda mais nos próximos anos.13 Atualmente, encontram-se disponíveis mais de 513 modelos de aplicativos gratuitos e 330 pagos, que foram criados para auxiliar no ensino da química.¹⁴ Alguns desses aplicativos merecem destaque, como o BioLegend Lab que auxilia na conversão da velocidade da centrífuga de g (gravidade) para RPM (rotação por minuto), calcula diluições e molaridade, e apresenta um cronômetro para não perder o tempo da reação. O aplicativo Lab solventes disponibiliza dados de solventes comuns como: propriedades físicas, segurança a saúde e ao meio ambiente, representação do nome do composto e a estrutura química, além de agrupá-los por suas similaridades de nome, propriedades e semelhança estrutural. Já o Solution Calculator Lite permite o cálculo de diluição de soluções a partir de uma solução estoque, além de possuir ferramenta para cálculo de massa molecular e uma Tabela periódica com informações individuais dos elementos.

aplicativo Shoebox spectrophotometer possibilita que um smartphone possa ser utilizado como o detector de um espectrofotômetro e tem como função didática que os alunos construam um espectrofotômetro e entendam o seu funcionamento.15 Ainda considerando as questões didáticas voltadas a inclusão, o aplicativo Titration ColorCam permite que alunos daltônicos e deficientes visuais realizem experimentos de titulação ácido-base em laboratórios de química. Neste aplicativo, as imagens são analisadas em relação as mudanças de cor envolvidas no procedimento e traduzidas em dados sonoros e feedback tátil, a partir de vibrações, para detectar o ponto final da titulação. 16 Desta forma, a presença da tecnologia como ferramenta de ensino deixou de ser apenas especulação, ou mesmo parte de ações individuais. Os aplicativos têm funcionado como pequenos ajudantes de laboratório.¹⁷

Um dos experimentos clássicos nas aulas de laboratório de química é a determinação quantitativa de íons ferro empregando método colorimétrico com um agente complexante. Na literatura encontram-se muitos relatos deste método e as principais modificações estão relacionadas às amostras em que se deseja quantificar o ferro, como por exemplo, águas¹⁸ com diferentes características, amostras de palha de aco,3 leite,19 etc. No método clássico, os íons Ferro III (Fe³⁺) presentes no meio são complexados com o íons tiocianato (SCN-), formando seis complexos possíveis, sendo 3 aniônicos, um neutro e 2 catiônicos: $Fe(NCS)_4$, $Fe(NCS)_5^2$, $Fe(NCS)_6^3$ Fe(NCS)₃, Fe(NCS)₂+, Fe(NCS)²⁺. Na reação do SCN com íons Ferro II (Fe2+) um único complexo é formado, o Fe(NCS)+, e sua conversão não é favorável. Em concentrações superiores a 0,10 mol L-1 de íons tiocianato é predominante a espécie Fe(NCS)₆³⁻, já em concentrações menores que esta, é predominante a espécie Fe(NCS)2+. Geralmente, as espécies Fe(II) e Fe(III) coexistem em diversas matrizes, sendo necessário o emprego de um oxidante forte para a oxidação do Fe(II). A reação também deve ocorrer em meio ácido para evitar a precipitação do Fe(III) na forma de hidróxido, pois o equilíbrio de formação do complexo também pode ser afetado por mudanças no pH.20

Os complexos formados entre íons Fe³⁺ e apresentam coloração tiocianato vermelho intensa, que varia de intensidade de acordo com a concentração de íons Fe³⁺ no meio reacional. A formação do complexo pode ser monitorada com espectrofotômetro ou fotômetros na região do visível do espectro eletromagnético (~ 470 nm). Por estes motivos, esta é uma reação muito útil para trabalhar diversos conceitos da Química, desde fenômenos que indicam a ocorrência de reação, até o preparo de soluções, construção de curva analítica, obtenção de parâmetros estatísticos e detecção/ quantificação de analitos em amostras reais.

Em geral, os laboratórios de ensino dispõem de uma ou mais unidades de espectrofotômetros, que tem seu uso revezado entre os estudantes. Isso se dá, devido ao valor agregado do instrumento, sendo incomum que existam equipamentos suficientes para todos os estudantes manusearem durante as aulas práticas. Além disso, podem ser observados casos em que o equipamento é compartilhado com as atividades de pesquisa, sendo o uso limitado ao docente, o que resulta em uma abordagem demonstrativa.²¹



É notória a necessidade de aumentar a rapidez, mobilidade e economia nas análises voltadas a área de ensino.²² Neste viés, o uso de aplicativos de celular baseados na captura de imagens vem crescendo e tem apresentado resultados com uma boa correlação, quando comparado aos métodos instrumentais, apresentando coeficientes de determinação em torno de 0,98 e 0,99, o que evidencia a eficiência nos resultados. 15,23 Acompanhando esta tendência. Helfer e colaboradores²³ reportaram em 2017 o desenvolvimento de um aplicativo livre para smartphone denominado de PhotoMetrix PRO® que tem a capacidade de capturar e analisar imagens digitais através de modelos matemáticos univariados e multivariados. O aplicativo, por sua vez, já foi utilizado na determinação de ferro em amostras de suplemento alimentar, na avaliação da qualidade de biodiesel e para a verificação da presença de biodiesel em blends, monitoramento de titulações ácido-base, determinação de etanol em cachaça e determinação e monitoramento de flúor em amostras de água para abastecimento. 23-28

O emprego do PhotoMetrix PRO® não implica na substituição dos espectrofotômetros, visto que os temas relacionados aos métodos ópticos de análise requerem o estudo por destes equipamentos. Por outro lado, o uso do aplicativo permite ao estudante realizar as medições, obter as curvas analíticas e o estudo dos seus parâmetros, sem precisar utilizar metodologias avançadas e de alto custo.²² O objetivo deste trabalho é demonstrar a viabilidade do uso do aplicativo de *smartphone* PhotoMetrix PRO* em disciplinas experimentais para o ensino de noções fundamentais de determinação colorimétrica de íons ferro por complexação com tiocianato em diferentes tipos de amostras, como água da torneira, lâmina de barbear e suplemento alimentar. Concomitantemente, demonstrou-se a viabilidade da aplicação da metodologia no ensino de parâmetros de validação analítica.

2. Procedimento Experimental

2.1. Materiais e reagentes

Para a realização do experimento foram utilizados materiais, reagentes e amostras apresentados no Quadro 1.

2.2. Preparo das soluções

Solução padrão estoque de Fe³⁺ 250 mg L⁻¹: 0,121 g de cloreto de ferro (III) hexaidratado (FeCl₂.6H₂O, massa molecular 270,33 g mol⁻¹) foi

Quadro 1. Lista de materiais, reagentes e amostras utilizados no experimento

Materiais	Reagentes e Amostras
Pipeta volumétrica 1,0, 2,0 5,0 mL	Cloreto de ferro (III) hexaidratado (FeCl ₃ .6H ₂ O)
Micropipetas 100-1000 μL e 500-5000 μL	Ácido clorídrico (HCl) 0,10 mol L ⁻¹
Balões volumétricos de 50,0, 100,0, 250,0 mL	Tiocianato de potássio (KSCN) 0,10 mol L ⁻¹
Espectrofotômetro ou fotômetro a 470 nm	Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄) 3,0 mol L ⁻¹
Chapa de aquecimento	Ácido nítrico (HNO ₃) 6,0 mol L ⁻¹
Cubetas de vidro ou quartzo	Lâmina de barbear com 88 % (m/m) de Fe
Balança analítica	Amostra de água da torneira
Vidro de relógio	Comprimido de suplemento alimentar de Sulfato ferroso com 40 mg de Fe Vitafer®
Pipeta de Pasteur	
Pesa filtro	
Espátula	
Funil de vidro	
Bastão de vidro	
Béquers 50 mL e 100 mL	
Tubos de ensaio de 15 mL	
Suporte Universal com garra	
Caixa adaptada para captura de imagens	
LED com cabo USB	



diluído em um béquer com uma solução de HCl 0,10 mol L⁻¹. O conteúdo foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL, e o volume completado com solução de HCl 0,10 mol L⁻¹.

Solução padrão estoque de Fe^{3+} 10 mg L^{-1} : em um balão volumétrico de 25 mL foi adicionado 1,0 mL da solução padrão estoque de Fe^{3+} a 250 mg L^{-1} , e o volume completado com a solução de HCl 0,10 mol L^{-1} .

Solução de tiocianato de potássio (KSCN) 0,10 mol L⁻¹: 4,859 g de tiocianato de potássio foram dissolvidos com água deionizada em um béquer. Após a dissolução completa, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 500 mL, e avolumado com água deionizada.

2.3. Construção de curva analítica

A curva analítica foi construída na faixa de 0,33 a 3,67 mg L⁻¹ em Fe³⁺. Com auxílio de uma pipeta volumétrica ou micropipeta, em tubos de ensaio de 15 mL, foram adicionados os volumes descritos no Quadro 2 para cada ponto da curva, correspondentes à solução padrão de Fe³⁺ 10 mg L⁻¹, HCl 0,10 mol L⁻¹ e solução de KSCN 0,10 mol L⁻¹. Para o branco foi pipetado 1 mL de água deionizada no lugar da solução padrão de Fe³⁺. O volume final em cada ponto da curva foi de 3,0 mL. Aguardou-se cerca de 5 a 10 min, após a adição do tiocianato, para realização das medidas no espectrofotômetro, na faixa entre 470 e 475 nm e para obtenção das imagens com o aplicativo PhotoMetrix PRO°.

As três amostras estudadas (água de torneira, lâmina de barbear e suplemento alimentar) são bastante distintas no que se refere ao teor de Fe³+. Assim, optou-se por preparar uma curva analítica com baixas concentrações de ferro, próximo ao limite

de detecção e quantificação do método, e realizar diluições nas amostras, situando a concentração de Fe³⁺ de cada amostra dentro da faixa de trabalho. A linearidade da curva analítica foi estudada pela avaliação do coeficiente de regressão linear (R²) e da avaliação do gráfico de resíduos.

2.4. Análise de Fe³⁺ em amostras

2.4.1. Água

Para a análise da matriz aquosa, utilizou-se água de torneira propositalmente contaminada com solução padrão de Fe³⁺ 10 mg L⁻¹, de modo a estar acima dos valores de limite de quantificação (LQ) de ambos os métodos. As amostras foram preparadas em triplicata, em tubos de ensaio, similares aos utilizados para o preparo da curva analítica. Pipetouse 1,0 mL da amostra de água, 1,0 mL da solução de HCl 0,10 mol L⁻¹ e 1,0 mL de solução de tiocianato de potássio 0,10 mol L⁻¹, mantendo-se um volume final de amostra de 3,0 mL. Após a adição do tiocianato, aguardou-se cerca de 5 a 10 min para realização das medidas no espectrofotômetro, na faixa entre 470 e 475 nm e obtenção das imagens com o aplicativo PhotoMetrix PRO*.

2.4.2. Lâmina de barbear

Todo o procedimento de dissolução e preparo de solução da amostra da lâmina de barbear foi realizada dentro de capela. Uma massa de 121,5 mg de lâmina de barbear (Figura 1), previamente limpa e seca foi transferida para um béquer de 50 mL, com aproximadamente 10,0 mL de ácido sulfúrico a 3,0 mol L-1. Em seguida, cobriuse o béquer com vidro de relógio e a mistura foi

Pontos da Curva Analítica	Volume de padrão Fe³+ 10 mg L-1 (mL)	Volume de HCl 0,10 mol L-1 (mL)	Volume de KSCN 0,10 mol L ⁻¹ (mL)	Concentração de íons Fe³+ (mg L-1)
Branco*	0,0	1,0	1,0	0,00
1	0,1	1,9	1,0	0,33
2	0,2	1,8	1,0	0,67
3	0,3	1,7	1,0	1,00
4	0,4	1,6	1,0	1,33
5	0,5	1,5	1,0	1,67
6	0,7	1,3	1,0	2,33
7	0,9	1,1	1,0	3,00
8	1,1	0,9	1,0	3,67



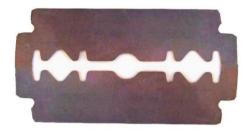


Figura 1. Lâmina de barbear limpa e seca utilizada no experimento

submetida ao aquecimento em chapa aquecedora a 60°C, durante aproximadamente 60 minutos (até que a completa dissolução da lâmina de barbear). O béquer foi retirado da chapa e resfriado à temperatura ambiente. As impurezas foram removidas por filtração simples utilizando funil e papel de filtro. O filtrado foi transferido quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL que foi, então, avolumado com água deionizada e homogeneizado. Em seguida, uma alíquota de 1,0 mL dessa solução foi pipetada para um balão volumétrico de 50 mL, e seu volume aferido com água deionizada.

Em tubos de ensaio, similares aos utilizados para o preparo da curva analítica e em triplicata, pipetou-se 1,0 mL dessa solução diluída, 1,0 mL de água deionizada e 1,0 mL de solução de tiocianato de potássio 0,10 mol L⁻¹, totalizando 3,0 mL. Aguardou-se de 5 a 10 minutos para realização das leituras em espectrofotômetro, na faixa entre 470 e 475 nm, e para a captura de imagens pelo aplicativo PhotoMetrix PRO°.

2.4.3. Ferro em suplemento alimentar

O suplemento alimentar da marca Vitafer® foi utilizado como amostra. Segundo informações do fabricante, cada comprimido contém 109,0 mg de sulfato ferroso e 40,0 mg de ferro elementar. Um comprimido foi pesado (312,4 mg) em balança analítica e triturado. Sua massa foi transferida quantitativamente para um béquer de 50 mL, seguida da adição de 10,0 mL de ácido nítrico 6,0 mol L-1. Cobriu-se o béquer com vidro de relógio e a mistura foi aquecida em chapa aquecedora a 60°C durante 60 min (dentro de capela). Após a dissolução e resfriamento, a solução foi filtrada, sendo o filtrado coletado diretamente em balão volumétrico de 100,0 mL. O volume do balão foi aferido com água deionizada e homogeneizado. Em seguida, pipetou-se 1,0 mL da solução previamente preparada para um balão volumétrico de 50 mL,

seguida da aferição e homogeneização do balão.

Em tubos de ensaio, similares aos utilizados para o preparo da curva analítica, pipetou-se 1,0 mL dessa solução diluída, 1,0 mL de água deionizada e 1,0 mL de solução de tiocianato de potássio 0,1 mol L⁻¹, totalizando 3,0 mL de amostra. O procedimento foi realizado em triplicata. Aguardou-se de 5 a 10 minutos para realização das leituras em espectrofotômetro, na faixa entre 470 e 475 nm, e para a captura de imagens pelo aplicativo PhotoMetrix PRO*.

2.5. Análise por espectrofotômetro

Foram utilizadas cubetas de quartzo ou de vidro com 10 mm de caminho óptico para a leitura da absorbância em espectrofotômetro (UV-Vis da Thermo Scientific Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer) na faixa entre 470 e 475 nm. O espectrofotômetro utilizado possui dois caminhos ópticos, sendo automaticamente descontado o branco em cada medida de absorbância.

2.6. Análise por PhotoMetrix PRO®

A captura de imagens e análise pelo aplicativo PhotoMetrix PRO® das amostras foram efetuadas nos tubos de ensaio de 15 mL onde a reação foi realizada. Para a captura das amostras, um protótipo foi desenvolvido para controlar a luminosidade do meio, evitar movimentos indesejados durante a captura das imagens, bem como fixar a distância entre a câmera e a amostra analisada (Figura 2). A caixa foi confeccionada em papelão e com auxílio de folhas de papel sulfite branco, cabo de LED com saída USB acoplado ao celular, como fonte de energia, e apoio para fixação do smartphone na superfície da caixa. Com intuito de melhorar o contraste da coloração das amostras e, consequentemente, melhorar a qualidade das imagens, o protótipo foi revestido, internamente, em papel branco.



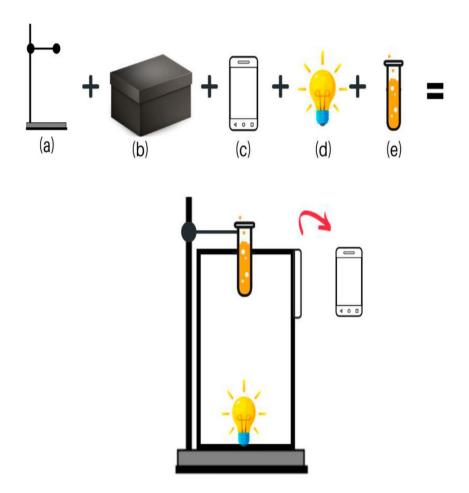


Figura 2. Esquema da captura de imagens com *smartphone* e uso do aplicativo Photometrix PRO®. (a) Suporte universal com garra para tubo de ensaio; (b) caixa de papelão fechada (30x20x10 cm) com pequenas aberturas para acesso do tubo e câmera do *smartphone*; (c) *smartphone* com instalação do aplicativo PhotoMetrix PRO®; (d) luz de LED com cabo adaptado para celular; (e) tubos de ensaio com amostras

A captura das imagens foi realizada utilizando um celular da marca Xaiomi Redmi Note 7 (modelo M1901F7E com resolução de câmera 48 megapixels), com instalação prévia do aplicativo PhotoMetrix PRO® (Figura 2).

O tutorial para operação do PhotoMetrix PRO® (versão 1.1.13) encontra-se disponível no site http://www.photometrix.com.br/photometrix.pdf. Nas configurações do programa foi mantida uma região de interesse 32x32 pixels, flash desligado, exposição +4, modo de foco "continuous-picture", balanço de branco automático e resolução 640x480 pixels, conforme Figura 3.

Iniciou-se a leitura das amostras da curva pelo branco, seguindo a ordem crescente de concentração, para construção da curva analítica para a determinação de ferro. O número de pontos e os respectivos valores das concentrações devem ser inseridos no aplicativo em campo específico. Os dados obtidos com a

utilização do PhotoMetrix PRO® são armazenados no próprio aplicativo.

Após a realização da curva, pode-se prosseguir com a análise das amostras, que deve percorrer o caminho de configuração indicado na Figura 3. O número de amostras foi indicado ao aplicativo assim como nome de identificação de cada amostra. Todas as amostras foram lidas em triplicata, assim como realizado em espectrofotômetro. Em seguida, foi escolhida a opção enviar dados para e-mail para que os dados pudessem ser tratados e posteriormente feita a avaliação da metodologia empregada.

2.7. Validação da metodologia

Para o estudo de validação de metodologia, em ambos os métodos, considerou-se a instrução normativa do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) DOQ-



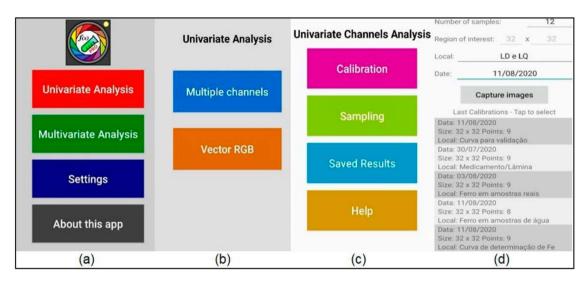


Figura 3. Telas para utilização do aplicativo PhotoMetrix PRO®: (a) Settings (para configurações do aplicativo) e Univariate Analysis (para construção de curva analítica e leitura de amostras); (b) Multiple Channels; (c) Calibration (para calibração da curva analítica) ou Sampling (para análises das amostras); (d): Captura de imagens das amostras

CGCRE-008.²⁹ Os parâmetros utilizados para a validação, em ambas as metodologias de análises, foram: linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e repetibilidade. Para o estudo dos parâmetros de validação, utilizando os dados do espectrofotômetro, empregou-se Planilha de validação desenvolvida por Ribeiro *et al.*³⁰ Os valores para validação das análises realizadas no PhotoMetrix PRO* foram obtidos diretamente do aplicativo e posteriormente tratados no programa Excel.

A resposta da linearidade foi determinada pela análise das soluções padrão em oito concentrações diferentes. As curvas analíticas foram construídas usando a absorbância (caso do espectrofotômetro) e a imagem (canais RGB) versus a concentração das soluções padrão (íons Fe³⁺). A linearidade foi avaliada pelo ajuste do método e pelo valor do coeficiente de correlação (R2). A partir da regressão linear a equação da reta no formato tradicional: foi obtida, onde é a absorbância ou sinal, é coeficiente linear, é o coeficiente angular e a concentração em mg L-1 de íons Fe3+ na amostra analisada. A seguir são mostradas as equações para metodologia desenvolvida em espectrofotômetro (equação 1) e para metodologia desenvolvida no aplicativo PhotoMetrix PRO® (equação 2).

$$Absorb \hat{a}ncia = a + b \left[Fe^{3+} \right] (mg L^{-1})$$
 (1)

$$Sinal = a + b[Fe^{3+}] \pmod{L^{-1}}$$
 (2)

Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados em ambas as metodologias. No aplicativo PhotoMetrix PRO*, o LD e LQ foram calculados utilizando as imagens digitais das medidas consecutivas de 6 soluções do branco. Os valores de LD e LQ foram calculados com 3 e 10 vezes os valores das médias obtidas para as concentrações determinadas nos brancos das amostras, respectivamente, equações 3 e 4.27

$$LD = 3.\,\bar{x} \tag{3}$$

$$LQ = 10.\bar{x} \tag{4}$$

Onde " \bar{x} " representa a média dos brancos (n = 6) obtidos em concentração pelo aplicativo.

No espectrofotômetro, os valores de LD e LQ foram determinados através dos parâmetros da curva analítica. Estes parâmetros foram calculados diretamente na planilha de validação de Ribeiro *et al.* (2008)²⁹, a qual emprega métodos matemáticos para determinação do LD e LQ.

Estudo de repetibilidade (precisão) e erro relativo foram determinados nos três níveis de concentração de ferro 0,67, 1,67 e 3,67 mg L⁻¹, em seis repetições cada nível (n = 6). A repetibilidade foi estimada pelo desvio padrão relativo - DPR (%), amplamente conhecido por coeficiente de variância (CV). Para o espectrofotômetro utilizouse a planilha de validação de Ribeiro *et al.* (2008)³⁰. Para o PhotoMetrix PRO° utilizou-se a equação 5.



$$DPR(\%) = \frac{s}{\bar{x}}.100$$
 (5)

Onde:

s, é o desvio padrão;

 \bar{X} , a média obtida a partir de 6 réplicas de amostras.

Para a amostra de suplemento alimentar, cujo o rótulo traz especificações de concentração de Fe³⁺, calculou-se o erro relativo (ER) em relação a cada metodologia e a concentração informada pelo fabricante, utilizando a equação 6.

ER (%) =
$$\left(\frac{Xa - Xb}{Xb}\right)$$
. 100 (6)

Sendo:

Xa, o valor obtido ou média aritmética de valores obtidos experimentalmente;

Xb, o valor admitido como verdadeiro.

A concentração de ferro nas amostras reais, monitorados pelo espectrofotômetro e pelo aplicativo PhotoMetrix PRO® foram comparadas pelo teste *t-student* a um nível de significância de 95%, utilizando o programa Excel.

3. Resultados e Discussões

Com o intuito de demonstrar a viabilidade do uso do aplicativo PhotoMetrix PRO* nas análises quantitativas de Fe³+ em diferentes matrizes, realizou-se o estudo dos parâmetros de validação para ambas as metodologias. Os dados obtidos foram comparados, e por fim, apresentados os resultados de quantificação do analito nas amostras.

A Figura 4 apresenta o espectro de absorbância do complexo formado pela reação de íons Fe^{3+} e SCN^- em meio ácido. O produto desta reação é o complexo $[Fe(NCS)(H_2O)_5]^{2+}$, com absorbância máxima na região entre 470 e 475 nm.

3.1. Linearidade

3.1.1. Curva analítica no espectrofotômetro

Após a leitura da absorbância dos pontos da curva analítica foi construído um gráfico de absorbância em função das concentrações. A

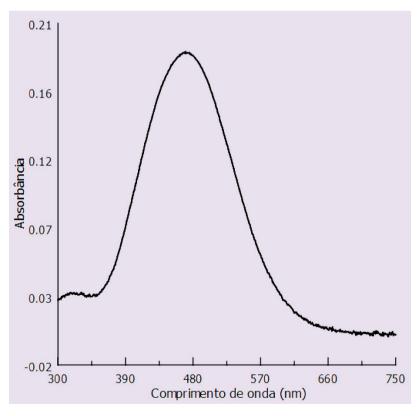


Figura 4. Absorbância do complexo [Fe(NCS)(H₂O)₅]²⁺ em função do comprimento de onda



Figura 5 apresenta a curva analítica obtida pela planilha de validação.³⁰ Alternativamente, outros *softwares* podem ser utilizados na construção do gráfico. O valor de R² obtido foi de 0,9981, apresentando adequada correção entre os dados de concentração de Fe³⁺e os valores de absorbância.

Adicionalmente ao ajuste da curva, a planilha de validação de Ribeiro et al. (2008)30 fornece a equação da regressão linear e o gráfico de resíduos. A planilha está parametrizada para determinar se uma regressão polinomial de segunda ordem ou uma regressão linear é a melhor opção para um maior valor de R2, consequentemente melhorando a confiabilidade da curva de ajuste.30 No entanto, somente um valor de R² próximo a 1 não significa que curva analítica está adequada. Modelos de calibração que apresentem altos resíduos no sinal de obtenção da curva, poderão fornecer um bom coeficiente de correlação, mesmo que a função linear não descreva o melhor comportamento do sinal analítico, o que pode apresentar ocorrências indesejadas como dispersão e distribuição não uniforme dos sinais analíticos. 29,30 A análise do gráfico de resíduos permite que seja detectado anomalias no ajuste da curva como falta de linearidade, amostras atípicas, variância inconstante e correlação entre os erros. O gráfico de resíduos (Figura 6), referente aos dados da curva de analítica (Figura 5), apresentou um comportamento aleatório com baixa dispersão.

3.1.2. Curva analítica no Photometrix PRO®

Como mencionado, o aplicativo baseia-se na teoria de cores, onde é possível obter qualquer cor a partir das cores primárias (vermelho, amarelo e azul). De maneira resumida e muito simplificada, a funcionalidade do aplicativo está voltada a analisar uma imagem e determinar a intensidade de cada uma dessas cores primárias e o espectro a qual ela reflete. O aplicativo faz uso de técnicas matemáticas de análise como regressão linear e mínimos quadrados necessárias para decompor imagens adquiridas.²³

A Figura 7 apresenta a curva analítica obtida diretamente pelo aplicativo PhotoMetrix PRO° O coeficiente de determinação calculado pelo aplicativo revela uma boa correlação entre o sinal e a concentração, com valor de 0,999. Valores de R² similares foram encontrados em outros estudos em que o aplicativo PhotoMetrix PRO° foi utilizado, como na determinação de iodo em biodiesel (R² = 0,990) e na determinação de ferro em tabletes de vitamina (R² = 0,999). ^{23,24}

O aplicativo se mostrou prático e de fácil utilização na coleta de dados para a obtenção da curva e da validação. A construção de curvas em ambiente aberto foi possível com valores de R² entre de 0,97 a 0,99, porém a repetibilidade dos dados não foi considerada adequada, assim como, os valores de LD e LQ foram considerados muito elevados, dessa forma, optou-se por ajustes no

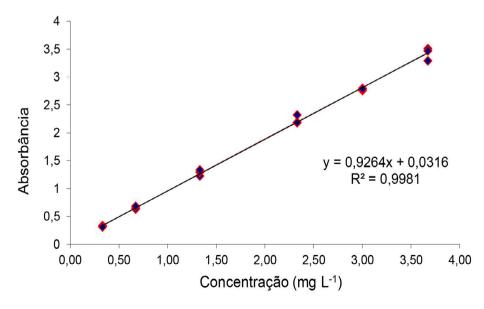
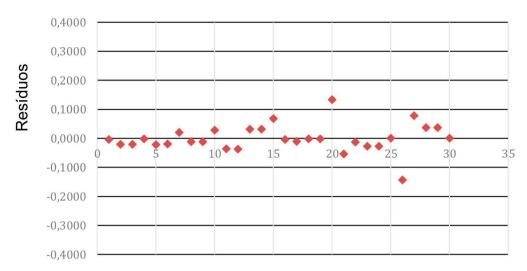


Figura 5. Curva analítica do complexo [Fe(NCS)(H₂O)₅]²⁺ na faixa de concentração de Fe³⁺ de 0,33 a 3,67 mg L⁻¹ fornecido pela planilha de validação de Ribeiro *et al.*³⁰ empregando os dados obtidos por espectrofotômetro





Pontos da curva de calibração

Figura 6. Gráfico de resíduos correspondentes a curva analítica do complexo [Fe(NCS)(H₂O)₅]²⁺ na faixa de concentração de Fe³⁺ de 0,33 a 3,67 mg L⁻¹ fornecido pela planilha de validação de Ribeiro *et al.*³⁰ empregando os dados obtidos por espectrofotômetro

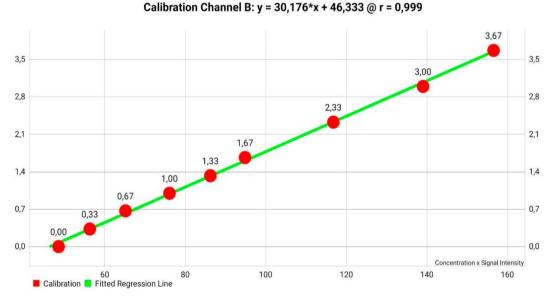


Figura 7. Curva analítica do complexo [Fe(NCS)(H₂O)₅]²⁺ obtida com o uso do Photometrix PRO®. A imagem foi retirada diretamente do aplicativo. A faixa de concentração de Fe³⁺ utilizada foi de 0,33 a 3,67 mg L⁻¹

ambiente para adequação as normas de validação para o uso do aplicativo com efetividade.

Para tanto, deve-se levar em consideração algumas variáveis que podem influenciar no resultado final da qualidade da imagem e, consequentemente, nos parâmetros avaliados. O ângulo da câmera em relação à amostra, a iluminação, o contraste com o fundo da imagem e a distância entre a câmera e a amostra foram

ajustados através da utilização de ambiente controlado para a captura de imagens no aplicativo. Para isto, utilizou-se o protótipo, fabricado artesanalmente (Figura 2), para melhorar a qualidade dos dados para os parâmetros de validação de métodos. Em relação a esses aspectos, os melhores resultados foram obtidos com os seguintes parâmetros: a posição do celular a um ângulo de 180° da amostra; a iluminação



disposta de forma que não houvesse sombras na área de interesse de captura da imagem; o fundo da caixa revestido com papel branco; e a distância mínima entre câmera e amostra foi de 7 cm. Dessa forma, alcançou-se valores de R² superiores a 0,99.

3.2. Limite de detecção e quantificação

A Tabela 1 apresenta os valores dos LDs e LQs obtidos pelas duas metodologias utilizadas. Em ambos os casos, os valores de LD podem ser considerados baixos. Porém, os valores obtidos no PhotoMetrix PRO° são aproximadamente 30% maiores que aqueles obtidos com o espectrofotômetro. Com relação ao LQ, o valor obtido com o espectrofotômetro também foi inferior ao obtido com o uso do PhotoMetrix PRO° (Tabela 1), porém em ambos os casos os LDs foram inferiores a 1,0 mg L¹ demonstrando a viabilidade de aplicação de ambos os métodos para análises em amostras com baixas concentrações do analito e altas concentrações, mediante diluição da amostra.

Ambos os métodos foram considerados adequados para determinação e quantificação de Fe³⁺ em diferentes amostras. Para uma maior confiabilidade dos resultados, a quantificação de Fe³⁺ em solução deve ser realizada em concentrações superiores a 0,98 mg L⁻¹, quando empregado o PhotoMetrix PRO°, e acima de 0,30 mg L-1 quando empregado o espectrofotômetro. A Portaria de Consolidação Nº 5 de 2017 do Ministério da Saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e o seu padrão de potabilidade, determina que as concentrações de ferro em águas para consumo humano não ultrapassem 2,4 mg L⁻¹. Dessa forma, ambas as metodologias estariam aptas para a determinação de ferro em águas para consumo humano.31

3.3. Repetibilidade

A Tabela 1 apresenta os dados de repetibilidade de ambos os métodos de monitoramento da reação. Como esperado, a precisão do método espectrofotométrico foi superior ao do aplicativo. Isto se deve a estrutura óptica do equipamento espectrofotométrico e às condições ideais de análise, que são realizadas em câmara fechada, diminuindo a dispersão dos resultados. Nota-se que em ambos os métodos os maiores DPRs foram obtidos na concentração de 0,67 mg L⁻¹ sendo de 2,38 e 5,42% para o espectrofotômetro e para o PhotoMetrix PRO°, respectivamente. O guia de validação do INMETRO recomenda que na faixa de concentração de 1,0 a 9,9 mg L⁻¹ o DPR deve ser no máximo 11,0%, sendo este valor superior aos encontrados por este estudo.²⁹

Quando comparados todos os parâmetros de validação, pode-se constatar que os melhores aspectos avaliados foram obtidos pelo método espectrofotométrico. Todavia, os parâmetros de validação determinados a partir do aplicativo possuem valores aceitáveis para um método analítico. Todos os itens avaliados, LD, LQ, linearidade e repetibilidade, demonstraram valores abaixo dos indicados pelo guia de validação do INMETRO, o que ressalta a viabilidade de ambos os métodos devido à qualidade analítica observada.²⁹

Além disso, o método com uso de *smartphone* apresenta características de viabilidade de implementação, pois faz uso dos aparelhos celulares dos alunos, não há custo de instalação do aplicativo, o que resulta em baixo custo operacional e análises de qualificação ou quantificação de analitos em tempo hábil, para aplicação em aulas de diferentes níveis educacionais. Ainda há a possibilidade de aplicação de aspectos referentes a validação de métodos em cursos específicos.

Tabela 1. Comparação entre os parâmetros de validação no espectrofotômetro e no PhotoMetrix PRO® para a determinação de Fe

Parâmetros		Espectrofotômetro	PhotoMetrix PRO®
Equação reta* y = b	x + a	y= 0,9264x + 0,0316	y= 46,333x + 30,176
Coeficiente de regre	ssão (R²)	0,9981	0,999
LD (mg L ⁻¹)		0,23	0,30
LQ (mg L ⁻¹)		0,34	0,98
Repetibilidade (%)	0,67 mg L ⁻¹	2,38	5,42
DPR (%)	1,67 mg L ⁻¹	1,14	4,10
Precisão**	3,67 mg L ⁻¹	2,11	1,81

^{*} Curva analítica com 8 pontos preparados em triplicata. **n = 6 em cada um dos níveis de concentração



3.4. Determinação de ferro em amostras reais

Foram analisadas três amostras com distintas concentrações de Fe³⁺. As amostras de lâmina de barbear e suplemento alimentar, para os ensaios de ambas as metodologias, foram previamente preparadas e mantidas acidificadas a 4 °C por até 48 h. As amostras de água foram coletadas e preparadas a partir da adição de padrão no mesmo dia da análise.

As soluções preparadas a partir da lâmina de barbear e do suplemento alimentar foram diluídas previamente a análise, de acordo com a metodologia previamente descrita. Na Tabela 2 são apresentadas as concentrações de Fe³+ obtidos pelo espectrofotômetro e o aplicativo PhotoMetrix PRO°. Nota-se uma diferença significativa (p<0,05) entre os resultados obtidos pelo espectrofotômetro e pelo PhotoMetrix PRO° para as amostras de suplemento alimentar.

Em todas as amostras avaliadas observou-se uma diminuição das concentrações de Fe³⁺ obtidas com o Photometrix PRO® comparadas com as obtidas empregando a espectrofotometria. Em termos percentuais, as diferenças foram de 5,3% para a amostra de água, de 14,9% para a lâmina de barbear e 9,6% para o suplemento alimentar a base de ferro.

Para a amostra de suplemento alimentar foi calculadoo ER(%) combasenos valores especificados pelo fabricante, que dispõe que cada unidade do suplemento apresenta em sua composição 40,0 mg do analito. Com base nessa informação, pode-se notar que o método espectrométrico apresentou ER de 15,4%, enquanto que a metodologia com uso de Photometrix PRO* apenas 11,8%. Além disso, o DPR para ambas as metodologias foram, respectivamente, de 0,9 e 1,8%.

Quando se trata do uso de aplicativos, existe um consenso no meio educacional: não basta apenas conhece-los para que o processo de inovação ocorra em sala de aula. Primeiro é necessário,

que os professores atribuam sentido, signifiquem o seu uso dentro do processo de aprendizagem de forma clara em relação aos objetivos esperados da interação com os dispositivos e os aplicativos. Dessa forma, o uso destas tecnologias associado ao desenvolvimento de metodologias, práticas e processos de mediação pedagógica, será capaz de provocar mudanças significativas no processo de ensino e aprendizagem.^{3,8-10}

4. Conclusões

A metodologia desenvolvida para determinação de ferro empregando o aplicativo PhotoMetrix PRO® atendeu aos critérios estabelecidos pelo INMETRO para validação de metodologias, mostrando-se adequado para a análise de ferro em água, lâmina de barbear e suplemento alimentar. Os resultados obtidos com o uso dessa ferramenta, aproximamse dos observados empregando o método com o uso de espectrofotômetro.

Neste viés, cabe ressaltar a viabilidade associada aos custos de implantação da metodologia empregando o aplicativo, uma vez que essa ferramenta é de fácil acesso devido à popularidade dos *smartphones* entre os estudantes, bem como a gratuidade do aplicativo PhotoMetrix PRO*. Com essa ferramenta metodológica, cada aluno pode obter seus próprios dados da curva analítica e de quantificação de amostras o que agrega na participação e no despertar de criticidade nos discentes. Os dados levantados ainda podem ser discutidos quando às questões de possíveis diferenças de resultados, e aspectos que levaram discrepâncias, de forma a corrigi-las ainda em sala de aula.

Dessa forma, conclui-se que o uso de *smartphones* associados ao uso de bons aplicativos e planejamento específico do professor, constitui uma ferramenta em potencial para o ensino de conceitos relacionados às áreas de Química Geral

Tabela 2. Valores de concentração de Fe3+ em amostras de água, lâmina de barbear e suplemento alimentar

Amostra	Espectrofotômetro	Photometrix PRO®
Água da torneira (mg L-¹)	^a 1,71 ± 0,05	^a 1,62± 0,06
Lâmina de ferro (%m/m)	^a 75,68 ± 4,85	^a 64,43 ± 6,78
Suplemento alimentar (mg/por comprimido)	^a 46,17 ± 0,09	^b 41,76± 1,82

Médias \pm desvio padrão de três replicatas. Letras diferentes na mesma linha representam valores diferentes mediante verificação por testes t-student (p < 0,05)



e Analítica em aulas experimentais, e mesmo teóricas com caráter demonstrativo, ainda que um espectrofotômetro não esteja disponível.

Referências Bibliográficas

- ¹ Fehlberg, E.; Vargas, G.; Andreatta, L. C. A utilização de Laboratórios Virtuais no Ensino de Química para a Educação de Jovens e Adultos. *Novas Tecnologias na Educação* **2016**, *14*, 1. [CrossRef]
- ² Cunha, M. B. Possibilidades para as Aulas de Química. *Química Nova Escola* **2018**, *40*, 232. [CrossRef]
- ³ Ávila, S. G.; Matos, J. R. Compostos coloridos do ferro: uma proposta de experimentação utilizando materiais de baixo custo. *Educación Química* **2017**, *28*, 254. [CrossRef]
- ⁴ Moreno, E. L.; Heidelmann, S. P. Recursos Instrucionais Inovadores para o Ensino de Química. *Química Nova Escola* **2017**, *1*, 12. [CrossRef]
- ⁵ Oliveira, F. C.; Souto, D. L. P.; Carvalho, J. W. P. Seleção e análise de aplicativos com potencial para o ensino de química orgânica. *Tecnologias na Educação* **2016**, *17*, 1. [Link]
- ⁶ Perez, C. M.; Viali, L.; Lahm, R. A. Aplicativos para tablets e smartphones no ensino de física. *Revista Ciências & Ideias* **2016**, *7*, 154. [Link]
- Reinaldo, F.; Magalhães, D. R.; Reis, L. P.; Gaffuri, S.; Freddo, A. Impasse aos Desafios do uso de Smartphones em Sala de Aula: Investigação por Grupos Focais. Revista Ibérica de Sistemas e Tecnologias de Informação 2016, 19, 77. [CrossRef]
 Nichele, A. G.; Canto, L. Z. Ensino de Química com Smartphones e Tablets. Novas Tecnologias na Educação 2016,14, 1. [CrossRef]
- ⁹ Nichele, A. G.; Schlemmer, E. Aplicativos para o ensino e aprendizagem de Química. *Novas Tecnologias na Educação* **2014**, *12*, 1. [CrossRef]
- ¹⁰ Montangero, M. Determining the Amount of Copper (II) Ions in a Solution Using a Smartphone. *Journal of Chemical Education* **2015**, *92*, 1759. [CrossRef]
- ¹¹ Ferreira, M. P.; Suzuki, R. M.; Bonafe, E. G.; Matsushita, M.; Roberto, S. B. Ferramentas Tecnológicas Disponíveis Gratuitamente para Uso no Ensino de Química: Uma Revisão Bibliográfica. *Revista Virtual de Química* **2019**, *11*, 1011. [CrossRef] ¹² Silva, P. F.; Silva, T. P.; Silva, G. N. StudyLab: Construção e Avaliação de um aplicativo para auxiliar o Ensino de Química por professores da Educação Básica. *Tecnologias na Educação* **2015**, 13. [Link]

¹³ Lima, E. F. O Uso das TICs e da Pesquisa como Recursos Pedagógicos no Ensino de Bioquímica para o Curso de Licenciatura em Química, campus Morrinhos-Goiânia. *Revista de Graduação da USP* **2017**, *2*, 115. [CrossRef]

¹⁴ Gresczysczyn, M. C. C.; Monteiro, E. L.; Filho, P. S. C. Aplicativos educacionais para Smartphone e a sua integração com o ensino de química. *Revista de Ensino, Educação e Ciências Humanas* **2016**, *17*, 398. [CrossRef]

¹⁵ Hosker, B. S. Demonstrating Principles of Spectrophotometry by Constructing a Simple, Low-Cost, Functional Spectrophotometer Utilizing the Light Sensor on a Smartphone. *Journal of Chemical Education* **2018**, *95*, 178. [CrossRef]

- ¹⁶Bandyopadhyay, S.; Rathod, B. B. The Sound and Feel of Titrations: A smartphone Aid for Color-Blind and Visually Impaired Students. *Journal of Chemical Education* **2017**, *94*, 946. [CrossRef]
- ¹⁷ Austerjost, J.; Marquard, D.; Raddatz, L.; Geier, D.; Béquer, T.; Scheper, T.; Lindner, P.; Beutel, S. A smart device application for the automated determination of *E. coli* colonies on agar plates. *Engineering* in *Life Sciences* **2017**, *17*, 959. [CrossRef]
- ¹⁸ Curi, D. Determinação de Fe³⁺ em água. *Química Nova na Escola* **2006**, *24*, 39. [Link]
- ¹⁹ Gonçalves, J. M.; Antunes, K. C. L.; Antunes, A. Determinação qualitativa dos íons cálcio e ferro em leite enriquecido. *Química Nova na Escola* **2001**, 14. [Link]
- ²⁰ Skoog, D. A.; Douglas, A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; *Fundamentos da química analítica*, 9a ed., Cengage Learning: São Paulo, 2007.
- ²¹ Belo, T, N.; Leite, L, B, P.; Meotti, P, R, M. As dificuldades de aprendizagem de química: um estudo feito com alunos da Universidade Federal do Amazonas. *Scientia Naturalis* **2019**, *1*, 1. [Link] ²²Parastar, H.; Shaye, H. MVC app: A smartphone application for performing chemometric methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **2015**, *147*, 105. [CrossRef]
- Helfer, G. A.; Magnus, V, S.; Böck, F. C.; Teichmann, A.; Ferrão, M, F.; Costa, A, B. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2017, 28, 328. [CrossRef]
 Soares, S.; Lima, M. J. A.; Rocha, F. R. P. A Spot Test for Iodine Value Determination in Biodiesel Based on Digital Images Exploiting a Smartphone. *Microchemical Journal* 2017, 133, 195. [CrossRef]
 Soares, S.; Nunes, L. C.; Mattos, W. M.; Rocha, F. R. P. Spot test exploiting smartphone-based digital images for determination of biodiesel in diesel blends. *Microchemical Journal* 2020, 152,

1. [CrossRef]



- Nogueira, S. A.; Sousa, L. R.; Silva, N. K. L.; Rodrigues, P. H. F.; Coltro, W.K. T. Monitoring Acid—Base Titrations on Wax Printed. Paper Microzones Using a Smartphone. *Micromachines* 2017, 8, 139. [CrossRef]
 Böck, F.C.; Helfer, G. A.; Costa, A.B.; Dessuy, M. B.; Ferrão, M. F. Rapid Determination of Ethanol in Sugarcane Spirit Using Partial Least Squares Regression Embedded in Smartphone. *Food Analytical Methods* 2018, 11, 1951. [CrossRef]
 Baumann, L.; Librelotto, M.; Pappis, C.; Santos, R. B.; Santos, R. O.; Helfer, G. A.; Lobo, E. A.; Costa, A. B. Uso do aplicativo PhotoMetrix no monitoramento da concentração de flúor em sistemas alternativos de abastecimento de água. Águas Subterrâneas 2019, 2, 1. [CrossRef]
- ²⁹ Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008 Rev.05 – Orientação sobre validação de métodos analíticos – agosto, 2016. [Link]
- ³⁰ Ribeiro, F. A. L.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; Silva, L. R.; Schneider, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar Figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova* **2008**, *31*, 164. [CrossRef]
- ³¹ Ministério da Saúde. Portaria nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. [Link]