



Estudos de Caso e Notas

Alerta: Os artigos publicados nesta seção não são avaliados por pares e não são indexados. A intenção da seção ECNT é prover um espaço para divulgação de dados e estudos de interesse local, sem caráter científico. Sendo assim, a Revista Águas Subterrâneas não se responsabiliza pelo conteúdo publicado.

Disclaimer: Articles published in this section are not peer-reviewed and are not indexed. The intention of the ECNT section is to provide a space for the dissemination of data and studies of local interest, with no scientific character. Therefore, Revista Águas Subterrâneas is not responsible for this content.

Uso do aplicativo PhotoMetrix no monitoramento da concentração de flúor em sistemas alternativos de abastecimento de água

Use of the PhotoMetrix app in the monitoring of fluoride concentration in alternative water supply systems

Luiza Baumann¹; Marcia Librelotto¹; Cristiane Pappis¹; Ronaldo Bastos dos Santos¹; Roberta Oliveira Santos¹; Gilson Augusto Helfer¹; Eduardo Alexis Lobo¹; Adilson Ben da Costa¹✉

¹Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Santa Cruz do Sul, RS

✉ luiza.baumann@gmail.com, marcialibrelotto@mx2.unisc.br, cristianepappis@mx2.unisc.br, rbastos@mx2.unisc.br, rosantos@unisc.br, ghelfer@unisc.br, lobo@unisc.br, adilson@unisc.br

Resumo

A ingestão frequente de água contendo concentração de flúor acima do limite estabelecido pela legislação brasileira causa uma doença chamada fluorose dentária. Atualmente, o monitoramento do nível de flúor na água para consumo humano é realizado utilizando métodos potenciométricos, cromatográficos ou colorimétricos, que são relativamente caros e utilizam equipamentos de difícil deslocamento para análises de campo. Portanto, surge a necessidade de desenvolver métodos alternativos, visando rapidez, praticidade, mobilidade e redução do custo das análises. O aplicativo para smartphone PhotoMetrix® é um software livre de análise de imagens digitais utilizando modelos matemáticos univariados e multivariados. A captura de imagens pode ser feita através do próprio smartphone ou com uma câmera USB externa. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso do PhotoMetrix® no monitoramento da concentração de flúor em águas de abastecimento. Dois métodos de referência foram utilizados para comparação dos resultados: o método espectrofotométrico e o eletrodo de íon seletivos. Os resultados indicaram concordância entre os métodos, mostrando um coeficiente de determinação (R^2) de 0,995 e erro de predição RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) de aproximadamente 0,05 mg L⁻¹. Então, o PhotoMetrix® é um método satisfatório para a determinação de flúor, podendo se tornar uma alternativa viável para o monitoramento da qualidade da água, especialmente para sistemas alternativos de abastecimento.

Abstract

Frequent ingestion of water containing fluoride concentration above the limit established by Brazilian legislation causes an illness called dental fluorosis. Currently, water fluoride level monitoring for human consumption is performed using potentiometric, chromatographic or colorimetric methods, which are relatively expensive and uses equipment difficult to displace. Therefore, the need for developing alternative methods arises, aiming at speed, practicality and reduction of analyzes cost. The smartphone application PhotoMetrix® is a free tool that captures and analyzes digital images through univariate and multivariate mathematical models. Capturing images can be done through the smartphone's own or through an external USB camera. Thus, this research aimed at evaluating the PhotoMetrix® use to monitoring the fluoride concentration in water supply. Two reference methods were used for comparison: the spectrophotometric method and selective ion electrode. The results indicated agreement between methods, showing a determination coefficient (R^2) of 0.995 and prediction errors RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) about of 0.05 mg L⁻¹. Then, PhotoMetrix® is a satisfactory method for fluoride determination, becoming a viable alternative for monitoring water quality, especially for alternative water supply systems.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14295/ras.v33i2.29539>

Palavras-chave:

Águas de abastecimento.
Determinação de flúor.
Aplicativo.
Smartphone.

Keywords

Water supply.
Determination of fluoride.
App.
Smartphone.

1. INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define água potável como aquela que apresenta condições adequadas para o consumo, com parâmetros microbiológicos, físicos e químicos que atendam aos padrões de potabilidade, sem oferecer riscos à saúde (BRASIL, 2004; BRASIL, 2011). Porém, no Brasil, muitas cidades ainda utilizam água proveniente de poços e fontes naturais, as quais muitas vezes, podem não apresentar as condições adequadas para o consumo.

Diversos fatores devem ser observados durante o tratamento das águas de abastecimento, entre eles pode-se citar a quantidade de flúor. De acordo com a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), o limite máximo permitido para a quantidade de flúor, é de 1,5 mg L⁻¹. Quando em concentrações adequadas, o flúor contribui para a calcificação do esmalte e é um importante inibidor da cárie dentária (LIMA *et al.*, 2014; PETERSEN, 2016; SHARMA *et al.*, 2017). No entanto, a ingestão de água com níveis acima do permitido, causa um distúrbio chamado de fluorose dental, originada por exposições excessivas ao fluoreto, levando a mineralização defeituosa do esmalte (CANGUSSU *et al.*, 2002; ZOU E ASHLEY, 2014; FUGE, 2019).

Atualmente, as determinações de flúor são realizadas por métodos eletroquímicos, colorimétricos ou cromatográficos, que utilizam equipamentos relativamente caros e de difícil mobilidade. O método eletroquímico para determinação de flúor utiliza um eletrodo de íons seletivos, constituído de uma membrana de fluoreto de lantânio (NARDIN, 2016). O método colorimétrico, denominado SPADNS, fundamenta-se na reação entre os íons fluoreto e um reagente que contém átomos de zircônio, formando um complexo incolor [ZrF₆]²⁻. Com o aumento da concentração de flúor ocorre uma diminuição da intensidade de cor vermelha da solução contendo ZnOCl₂ (reagente de SPADNS). Já a cromatografia de íons é outra alternativa, caracterizada por ser uma técnica seletiva e sensível na separação e quantificação de espécies iônicas, fornecendo uma medida rápida e sequencial, eliminando a necessidade de utilizar reagentes perigosos (APHA, 2005).

Apesar de consagradas, estas metodologias apresentam baixa mobilidade, utilizam grandes quantidades de reagentes químicos e necessitam de equipamentos caros e profissionais especializados. Em vista disso, objetivando maior rapidez, mobilidade e economia nas análises, softwares de análise colorimétrica vêm sendo desenvolvidos. Estudos realizados por Levin *et al.* (2016), apresentam o desenvolvimento de um programa de software para ser usado com o smartphone no monitoramento de flúor em amostras de água, que grava e analisa a cor RGB da imagem. Em seus resultados, obtiveram uma boa correlação entre os métodos utilizados, com coeficientes de determinação (R²) superiores a 0,999, comprovando assim, a sua eficiência.

Os avanços em novas tecnologias de aquisição e processamento de imagens vêm chamando a atenção da comunidade científica, principalmente devido à comprovação da eficácia dos seus resultados frente a equipamentos colorimétricos tradicionais. Em análises onde há modificação de cor mediante uma reação, é possível capturar e processar essas imagens, resultando em uma análise mais rápida, com menor custo e sem a necessidade de equipamentos robustos e sofisticados, como espectrofotômetros e colorímetros (HELFER *et al.*, 2017).

Dentre algumas aplicações de análises por imagens digitais, pode-se citar a classificação do tipo de solo (HAN *et al.*, 2016), determinação de fósforo em solo (MOONRUNGSEE *et al.*, 2015), determinação de cromo e ferro (FIRDAUS *et al.*, 2014), determinação de antibióticos de tetraciclina em leite bovino (URAPEN E MASAWAT, 2015), interpretação da estabilidade térmica do leite cru através do teste de Alizarol (HELFER *et al.*, 2018), determinação de iodo em biodiesel (SOARES *et al.*, 2017), entre outras.

Segundo Gonzalez (2010) e Tan e Jiang (2019), uma imagem digital pode ser definida como uma função bidimensional da intensidade da luz refletida ou emitida por um espaço, sendo composta por um número finito de elementos, chamados de pixel. Dessa forma, há uma distribuição de energia, onde parte dessa energia é absorvida, parte transmitida e outra parte refletida, sendo capturada por um dispositivo (HELFER *et al.*, 2017). Um dos modelos de cores mais conhecidos e utilizados é o RGB. Para a geração de uma cor, o modelo usa três canais: vermelho (R), verde (G) e azul (B). Cada canal possui um valor que varia de 0 a 255. Assim, cada cor possuirá um valor de R, um valor de G e um valor de B (ABDOLMALEKY *et al.*, 2017).

Nesse contexto, o grupo de pesquisa em Quimiometria da UNISC desenvolveu um aplicativo para smartphone denominado de PhotoMetrix (HELFER *et al.*, 2017) que captura e analisa imagens digitais através de modelos matemáticos univariados e multivariados, como análise de componentes principais (PCA, do inglês, *Principal Component Analysis*), análise de agrupamento hierárquico (HCA, do inglês, *Hierarchical Cluster Analysis*) e regressão pelo método dos quadrados mínimos parciais (PLS, do inglês, *Partial Least Squares*).

As imagens podem ser capturadas através da câmera do próprio dispositivo (PhotoMetrix PRO), ou através de uma câmera USB conectada ao smartphone (PhotoMetrix UVC), resultando em uma análise versátil, acessível e rápida. O aplicativo está disponível gratuitamente na Google Play (Android) ou App Store (IOS). Assim, o presente estudo objetivou verificar a viabilidade da utilização do aplicativo PhotoMetrix na análise de flúor em águas tratadas e em águas subterrâneas proveniente de poço artesiano, especialmente útil para o monitoramento de sistemas alternativos de abastecimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Foram utilizadas amostras de água provenientes de três fontes de abastecimento, descritas a seguir:

1. Fonte 1 (água natural): água de poço tubular profundo do sistema alternativo de abastecimento da Universidade de Santa Cruz do Sul.
2. Fonte 2 (água filtrada): água de poço tubular profundo, filtrada em carvão ativado de osso, do sistema alternativo de abastecimento da Universidade de Santa Cruz do Sul.
3. Fonte 3 (água tratada): água do sistema público de abastecimento, controlado pela Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN).

2.2 Determinação de flúor

A determinação de flúor foi realizada através do método colorimétrico de SPADNS (APHA, 2005). Os reagentes utilizados foram o SPADNS ((4,5-dihidroxi-3-[(o-sulfofenil)azol]-2,7-ácido naftalenosulfônico), oxicloreto de zircônio octahidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$), ácido clorídrico concentrado e fluoreto de sódio. De acordo com o procedimento descrito em APHA (2005), foi preparada uma curva de calibração com diferentes concentrações de flúor que variaram entre 0 mg L^{-1} a 2 mg L^{-1} . As soluções padrão de fluoretos foram preparadas a partir de uma solução estoque de 100 mg L^{-1} . O preparo da solução reagente SPADNS-zircônia consistiu em três etapas:

- a) Preparo da solução de SPADNS, onde 958 mg do reagente foram transferidos para um balão volumétrico de 500 mL e completado com água deionizada;
- b) Preparo da solução de oxicloreto de zircônio, onde 133 mg do reagente foi adicionado a um balão volumétrico de 500 mL, que já continha 25 mL de água deionizada e 350 mL de ácido clorídrico concentrado e se aferiu com água deionizada; e
- c) Preparo da solução de SPADNS-zircônia, pela mistura de volumes iguais de ambas as soluções a e b.

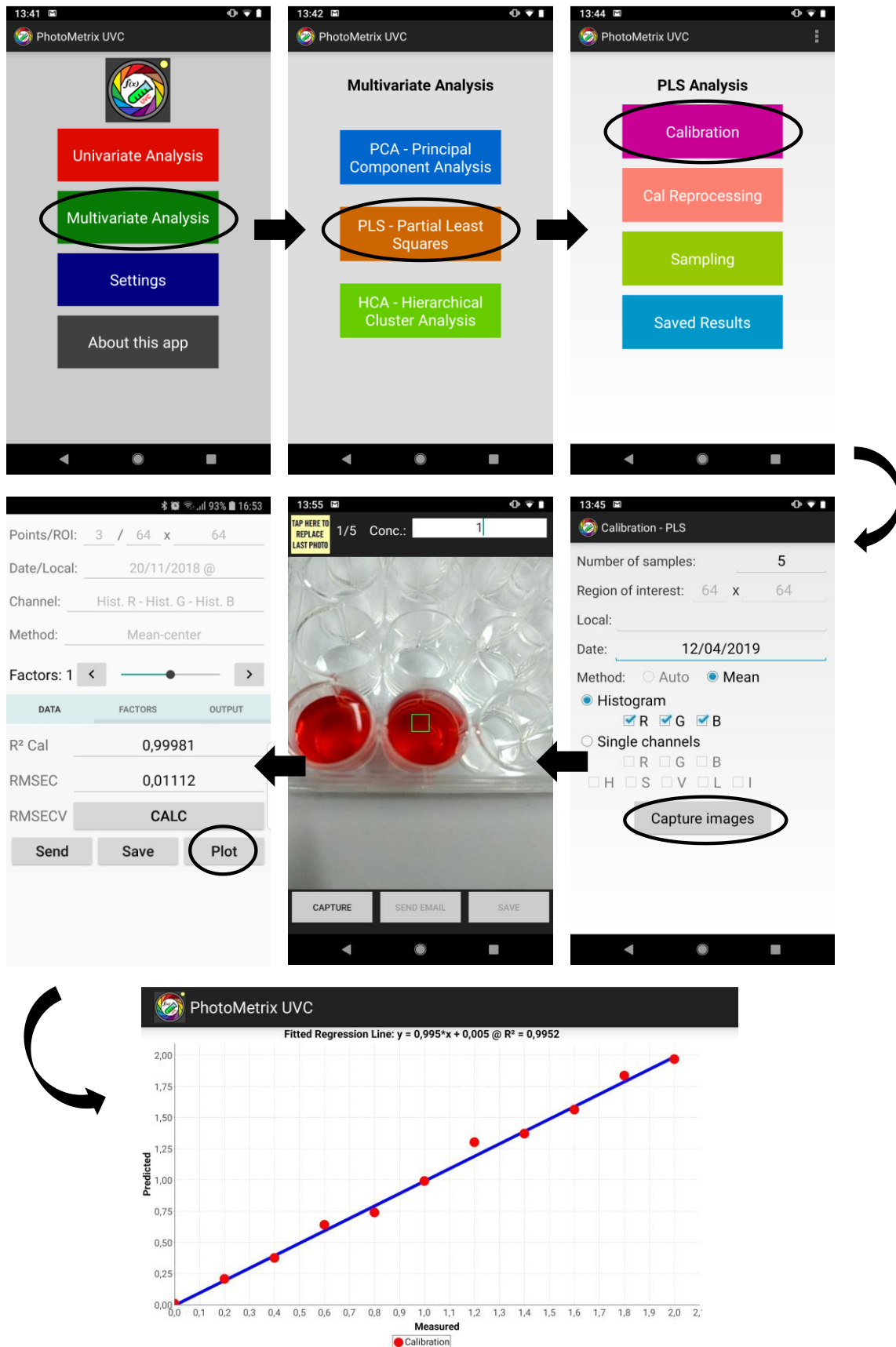
A reação ocorreu com a adição de 1 mL de solução SPADNS-zircônia em 5 mL de curva de calibração e das amostras para análise. As amostras foram lidas em espectrofotômetro UV-VIS, modelo FEMTO 600 plus, no comprimento de onda de 580 nm.

A concentração de flúor nas amostras foi, também, determinada pelo método potenciométrico, utilizando um potenciômetro METTLER TOLEDO, modelo SevemCompact™ pH/Ion S220, com eletrodo de íon seletivo para flúor com tecnologia PerfectION™, onde também foi construída uma curva de calibração do equipamento. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

2.3 Obtenção e processamento de imagens pelo aplicativo PhotoMetrix

O aplicativo PhotoMetrix foi instalado nas suas duas versões (PRO e UVC) em um smartphone LG (modelo Nexus 5) com sistema operacional Android e versão 6.0.1. Após a reação colorimétrica, que ocorreu em microplaca de poliestireno com 24 poços descartáveis e cubetas de vidro, as amostras foram fotografadas e processadas pelo aplicativo PhotoMetrix. A Figura 1 demonstra a interface para a aquisição de imagens e a execução do modelo de calibração PLS.

Figura 1 – Interface do aplicativo PhotoMetrix PRO e UVC para o modelo de calibração PLS.



Na versão PRO, as imagens foram capturadas pela câmera do próprio dispositivo (Figura 2).

Figura 2 – Aquisição de imagens utilizando o PhotoMetrix PRO.



Para maior controle das condições ambientais como iluminação e distância da amostra, foi desenvolvido um protótipo (Figura 3) para adaptar a câmera externa USB (versão UVC). No desenvolvimento do protótipo foi utilizado um software de desenho 3D (SolidWorks, versão office premium 2008, Estados Unidos) e os componentes foram impressos utilizando uma impressora 3D (Cliever, CL2 Pro+, Brasil) para reproduzir o modelo criado no software.

O protótipo se diferencia pela possibilidade de utilizar cubetas de diferentes tamanhos, aumentando o caminho óptico.

Figura 3 – Protótipo para aquisição de imagens com três cubetas (10, 20 e 50 mm).

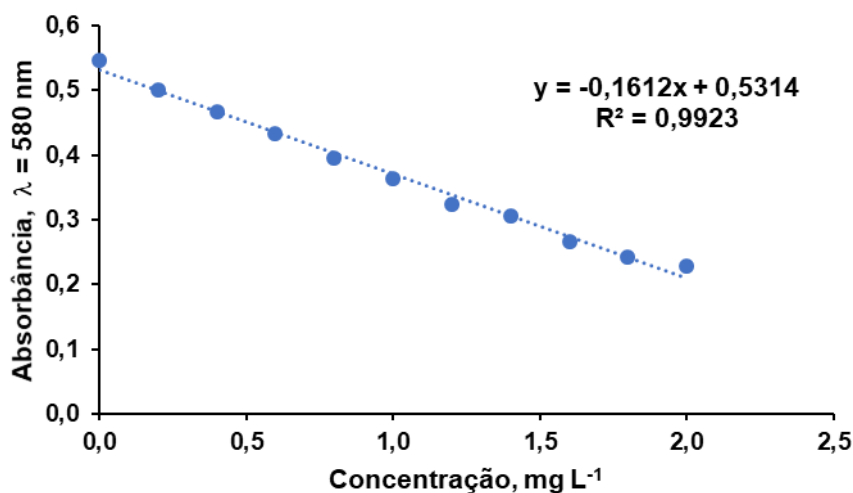


Para análise colorimétrica, as mesmas soluções preparadas para análise de flúor em espectrofotômetro foram utilizadas para a análise pelo aplicativo PhotoMetrix. As imagens foram capturadas pela câmera do próprio dispositivo e pela câmera USB externa utilizando cubetas de 10 mm e 20 mm. Todas as imagens foram submetidas a análise multivariada PLS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 4 pode-se observar a curva analítica obtida pelo método de SPADNS, utilizando o espectrofotômetro em 580 nm.

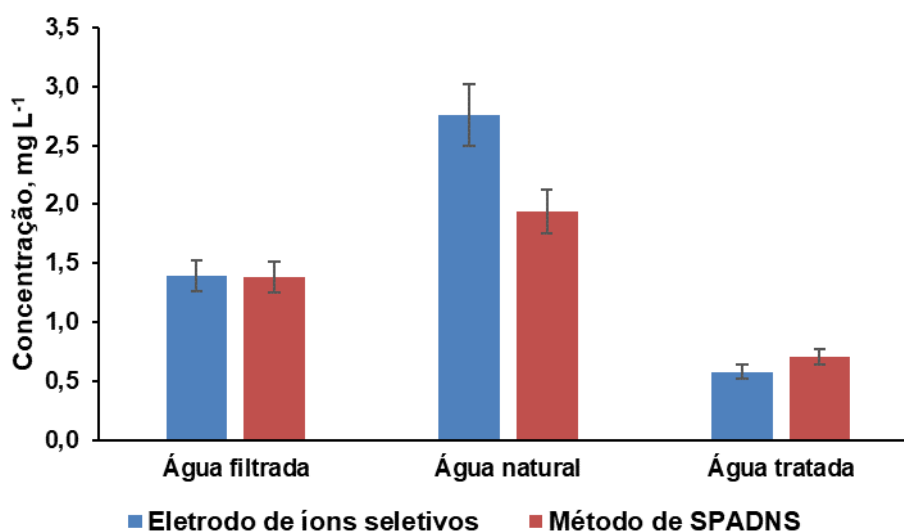
Figura 4 – Curva de calibração do método SPADNS obtida através do espectrofotômetro UV-VIS.



Apesar da descrição do método de SPADNS sugerir uma curva de calibração com concentrações que variam de 0 a 1,2 mg L⁻¹ (APHA, 2005), foi possível obter uma boa correlação, utilizando pontos que variam de 0 a 2 mg L⁻¹, resultando em um R² de calibração igual a 0,9923.

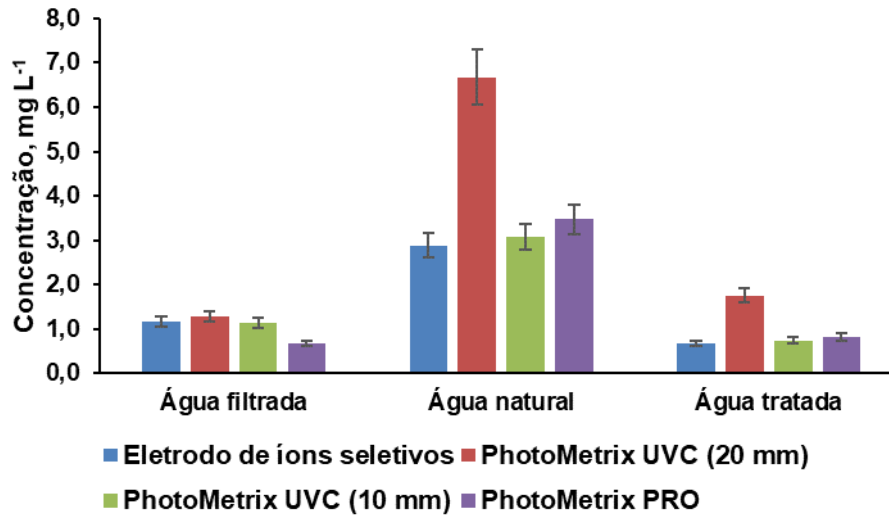
A Figura 5 apresenta os resultados de concentração de flúor obtidos através do método de referência (eletrodo de íons seletivos) e o método de SPADNS. Nota-se que para amostras com baixa concentração, o método SPADNS mostrou resultados semelhante ao método eletroquímico. Contudo, em altas concentrações de flúor o método não foi eficiente, devido a intensidade da cor formada. Conforme a metodologia de SPADNS (APHA, 2005), a faixa linear se estende até 1,2 mg L⁻¹, apesar da curva de calibração ter apresentado uma boa correlação até uma concentração de 2 mg L⁻¹, pode ter prejudicado a análise. Esse resultado demonstra que o método colorimétrico apresenta limitações para amostras com concentrações elevadas de flúor.

Figura 5 – Concentração de flúor pelos métodos do íon seletivo e espectrofotômetro. Média e desvio padrão estão indicados (n=3).



As imagens capturadas pelo aplicativo PhotoMetrix foram processadas gerando um modelo de regressão linear PLS, que por sua vez gerou os valores de predição referente a concentração de flúor presentes nas amostras de água (Figura 6).

Figura 6 – Concentração de flúor em águas pelo método do íon seletivo e aplicativo PhotoMetrix PRO e PhotoMetrix UVC utilizando cubetas de 10 e 20 mm. Média e desvio padrão estão indicados (n=3).



Comparando os métodos de aquisição de imagens, observa-se que a utilização da câmera USB, associada ao protótipo com a cubeta de 10 mm foi o que forneceu resultados de concentração de flúor mais semelhantes ao método de referência. Em contrapartida, a cubeta de maior caminho óptico (20 mm) foi a que mais diferiu. Isso pode ter ocorrido devido as amostras possuírem coloração intensa, limitando a identificação pela saturação da cor. Esses resultados são dependentes da Lei de Lambert Beer, a qual é bem sucedida ao descrever o comportamento da absorção de meios contendo baixas concentrações de analito, ou seja, a intensidade da radiação transmitida decresce quando a concentração aumenta (HOLLER *et al.*, 2009).

Os modelos de calibração e respectivos erros dos três modos de aquisição de imagens (PhotoMetrix UVC com cubetas de 10 mm e 20 mm e PhotoMetrix PRO) são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados obtidos através do aplicativo PhotoMetrix para determinação de flúor em amostras de água.

Obtenção das Imagens	Photometrix UVC (Câmera USB)		Photometrix PRO
	Protótipo com cubeta 10 mm	Protótipo com cubeta 20 mm	
Nº de fatores	5	5	5
Regressão Linear	$y = 0,995 \cdot x + 0,005$	$y = 0,990 \cdot x + 0,010$	$y = 0,999 \cdot x + 0,001$
R ² Cal	0,9952	0,9898	0,9991
RMSEC	0,04	0,06	0,02
RMSECV	0,72	0,66	0,88
R ² Pred	0,9998	0,9903	0,0348
RMSEP	0,05	0,83	0,23

Comparando os erros de predição (RMSEP) dos três experimentos, observa-se novamente que a cubeta de 10 mm foi a que obteve os melhores resultados. Para isso foram utilizados 5 fatores, sendo que o número ótimo de fatores é aquele que irá produzir o menor valor de RMSEP (FERREIRA, 2015). Na análise utilizando a versão PRO também foi possível obter um resultado satisfatório, contudo, por tratar-se de uma curva de calibração com cores altamente concentradas, o uso do protótipo pode fornecer resultados mais reprodutíveis uma vez que controla os interferentes ambientais.

A diferença entre resultados obtidos com as versões UVC e PRO, ocorreu devido as diferenças entre os modelos e os fabricantes dos smartphones ao utilizar a versão PRO, assim é desejável a construção de um dispositivo onde consiga-se padronizar as condições da câmera, iluminação e qualidade de captura de imagem.

4. CONCLUSÕES

A utilização do PhotoMetrix para análise de flúor mostrou-se satisfatória, uma vez que conseguiu-se determinar a quantidade de flúor com pouca diferença dos métodos tradicionais e baixos índices de erros, demonstrando ser uma ferramenta rápida e acessível. O volume de amostra e a forma de obtenção das imagens também demonstrou ser de grande importância na exatidão dos resultados. As imagens obtidas através da câmera USB acoplada ao protótipo com cubeta de 10 mm de caminho óptico apresentou melhores resultados quando comparados com aquelas obtidas utilizando a cubeta de caminho óptico maior (20 mm). Os resultados também foram melhores do que aqueles obtidos na versão PRO do aplicativo, apenas a câmera do smartphone. Conclui-se, portanto, que a forma mais adequada de obtenção das imagens vai depender da intensidade da cor formada na reação colorimétrica. Acredita-se que o uso de diferentes cami-

nhos ópticos permitirá analisar diferentes concentrações de amostras, onde os maiores favorecerão análises com baixas concentrações do analito, enquanto os menores favorecerão os de maior concentração.

REFERÊNCIAS

- ABDOLMALEKY, M. et al. Red-Green-Blue multi-channel quantum representation of digital images. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, v. 128, p. 121-132, 2017. ISSN 0030-4026. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030402616311500>>.
- APHA. American Public Health Association. *Standard Methods: for the examination of water and wastewater*. 21 2005.
- BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde. *Diário Oficial* nº 59 de 26 de março de 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. *Diário Oficial União*, Brasília, v. 239, 39-46, 14 dez. 2011, Seção 1.
- CANGUSSU, M. C. T. et al. *A fluorose dentária no Brasil: uma revisão crítica*. 2002.
- FERREIRA, Márcia Miguel Castro. *Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações*. Campinas: Ed. da UNICAMP, 2015. 493 p.
- FIRDAUS, M. L. et al. Determination of Chromium and Iron Using Digital Image-based Colorimetry. *Procedia Environmental Sciences*, v. 20, p. 298-304, 2014. ISSN 1878-0296. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878029614000383>>.
- FUGE, R. Fluorine in the environment, a review of its sources and geochemistry. *Applied Geochemistry*, v. 100, p. 393-406, 2019. ISSN 0883-2927. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0883292718303676>>.
- GONZALEZ, R.C.; WOODS, R.E. *Processamento digital de imagens*. 3. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010.
- HAN, P. et al. A smartphone-based soil color sensor: For soil type classification. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 123, p. 232-241, 2016. ISSN 0168-1699. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169916300618>>.
- HELFER, G. A. et al. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 28, p. 328-335, 2017. ISSN 0103-5053. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532017000200328&nrm=iso>.
- _____. A New Tool for Interpretation of Thermal Stability of Raw Milk by Means of the Alizarol Test Using a PLS Model on a Mobile Device. *Food Analytical Methods*, v. 11, n. 7, p. 2022-2028, 2018. ISSN 1936-9751.
- HOLLER, F. James; SKOOG, Douglas A.; CROUCH, Stanley R. *Princípios de análise instrumental*. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
- LEVIN, S. et al. Monitoring of fluoride in water samples using a smartphone. *Science of The Total Environment*, v. 551-552, p. 101-107, 2016. ISSN 0048-9697. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716301553>>.
- LIMA, L. M. S. et al. Impact of dental fluorosis on the quality of life of children and adolescents. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 43, n. 5, p. 7, 2014.
- MOONRUNGSEE, N.; PENCHAREE, S.; JAKMUNEE, J. Colorimetric analyzer based on mobile phone camera for determination of available phosphorus in soil. *Talanta*, v. 136, p. 204-209, 2015. ISSN 0039-9140. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914015000521>>.
- NARDIN, B. M. Estudo comparativo de diferentes metodologias analíticas para a determinação de fluoreto, 2016.
- PETERSEN, Poul Erik; OGAWA, Hiroshi. Prevention of dental caries through the use of fluoride—the WHO approach. *Community Dent Health*, v. 33, n. 2, p. 66-68, 2016.
- SHARMA, D. et al. Fluoride: A review of pre-clinical and clinical studies. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 56, p. 297-313, 2017. ISSN 1382-6689. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668917302946>>.
- 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*, v. 133, p. 195-199, 2017. ISSN 0026-265X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X16306051>>.

TAN, L.; JIANG, J. Chapter 13 - Image Processing Basics. In: TAN, L. e JIANG, J. (Ed.). *Digital Signal Processing (Third Edition)*: Academic Press, 2019. p.649-726.

URAPEN, R.; MASAWAT, P. Novel method for the determination of tetracycline antibiotics in bovine milk based on digital-image-based colorimetry. *International Dairy Journal*, v. 44, p. 1-5, 2015. ISSN 0958-6946. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694614002519>>.

ZOU, J.; ASHLEY, J. W. Fluorosis A2 - McManus, Linda M. In: MITCHELL, R. N. (Ed.). *Pathobiology of Human Disease*. San Diego: Academic Press, 2014. p.893-898. ISBN 978-0-12-386457-4.