

CAPÍTULO 21

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE *MICONIA ALBICANS(SW.)TRIANA*

Bianca Ferreira Borges
Alana da Conceição Brito Coelho
Márcia Cristine Santos Macedo
Thiago Yuri Freire Ferreira
Thiago de Moraes Chaves
Alamgir Khan
Raquel Maria Trindade Fernandes

RESUMO

Desde os tempos mais remotos o ser humano vem fazendo uso de plantas medicinais para cura de seus males espirituais e físicos. Porém, o uso dessas plantas era feito de maneira empírica onde o conhecimento foi sendo construindo de maneira experimental e observada, passando de pais para filhos. Contudo, estudos científicos tornaram seu consumo ainda mais popular e os tratamentos a base de plantas medicinais vêm se tornando cada vez mais comum. E para que os constituintes químicos de um vegetal possa ser registrado, é necessário a realização de testes que comprovam a ausência ou presença de composto com atividades biológicas benéficas ou malélicas ao homem. O presente trabalho buscou avaliar a atividade antioxidante dos extratos vegetais da espécie *Miconia albicans (sw.) Triana*, popularmente conhecida como Canela de velho, onde durante esse procedimento foram identificados fenóis e taninos através de testes fitoquímicos; a avaliação da atividade antioxidante através do decréscimo da concentração inicial de DPPH em 50%, CE50, variou de $49,76 \pm 8,26 \mu\text{g/mL}$. Considerando que substâncias naturais podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra os riscos de muitos processos patológicos, os resultados descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos para avaliar a ação antioxidante dos extratos vegetais da espécie *Miconia albicans (sw.) Triana*.

PALAVRAS-CHAVE: *Miconia albicans (Sw.) Triana*. Avaliação Antioxidante. Produtos Naturais.

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, a natureza tem se mostrado uma grande fonte de matéria prima para suprir as necessidades das atividades humanas. Buscando melhorar a sua qualidade de vida o homem encontrou nas plantas um meio de aliviar seus males relacionados à saúde. Historicamente o uso de plantas medicinais remonta a eras pré-históricas e a convivência do homem com estas é antropológica (BUENO; MARTÍNEZ; BUENO, 2016). O resultado desse processo é que muitos povos passaram a dominar o conhecimento do uso de plantas e ervas medicinais (FERREIRA; PINTO, 2010).

Conforme relatado por Yunis e Filho (2016), o maior registro da utilização de plantas com fins medicinais data de 1500 a.C, conhecido como EbersPapyrus (Papiros de Eberes), onde estão documentados cerca de 700 fármacos. A maioria dessas descobertas se deu de eventuais

situações, onde ao fazer uso de uma determinada planta o ser humano apresentou melhoras, ou como em alguns casos foram levados a óbito.

Na história do Brasil, há registros de que os primeiros médicos portugueses que vieram para cá, diante da escassez na colônia de remédios empregados na Europa, muito cedo foram obrigados a perceber a importância dos remédios de origem vegetal utilizados pelos povos indígenas (BRASIL, 2012). Com o passar dos anos essa prática, tornou-se uma tradição, na qual seus conhecimentos eram passados de geração em geração. Segundo Bruning e colaboradores (2011), o uso de plantas medicinais fazem parte da prática da medicina popular, constituindo um conjunto de saberes internalizados nos diversos usuários e praticantes, especialmente pela tradição oral (BRUNING *et al.*, 2011).

O uso de plantas medicinais, também chamado de fitoterapia, contribuiu significativamente para a descoberta de vários fármacos empregados na produção de medicamentos sintéticos. Estima-se que pelo menos 25 % de todos os medicamentos modernos são derivados diretamente ou indiretamente de plantas medicinais, principalmente por meio da aplicação de tecnologias modernas ao conhecimento tradicional (BRASIL, 2012).

No Brasil, a prática do uso de fitoterápicos tem crescido significativamente. Um dos grandes fatores que contribuíram para esse crescimento é a rica biodiversidade brasileira. O Brasil possui a maior cobertura de florestas tropicais do planeta. Segundo o Ministério do Meio Ambiente sua biodiversidade possui entre 15 e 20 % das 1,5 milhão de espécies descritas na Terra.

A fitoquímica é uma das áreas mais importantes para a descoberta de novos fármacos. Segundo Yunis e Filho (2016), a fitoquímica desenvolvida no Brasil é uma área de pesquisa consolidada, em sintonia com os últimos avanços do estado da arte da química orgânica e analítica, e abriga atualmente mais de 400 líderes de pesquisa em todo o país. Arelada ao conhecimento tradicional a pesquisa científica, tem se tornado promissora na descoberta de novas substâncias com características anti-inflamatória, antifúngica, antimicrobiana, antineoplásica, antibacteriana, entre outras. Mediante a isso, várias fontes de produtos naturais têm sido amplamente estudadas, principalmente as fontes de origem vegetal (YUNIS; FILHO, 2016).

A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas, entretanto, o reino vegetal é responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura (BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Plantas são usinas químicas capazes de produzir uma infinidade de substâncias para a sua defesa e proteção. Essas substâncias são produzidas por uma série de reações químicas, que constitui o metabolismo da planta.

As substâncias produzidas durante o processo metabólico estão classificadas em dois grupos: os metabólitos primários e os metabólitos secundários. Os compostos do primeiro grupo são estudados, principalmente, no âmbito da bioquímica e os últimos no âmbito do que se convencionou denominar química de produtos naturais (MATOS, 2009).

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (SOARES, 2002).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (CHUN *et al.*, 2005).

A utilização de produtos naturais ainda é utilizada com frequência por uma parcela significativa da população mundial. Segundo a Organização Mundial da Saúde cerca de 80 % da população faz uso de práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85 % destes utilizam plantas ou preparações destas. Dentre as mais variadas espécies de plantas utilizadas pela população, pode-se citar a *Miconia albicans*, conhecida popularmente como canela de velho.

O gênero *Miconia* é considerado o mais representativo da família Melastomataceae e conta com aproximadamente 1000 espécies, distribuídas ao longo da América tropical (OLIVEIRA, 2010). Segundo Martins e colaboradores (1996), no Brasil estão representadas cerca de 250 espécies. A *Miconia albicans* especificamente é uma espécie encontrada em países como México e Paraguai. No Brasil é encontrada desde o estado do Amazonas ao estado do

Paraná (SILVA, 2007). Com base no conhecimento popular a *Miconia albicans*, ganha destaque principalmente por seu efeito anti-inflamatório e relaxante muscular.

Mediante a busca por novos fármacos e o conhecimento da constituição química das plantas utilizada pela medicina tradicional, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante dos extratos vegetais da espécie *Miconia albicans* (sw.) Triana.

2. METODOLOGIA

2.1 Levantamento Bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado através de pesquisa em bases de dados como SCIELO, LILACS e PUBMED, com intuito de elaborar um quadro de informações de trabalhos científicos que tiveram como resultados as classes de metabólitos secundários identificados na espécie vegetal *M. albicans* (Sw.) Triana, além de registros de sua ação antioxidante.

2.2 Material Vegetal

As folhas de *M. albicans* (Sw.) Triana foram coletadas no município de Vargem Grande – MA. Foram colhidas três amostras do material vegetal em períodos diferentes onde a amostra 1 fora colhida no mês de outubro, período de estiagem, e as amostras 2 e 3 no mês de março sendo do período chuvoso. Após coleta realizou-se a exsiccata, a qual foi depositada no Herbário Flavia Mochel, da Universidade Estadual do Maranhão, com identificação botânica.

2.3 Preparo dos Extratos

O material vegetal foi seco à temperatura ambiente e triturado. Preparou-se o extrato por método de maceração com solução etanoica (70%) à temperatura ambiente por 9 dias na proporção de 1:15. O extrato hidroalcoólico bruto foi concentrado a um terço do volume inicial, em chapa aquecedora entre temperaturas de 70 a 80°C para evaporação do álcool. Esse material foi submetido ao fracionamento por extração sequencial com solventes de polaridade crescente: ciclohexano, acetato de etila e diclorometano. As frações obtidas, inclusive a aquosa remanescente e a hidroalcoólica, foram avaliadas por meio da triagem fitoquímica.

2.4 Atividade Antioxidante

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras de extrato etanólico foi feita por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin–Ciocalteu com modificações. O extrato etanólico (100 mg) foi dissolvido em metanol, transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e o volume final completado com metanol. Uma alíquota de 7,5 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de

50 mL e seu volume aferido com metanol. Uma alíquota de 100 µL desta última solução foi agitada com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada por 1 min; após este tempo, 2 mL de Na₂CO₃ a 15 % foram adicionados à mistura e agitada por 30 s. Finalmente, a solução teve seu volume acertado para 10 mL com água destilada. Após 2 h, a absorbância das amostras foi medida a 750 nm utilizando-se cubetas de vidro, tendo como “branco” o metanol e todos os reagentes, menos o extrato. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4.1. Análise Qualitativa da Atividade Antioxidante

Os extratos foram analisados por CCD usando rutina como padrão positivo de comparação. As placas foram eluídas em CHCl₃/ MeOH (9:1) e CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5) e, após secagem, nebulizadas com solução a 0,4 mmol/L do radical DPPH em MeOH. As placas foram observadas até o aparecimento de manchas amarelas sob fundo de coloração púrpura, indicativo de possível atividade antioxidante.

2.4.2. Análise Quantitativa da Atividade Antioxidante

A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi feita seguindo metodologia descrita na literatura, com pequenas modificações, monitorando-se o consumo do radical livre DPPH pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorbância de soluções de diferentes concentrações. Estas medidas foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda 516 nm, tendo como controle positivo rutina e ácido gálico.

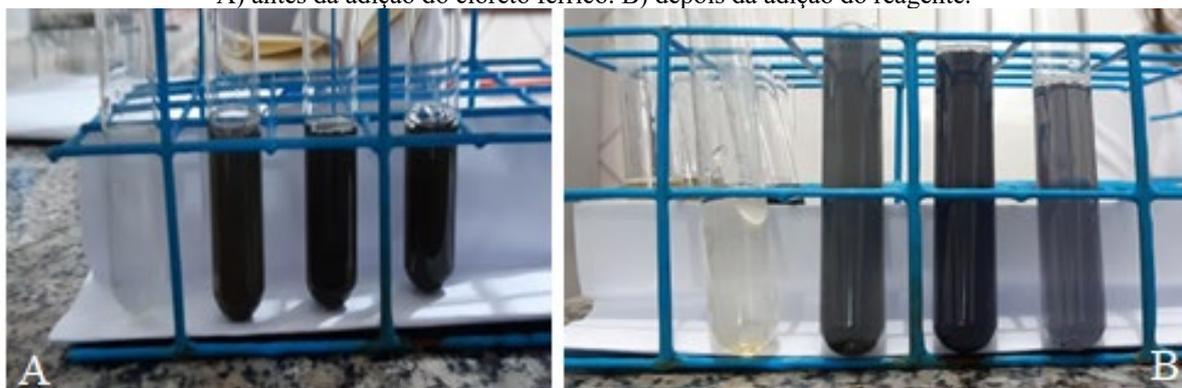
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A canela de velho foi identificada pelo herbário Rosa Mochel como *M. albicans*(Sw.)Triana com registro botânico de numeração SLUI 5437 e apresentou o teor extrativo de 10 % para o extrato A; 8 % para o extrato B e 9 % para o extrato C.

3.1 Teste Fotoquímico para presença de Fenóis e Taninos

Inicialmente, foi realizado o teste para fenóis (FeCl₃), onde foi observada coloração azul intensa indicando a presença do metabólito no extrato bruto (Figura 1).

Figura 1: Resultado para o teste de fenóis nos extratos bruto A, B e C, respectivamente. A) antes da adição do cloreto férrico. B) depois da adição do reagente.



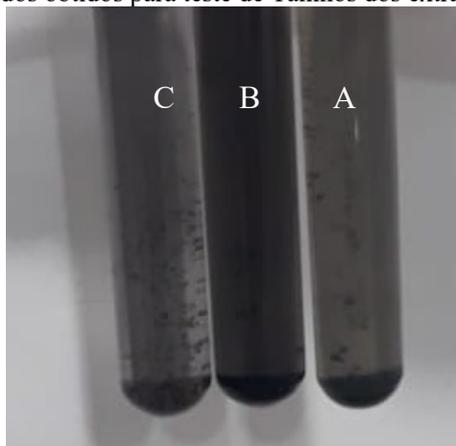
Fonte: Autoria própria (2023).

Os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante impedindo a formação de radicais livres ou retardando o processo de oxidação em seres vivos por conta de sua ação redutora. Estes apresentam importante relação na prevenção de doenças cardiovasculares por conta de sua atividade antioxidante. Os compostos fenólicos ajudam na prevenção de doenças como a aterosclerose, impedindo a oxidação de moléculas de lipoproteínas de baixa densidade, evitando assim, a formação de placas de ateroma (HITZ *et al.*, 2018).

Também se obteve resultado positivo para taninos. Constatou-se a formação de precipitado escuro que após alguns minutos decantou e foi observado mais nitidamente (Figura 2). Esse resultado condiz com o trabalho de Scalco e Munhoz (2016) que obtiveram resultado semelhante, juntamente com o trabalho de Santos *et al.* (2017). Os compostos tânicos atribuem característica adstringente à alguns vegetais por conta da precipitação de glicoproteínas salivares, perdendo o poder lubrificante. Esses compostos são altamente reativos, quimicamente, e formam ponte intra e intermolecular (CASTEJON; STRINGHINI, 2011).

Castejon e Stringhini (2011) mostram em seu estudo que os taninos possuem atividades bactericidas e fungicidas por três características comuns desse metabólito: complexação com íons metálicos; atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e habilidade de complexar com outras moléculas, principalmente proteínas e polissacarídeos. Os taninos apresentam também capacidade estimuladora de fagócitos, ação antitumoral, atividade anti-infecciosa, melhora a cicatrização, possuem atividade anti-inflamatória e facilitam o processo de reparação tecidual.

Figura 2: Resultados obtidos para teste de Taninos dos extratos bruto A, B e C.



Fonte: A autoria própria (2023).

3.2 Atividade Antioxidante

3.2.1 Análise Qualitativa da Atividade Antioxidante

A avaliação qualitativa dos extratos por CCD em gel de sílica, revelada com solução metanólica a 0,4 mmol/L do radical DPPH, sugeriu a existência de substâncias com atividade antioxidante, evidenciadas nas cromatoplasmas pela presença de manchas amarelas sobre fundo púrpuro, resultantes da redução do radical DPPH.

3.2.2 Análise Quantitativa da Atividade Antioxidante

A avaliação preliminar da quantidade de extrato necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, CE50, variou de $49,76 \pm 8,26 \mu\text{g/mL}$.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que as folhas da espécie vegetal *Miconia albicans*(Sw.)Triana, quando submetidas à extração por maceração, produziram Extratos Brutos que apresentaram a presença de compostos fenólicos e taninos, indicando assim que apresentam atividade antioxidante.

Na análise qualitativa realizada por Cromatografia em Camada Delgada, que evidência a atividade antioxidante pela redução da concentração de DPPH, foi positiva, o que corrobora com os resultados obtidos no *Screening*Fitoquímico.

A análise preliminar da quantidade de compostos antioxidantes, apresentou uma média entre os extratos de $49,76 \pm 8,26 \mu\text{g/mL}$ para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%.

REFERÊNCIAS

ALVES, N. R. **Estudos dos Estratos de três espécies do gênero *Miconia* sobre a inibição das MMPs 2 e 9 e sobre o crescimento tumoral *in vitro***. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular). Universidade Federal de São João Del Rei. Divinópolis – Minas Gerais, (81.) 2016. Disponível em: https://ufsj.edu.br/portal-repositorio/File/pmbqbm/PMBqBM/Publicacoes/Dissertacoes/Dissertacao_NataliaRibeiroAlves.pdf. Acessado em: 23/04/2022.

ANDRADE, E. *et al.* Uso de plantas medicinais para o tratamento de feridas. **Revista Interdisciplinar**, 8(2), p. 60–67. 2015. Disponível em: <https://silo.tips/download/uso-de-plantas-medicinais-para-o-tratamento-de-feridas>. Acessado em: 03/06/2022.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. O. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & saúde coletiva**, 17(10), p. 2675–2685. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232012001000017>. Acessado em: 16/05/2022.

CÂNDIDO, I. Plantas medicinais do cerrado comercializadas em feiras da região central do distrito federal. Monografia. **Universidade de Brasília**, Brasília, 2018. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/196903664.pdf>. Acessado em: 25/05/2022.

CASTEJON, F. V.; STRINGHINI, J. H. **Taninos e Saponinas**. Mestrado. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2011. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011_Fernanda_Castejon_1c.pdf. Acessado em: 02/07/2022.

CELOTTO, A. C. *et al.* Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, 34(4), São Paulo, Brasil. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822003000400010>. Acessado em: 11/03/2022.

DANTAS, Y. L. S. *et al.* *Miconia albicans* (Sw.): tratamento de doenças inflamatórias articulares. **Mostra Científica da Farmácia**, [S.I.], v. 4 n. 2, aug. 2018. ISSN 2358-9124. Disponível em: <http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/mostracientificafarmacia/article/view/2316/1878>. Acessado em: 26/05/2022.

HITZ, D. *et al.* Ação dos compostos fenólicos na aterosclerose: uma revisão. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.19 n.1. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v19i1.57729>. Acessado em: 23/08/2022.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas medicinais usadas para tratamentos dermatológicos, em comunidades da Bacia do Alto Paraguai, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, p. 40–44. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2004000300016>. Acessado em: 16/06/2022.

MATOS, F. J. A. Introdução a fitoquímica experimental. [Introduction to experimental phytochemistry.] 3rd ed., **Edições UFC**, Fortaleza, 147 p. 2009. Disponível em: <https://www.studocu.com/pt-br/document/universidade-estadual-do-ceara/quimica-de->

produtos-naturais/livro-introducao-a-fitoquimica-experimental-prof-matos-ufc/4389632.
Acessado em: 10/04/2022.

MEYER, J. M. *et al.* (2012). Botânica no inverno. Cap. Metabolismo Secundário. Ministério do meio ambiente. **Biodiversidade**. 2020. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biodiversidade.html>. Acesso em: 17/01/2023.

OLIVEIRA, G. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e inibitória das catepsinas b e k de *miconiaferruginata* (melastomataceae). **Programa de Pós-Graduação Stricto sensu em Ciências Moleculares, TEDE**, 2010. Disponível em: <http://www.btdt.ueg.br/handle/tede/610>. Acessado em: 16/06/2022.

PIERONI, L. G. *et al.* Antioxidant Activity and Total Phenols from the Methanolic Extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana Leaves. **Nacional Library of Medicine**16(11), p. 9439–9450, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules16119439>. Acessado em: 28/03/2022.

SANTOS, E.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 3, p. 29-35. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18468/estcien.2017v7n3.p29-35>. Acessado em: 15/07/2022.

SANTOS, E.; COUTO, L.; PAULA D. S. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante do extrato seco de Miconia albicans (sw) Triana (MELASTOMATACEAE)**. Universidade Estadual de Sergipe. Monografia. 2018. Disponível em: <http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/10721>. Acessado em: 18/05/2022.

SANTOS, M. A. F. *et al.* Atividades biológicas de *Miconia* spp. Ruiz & Pavon (Melastomataceae Juss.). **Gaia scientia**, v. 11, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.22478/ufpb.1981-1268.2017v11n1.30060>. Acessado em: 12/10/2022.

SCALCON; MUNHOZ, C. L. Estudo Fitoquímico e avaliação da toxicidade aguda dos extratos brutos das plantas *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, *Chenopodiumambrosioides* L. E *Miconia albicans* sw. Triana. **Journal of Agronomic Sciences**. Umuarama, 5, 181–194, 2016. Disponível em: <http://www.dca.uem.br/pag/anteriores/v5n2> Acessado em: 07/03/2023

SERPELONI, J. M. *et al.* Cytotoxic and mutagenic evaluation of extracts from plant species of the *Miconia* genus and their influence on doxorubicin-induced mutagenicity: an in vitro analysis. **Experimental andtoxicologicpathology**, 63(5), 499–504. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.03.011>. Acessado em: 15/09/2022.

SILVA, F. C. O. *et al.* Bioatividades de Triterpenos isolados de plantas: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, 12 (1), p. 234-247, 2020. Disponível em: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v12n1a18.pdf>. Acessado em: 18/05/2022.

STRACK, M. H.; SOUZA, C. G. Antocianinas, catequinas e quercetina: evidências na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. P. 43–50. 2012. Disponível em: <http://www.braspen.com.br/home/wp-content/uploads/2016/12/07-Antocianinas-Catequinas-e-Quercetina.pdf>. Acessado em: 18/08/2022.

TITONELI, N. A. A. *et al.* O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-americana de enfermagem**, São Paulo, v. 14, n. 3, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-11692006000300003>. Acessado em: 19/07/2022.

TOMÉ, L. U. *et al.* Estudo Morfo-Anatômico, Triagem Fitoquímica, Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Bruto e Frações das Folhas de *Miconia albicans* (Sw.) Triana. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**. 8 (2), p. 372-91. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2019v8i2.p372-391>. Acessado em: 04/12/2022.

VASCONCELLOS, M. A. *et al.* In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanoic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Z Naturforsch C J Biosci**. 61(7-8), p. 477-82, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/znc-2006-7-803>. Acessado em: 07/12/2022.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; KROLOW, G. E. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado-Documentos**, (INFOTECA-E), Pelotas, 87, 16 p., 2010. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/886074>. Acessado em: 15/11/2022.