

DOI: <https://doi.org/10.48195/sepe2025.30046>

NANOCÁPSULAS CONTENDO EXTRATO DA CASCA VERDE DE NOZ PECÃ: DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE

**Gabriela Guarenti Fruet^{1*} Elisandra da Silva Pena da Fonseca² Michele Rorato
Sagrillo³ Luiz Fernando Rodrigues Jr³ Liana da Silva Fernandes³**

RESUMO

A casca verde da noz pecã (*Carya illinoensis*), geralmente descartada como resíduo agroindustrial, apresenta elevado potencial como fonte de compostos fenólicos e antioxidantes com aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia. Este estudo teve como objetivo a extração do pigmento presente na casca verde da noz pecã e sua incorporação em sistemas nanoestruturados, avaliando a estabilidade das formulações obtidas. O pigmento foi extraído por meio do método Soxhlet utilizando etanol como solvente, seguido de evaporação em rotaevaporador. As nanocápsulas foram produzidas pela técnica de nanoprecipitação do polímero pré-formado, resultando em formulações com esse tipo de extrato vegetal. A caracterização físico-química incluiu análises de tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta e pH, além da avaliação da estabilidade em diferentes condições de armazenamento ao longo de 90 dias. Os resultados iniciais demonstraram partículas com diâmetro médio de 193,36 nm, PDI de 0,113, potencial zeta de -12,65 mV e pH de 5,15, indicando formulações monodispersas, homogêneas e adequadas aos parâmetros de estabilidade descritos na literatura. Durante o período de armazenamento, as amostras mantidas sob refrigeração e protegidas da luz apresentaram melhor preservação das características físico-químicas, evidenciando maior estabilidade em comparação às armazenadas em câmara climática e em temperatura ambiente. Os achados confirmam o potencial do extrato da casca verde da noz pecã como insumo natural para o desenvolvimento de formulações nanoestruturadas estáveis e sustentáveis. Assim, além de promover o reaproveitamento de resíduos vegetais, este estudo contribui para a inovação tecnológica e para a sustentabilidade ambiental, apontando perspectivas futuras para a avaliação das atividades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes das nanoformulações desenvolvidas.

Palavras-chave: Antioxidantes, Compostos Fenólicos, Nanotecnologia, Pigmentos Naturais, Sustentabilidade.

^{1*} Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Nanociências – Universidade Franciscana (UFN), Santa Maria, Rio Grande do Sul; E-mail: gabriela.fruet@ufn.edu.br; <https://orcid.org/0009-0001-3913-8571>;

² Dotoranda do Programa de Pós-Graduação em Nanociências – Universidade Franciscana (UFN). E-mail: elisandrapena@ufn.edu.br; <https://orcid.org/0009-0007-1025-699X>;

³ Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental (LABBIE) – Universidade Franciscana (UFN). E-mails: sagrillomr@ufn.edu.br; luiz.fernando@ufn.edu.br; liana@ufn.edu.br; <https://orcid.org/0000-0001-5659-159X>; <https://orcid.org/0000-0002-5753-5503>; <https://orcid.org/0000-0003-4745-7617>;

1 INTRODUÇÃO

A noz pecã (*Carya Illinoensis*) é uma árvore de porte grande que produz frutos e cascas que apresentam variados compostos fenólicos, conceituados por suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes que revelam vantagens para a saúde humana (Oliveira *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2009). As cascas verdes, que envolvem os frutos das nogueiras, são classificadas como resíduo nas indústrias, mas apresentam uma possibilidade para extração de pigmentos naturais.

A casca verde da noz pecã, chamada de epicarpo, contém compostos bioativos com grande potencial. Rica em antioxidantes e compostos fenólicos, ela pode ser explorada nas indústrias farmacêutica, cosmética e de alimentos, com possíveis aplicações como suplemento, corante natural ou ingrediente em produtos que combatem o envelhecimento e inflamações. A casca verde pode ser usada como uma fonte de corantes naturais para tingir tecidos ou alimentos, graças aos pigmentos que ela contém (Reckziegel *et al.*, 2011). Na agricultura, é utilizada como repelente natural para afastar insetos e pragas, devido aos seus compostos químicos, ou como fertilizante orgânico para enriquecer o solo com nutrientes. Apesar de promissora, a casca verde ainda exige mais pesquisas para que todo o seu potencial seja explorado (Trevizol *et al.*, 2011).

Explorar o potencial da casca verde da noz pecã fortalece a cadeia produtiva local e promove a sustentabilidade. Para isso, a adoção de práticas industriais sustentáveis e o uso de produtos naturais são essenciais, protegendo o meio ambiente e a saúde. Novas tecnologias, como a nanotecnologia, vêm sendo usadas para melhorar o desempenho desses produtos. Essa tecnologia é promissora porque aprimora as propriedades dos extratos naturais, tornando-os mais eficazes. A nanotecnologia protege os extratos contra a degradação e aumenta sua estabilidade, permitindo um aproveitamento mais eficiente de seus benefícios (Paschoalino; Marcone; Jardim, 2010).

A nanotecnologia tem um papel fundamental no aprimoramento de produtos naturais. Entre os sistemas nanoestruturados mais comuns, destacam-se três tipos principais: nanoemulsões, nanocápsulas e lipossomos. As nanocápsulas consistem em uma parede polimérica que protege um núcleo líquido, seja ele aquoso ou oleoso, com tamanho que varia de 100 a 500 nm (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Essas nanocápsulas destacam-se por suas propriedades físico-químicas, como o tamanho reduzido, a elevada área superficial e a diversidade de cargas superficiais, características que as tornam sistemas altamente eficientes e promissores para a liberação controlada de substâncias ativas. A incorporação de compostos naturais em matrizes poliméricas biodegradáveis representa uma estratégia inovadora e sustentável, capaz de proteger os ativos contra degradação e promover sua liberação de forma controlada e prolongada, o que é especialmente vantajoso em aplicações industriais e biomédicas que exigem elevada estabilidade química (Schaffazick *et al.*, 2003; Guterres *et al.*, 2007).

A busca por soluções mais sustentáveis tem impulsionado o uso de pigmentos naturais obtidos de fontes vegetais, como a casca verde da noz pecã. Esse material, muitas vezes considerado resíduo industrial, apresenta grande potencial para a extração de compostos bioativos e para o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados por meio de processos biotecnológicos mais limpos e eficientes. Assim, transforma-se um subproduto em recurso valioso, promovendo inovação e contribuindo para a sustentabilidade ambiental e econômica.

2 METODOLOGIA

2.1 OBTENÇÃO DE CASCAS DE NOZ

As cascas verdes de noz pecã foram obtidas em parceria com a Agroindústria Doctor Nuts, localizada no município de São Vicente do Sul, que possui um cultivo de aproximadamente 1.100 nogueiras-pecã.

2.2 OBTENÇÃO DO PIGMENTO

A extração do pigmento da casca de noz pecã foi realizada conforme o método descrito por Doğan-Sağlamtimur *et al.* (2017), com adaptações. Inicialmente, as cascas foram picadas, trituradas e moídas, sendo então submetidas à extração em Soxhlet utilizando etanol como solvente. Em seguida, o solvente foi removido com o auxílio de um rotaevaporador.

2.3 PRODUÇÃO DA NANOESTRUTURA

As nanocápsulas foram formuladas por meio da técnica de nanoprecipitação do polímero pré-formado, com adaptações do método descrito por Venturini *et al.* (2011). Para isso, as fases orgânica e aquosa foram preparadas separadamente e mantidas sob agitação magnética a 40 °C por 30 minutos, até a completa solubilização dos componentes (Tabela 1). Em seguida, a fase orgânica foi lentamente adicionada à fase aquosa com o auxílio de um funil, resultando na formação imediata das nanocápsulas contendo o extrato de noz pecã.

Tabela 1: Composição da formulação de nanocápsulas contendo extrato de noz pecã.

Fase	Componente
Orgânica	Material de revestimento
	Emulsificante
	Solvente lipofílico
	Solvente
	Ativo
Aquosa	Tensoativo
	Solvente

Fonte: Construção do autor.

A suspensão foi mantida sob agitação magnética por mais 10 minutos e, em seguida, transferida para um evaporador rotatório, operando a 80 rpm por aproximadamente 1 hora. Esse procedimento teve como objetivo a remoção completa do solvente e do excesso de água, obtendo-se um volume final de 10 mL da formulação.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS

2.4.1 Determinação do diâmetro de partícula e índice de polidispersão

O diâmetro de gotícula e o índice de polidispersão das nanoemulsões foram determinados por espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments®), utilizando cubeta apropriada após a diluição das amostras.

2.4.2 Potencial Zeta

O potencial zeta, indicador da carga de superfície das gotículas, foi determinado por mobilidade eletroforética. As análises foram realizadas em equipamento Malvern Zetasizer® Nano-ZS, utilizando cubeta apropriada, após diluição das nanoemulsões em água Milli-Q® (20 µL/10 mL).

2.4.3 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)

As medições de pH foram realizadas diretamente nas amostras, utilizando um potenciômetro Digimed® DM-20 previamente calibrado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 OBTENÇÃO DE CASCAS DE NOZ

As cascas verdes de noz pecã foram obtidas em parceria com a Agroindústria Doctor Nuts, localizada no município de São Vicente do Sul, que possui um cultivo de aproximadamente 1.100 nogueiras-pecã.

Figura 1: Casca verde de noz pecã

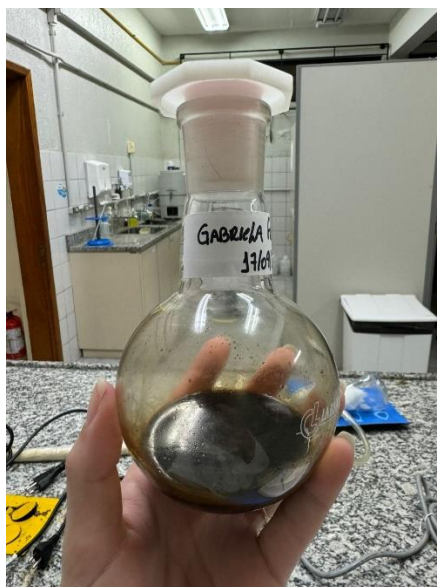


Fonte: Arquivo pessoal do autor.

3.2 OBTENÇÃO DO PIGMENTO

A extração do pigmento foi realizada seguindo o protocolo descrito por Doğan-Sağlamtimur et al. (2017), com adaptações específicas para este estudo. Inicialmente, as cascas foram cuidadosamente picadas e trituradas em um miniprocessador até atingir uma granulometria fina, aumentando a área de superfície disponível e favorecendo a eficiência da extração. Em seguida, aproximadamente 60 g do material triturado foram submetidos à extração em equipamento Soxhlet, utilizando 180 mL de etanol como solvente. O processo foi conduzido por, aproximadamente, 2 horas. Após a extração, o etanol foi removido por evaporação em rotavapor com temperatura controlada de 35 °C, evitando degradação térmica dos pigmentos. O extrato concentrado resultante foi então armazenado em frasco âmbar e armazenado na geladeira.

Figura 2: Produto extraído da casca verde de noz pecã



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

3.3 PRODUÇÃO DA NANOESTRUTURA

Foram preparadas duas fases separadas, aquosa e orgânica, sendo esta última composta pelo pigmento extraído da casca verde de noz pecã — uma abordagem inédita, uma vez que não há relatos na literatura de nanoformulações contendo esse tipo de pigmento.

Figura 3: Nanocápsula produzida com extrato da casca de noz pecã



Fonte: Arquivo pessoal do autor.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS

A caracterização das nanoformulações foi realizada por meio da determinação de pH, índice de polidispersão (PDI), tamanho de partícula, potencial zeta (PZ) e análise macroscópica quanto à ocorrência de sedimentação e separação de fases. A estabilidade das formulações foi

avaliada ao longo de 90 dias em diferentes condições de armazenamento: em recipiente de vidro âmbar protegido da luz, em recipiente de vidro âmbar mantido em câmara climática a $\pm 40^\circ\text{C}$ e em recipiente de vidro âmbar armazenado em geladeira a -4°C .

Conforme apresentado na Tabela 2, no tempo 0, correspondente à primeira caracterização após a produção, as nanocápsulas contendo extrato da casca verde de noz pecã apresentaram distribuição monodispersa de partículas, com IPD médio de 0,113 e tamanho de 193,36 nm. O potencial zeta foi de $-12,65\text{ mV}$ e o pH registrado foi de 5,15.

Tabela 2: Representação dos parâmetros analisados durante a caracterização da nanoformulação no tempo 0.

Formulação	Tamanho (nm)	IPD	Potencial Zeta (mV)	pH
NC	193,36	0,113	-12,65	5,15

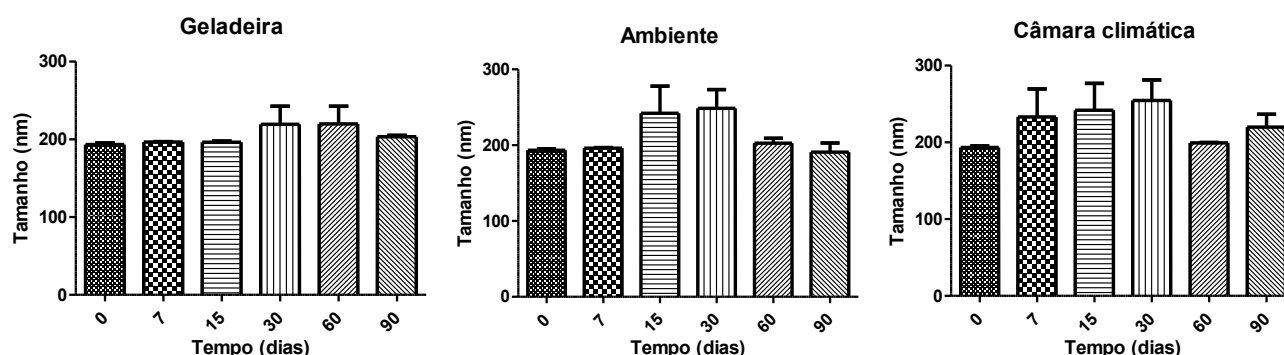
Fonte: Construção do autor.

A análise do diâmetro e da distribuição das nanopartículas é um critério fundamental para avaliar a qualidade da formulação, enquanto o potencial zeta e o pH são parâmetros-chave de estabilidade. Estudos apontam que a composição da formulação e o método de preparo influenciam diretamente o tamanho das nanoestruturas. Além disso, o monitoramento da distribuição do tamanho de partícula é essencial para prever tendências de agregação e sedimentação, configurando-se como um importante indicador de estabilidade (Pedrozo, 2023; Coelho, 2024).

3.4.1 Determinação do diâmetro de partícula e índice de polidispersão

A Figura 4 apresenta os resultados da análise de estabilidade da formulação em relação ao tamanho de partícula, ao longo de 90 dias, sob diferentes condições de armazenamento: temperatura ambiente ao abrigo da luz, câmara climática a $\pm 40^\circ\text{C}$ e refrigeração a -4°C . Conforme descrito por Bernardi *et al.* (2011) e Machado *et al.* (2019), o índice de polidispersão (PDI), representado na figura 5, é um parâmetro essencial na avaliação da estabilidade, sendo considerado ideal quando inferior a 0,3. Valores abaixo desse limite indicam amostras monodispersas, com distribuição de tamanho homogênea e perfil unimodal das nanopartículas.

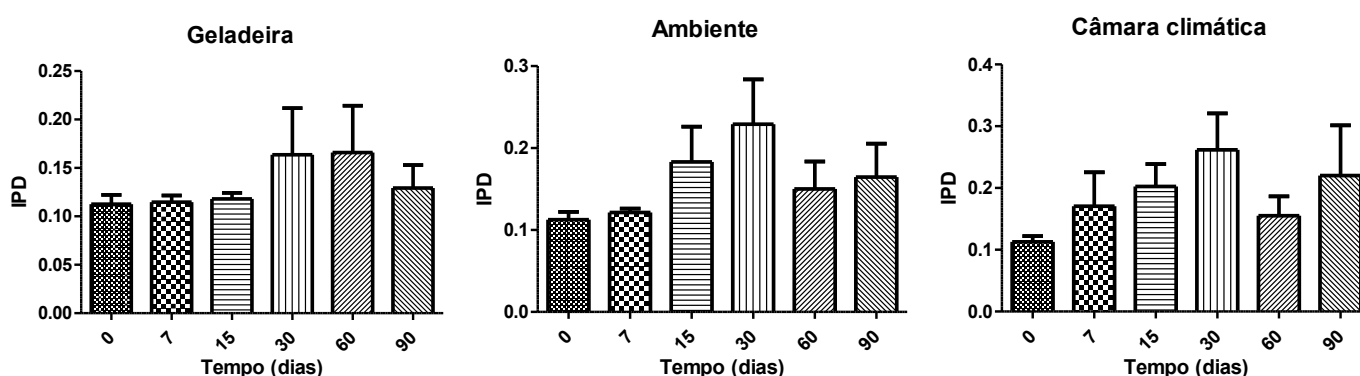
Figura 4: Resultados da análise de estabilidade em relação ao tamanho das nanopartículas durante 90 dias e em diferentes locais de armazenamento, recipiente de vidro âmbar na geladeira a -4°C , recipiente de vidro âmbar em temperatura ambiente e em recipiente de vidro âmbar na câmara climática a $\pm 40^\circ\text{C}$.



Os resultados foram expressos em percentagem de controle positivo (100%). Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). As análises foram realizadas por ANOVA de 1 via, seguida pelo teste *post hoc* de Dunnett. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

DOI:

Figura 5: Resultados da análise de estabilidade em relação ao índice de polidispersão durante 90 dias e em diferentes locais de armazenamento, recipiente de vidro âmbar na geladeira a -4°C , recipiente de vidro âmbar em temperatura ambiente e em recipiente de vidro âmbar na câmara climática a $\pm 40^{\circ}\text{C}$.



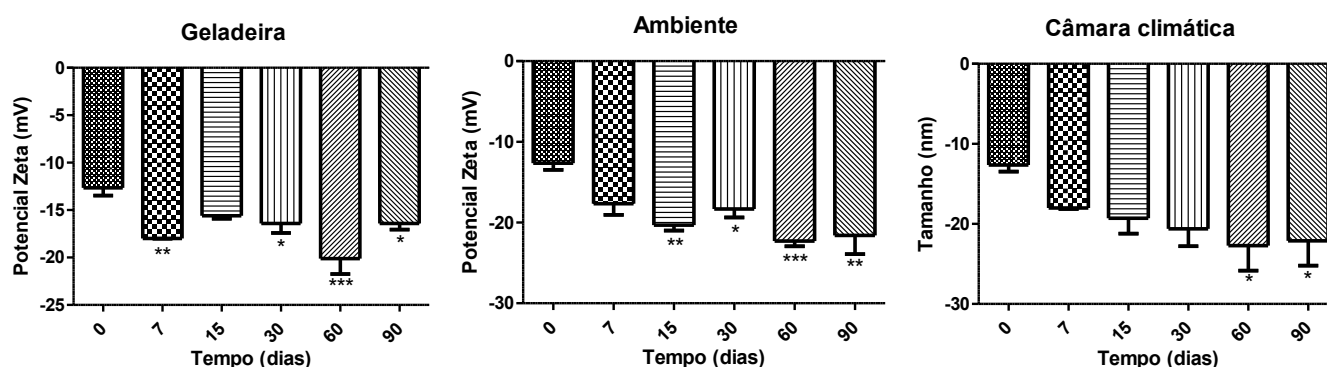
Os resultados foram expressos em percentagem de controle positivo (100%). Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). As análises foram realizadas por ANOVA de 1 via, seguida pelo teste *post hoc* de Dunnett. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.4.2 Potencial Zeta

Além do tamanho e do PDI, outro parâmetro relevante a ser avaliado é o potencial zeta, que representa a carga superficial das nanopartículas. Esse valor é influenciado por alterações na interface com o meio dispersante, resultantes da dissociação de grupos funcionais presentes na superfície ou da adsorção de espécies iônicas no meio aquoso. Valores elevados de potencial zeta que as partículas estão dispersas no sistema. Em contrapartida, valores baixos favorecem a aproximação entre as partículas, podendo levar à instabilidade da formulação. De acordo com a literatura, para garantir estabilidade, a repulsão eletrostática entre as partículas deve ser próxima de ± 30 mV. Os valores do potencial zeta das nanoemulsões, apresentados na figura 6, são negativos em decorrência da composição química dos seus componentes, incluindo o extrato da casca verde de noz pecã que é rica em compostos fenólicos (Machado *et al.*, 2019).

DOI:

Figura 6: Resultados da análise de estabilidade em relação ao potencial zeta durante 90 dias e em diferentes locais de armazenamento, recipiente de vidro âmbar na geladeira a -4°C , recipiente de vidro âmbar em temperatura ambiente e em recipiente de vidro âmbar na câmara climática a $\pm 40^{\circ}\text{C}$.

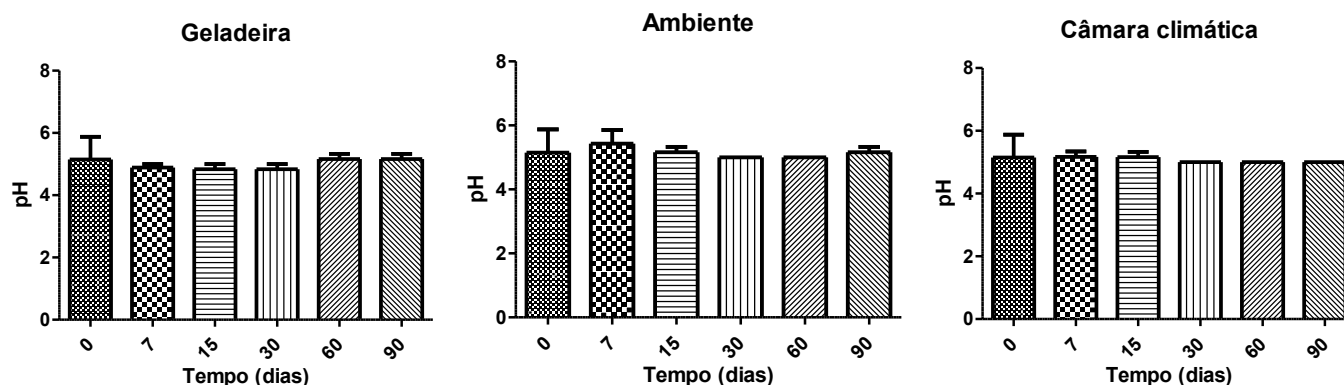


Os resultados foram expressos em percentagem de controle positivo (100%). Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). As análises foram realizadas por ANOVA de 1 via, seguida pelo teste *post hoc* de Dunnett. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.4.3 Determinação do potencial hidrogeniônico (pH)

Um parâmetro relevante observado na caracterização das nanoformulações foi o pH, que apresentou valor médio próximo de 5, conforme figura 7. Esse resultado pode ser explicado, principalmente, pela composição do extrato da casca verde de noz pecã, rico em compostos fenólicos, como catequinas, quercetina e ácidos fenólicos, os quais apresentam grupos hidroxila capazes de liberar prótons (H^+), conferindo caráter levemente ácido ao meio. Além disso, a presença do polímero poli(ϵ -caprolactona) (PCL) na formulação também pode contribuir para essa acidez, uma vez que sua degradação hidrolítica libera ácidos carboxílicos. Valores de pH na faixa de 4,5 a 6,5 são frequentemente relatados em sistemas nanoestruturados contendo extratos vegetais, sendo considerados adequados para a estabilidade das partículas e para a manutenção da integridade dos compostos bioativos (Kishore *et al.*, 2011; Del Pozo-Rodríguez *et al.*, 2009; Mishra *et al.*, 2018). Dessa forma, o pH obtido está em conformidade com o esperado e reforça a viabilidade da formulação.

Figura 7: Resultados da análise de estabilidade em relação ao potencial hidrogeniônico (pH) durante 90 dias e em diferentes locais de armazenamento, recipiente de vidro âmbar na geladeira a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, recipiente de vidro âmbar em temperatura ambiente e em recipiente de vidro âmbar na câmara climática a $\pm 40\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Os resultados foram expressos em percentagem de controle positivo (100%). Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). As análises foram realizadas por ANOVA de 1 via, seguida pelo teste *post hoc* de Dunnett. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados, a nanocápsula contendo extrato da casca verde de noz pecã apresentou-se estável, homogênea e adequada segundo os critérios avaliados, incluindo diâmetro nanométrico, baixo índice de polidispersão, potencial zeta negativo e pH levemente ácido. As análises de estabilidade mostraram ainda que as formulações mantidas na geladeira e protegidas da luz foram as mais resistentes, sem alterações significativas em nenhum dos parâmetros investigados.

PERSPECTIVAS FUTURAS

As perspectivas futuras deste estudo incluem a ampliação da investigação sobre as aplicações do pigmento obtido da casca verde de noz pecã, reforçando seu potencial como recurso natural e sustentável. Como a nanoformulação apresentou boa estabilidade, pretende-se realizar testes de segurança *in vitro* do composto livre e nanoestruturado, além de avaliar sua ação antimicrobiana, antifúngica e antioxidante. Espera-se que esses estudos possibilitem o desenvolvimento de formulações biotecnológicas seguras, eficazes e ambientalmente responsáveis, promovendo o reaproveitamento de resíduos vegetais e contribuindo para práticas mais sustentáveis nos setores industriais.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao Programa Institucional de Bolsas de Pós-graduação – PIBPG e ao CNPq por apoiarem e financiarem o desenvolvimento desse trabalho.

REFERÊNCIAS

BERNARDI, D. S. **Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento de dermatite atópica e psoríase.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011.

COELHO, L. B. **Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão contendo óleo de Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.).** 2024.

DEL POZO-RODRÍGUEZ, A. *et al.* Short-and long-term stability study of lyophilized solid lipid nanoparticles for gene therapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 2, p. 181-189, 2009.

DOĞAN-SAĞLAMTIMUR, Neslihan *et al.* Production of dye from green and brown walnut shells for leather coloration. **Periodicals of Engineering and Natural Sciences**, v. 5, n. 2, p. 224 – 230. 2017.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, Amsterdam, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 147-157, 2007.

GUTIÉRREZ, J. M. *et al.* Nanoemulsions: New applications and optimization of their preparation. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 13, n. 4, p. 245-251, 2008.

KISHORE, R. S. K.; KIESE, S.; FISCHER, S.; PAPPENBERGER, A.; GRAUSCHOPF, U.; MAHLER, H-C. The degradation of polysorbates 20 and 80 and its potential impact on the stability of biotherapeutics. **Pharmacy Research**, v.28, n.5, p.1194-1210, 2011.

MISHRA, Vijay *et al.* Solid lipid nanoparticles: Emerging colloidal nano drug delivery systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 191, 2018.

OLIVEIRA, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J.A. Total phenols antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husk. **Food and Chemical Toxicology**, 46:2326-2331, 2008.

PASCHOALINO, Matheus P.; MARCONE, Glauciene PS; JARDIM, Wilson F. Os nanomateriais e a questão ambiental. **Química Nova**, v. 33, p. 421-430, 2010.

PEDROZO, Thiago Souza. Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão com extrato de cúrcuma por método de baixa energia, 2023. **Trabalho de conclusão de curso** (Curso Superior de Tecnologia em Cosméticos) - Faculdade de Tecnologia de Diadema "Luigi Papaiz", Diadema, 2023.

RECKZIEGEL, P.; BOUFLEUR, N.; BARCELOS, R. C.; BENVEGNÚ, D. M.; PASE, C. S.; MULLER, L. G.; TEIXEIRA, A. M.; ZANELLA, R.; PRADO, A. C.; FETT, R. BLOCK, J. M.; BURGER, M. E. Oxidative stress and anxiety-like symptoms related to withdrawal of passive cigarette smoke in mice: Beneficial effects of pecan nut shells extract, a by-product of the nut industry. **Elsevier - Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 74, p. 1770-1778, 2011.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p.726-737, 2003.

TREVIZOL, F.; BENVEGNÚ, D. M.; BARCELOS, R. C. S.; PASE, C. S.; SEGAT, H. J. DIAS, V. T.; DOLCI, G. S.; BOUFLEUR, N.; RECKZIEGEL, P.; BURGER, M. E. Comparative study between two animal models of extrapyramidal movement disorders:

Prevention and reversion by pecan nut shell aqueous extract. **Behavioural Brain Research**.v. 221, p. 13-18, 2011.

VENTURINI, C. G.; JAGER, E.; OLIVEIRA, C. P.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A MO.; GUTERRES, S. S.; POHLMANN, A. R. Formulation of lipid core nanocapsules. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 375, p. 200 - 208, 2011.

ZHANG, Zijia et al. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). **Food chemistry**, v. 113, n. 1, p. 160-165, 2009.

Este trabalho de acesso aberto está licenciado sob Creative Commons - Atribuição (CC BY 4.0).