



THAMIRIS CAROLINA RODRIGUES DE ALMEIDA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO
DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM
BIOCARVÃO DE MACAÚBA PARA DETERMINAÇÃO DE
CAFEÍNA EM BEBIDAS E CÁPSULA ESTIMULANTE DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

LAVRAS – MG

2023

THAMIRIS CAROLINA RODRIGUES DE ALMEIDA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO
DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM
BIOCARVÃO DE MACAÚBA PARA DETERMINAÇÃO DE
CAFEÍNA EM BEBIDAS E CÁPSULA ESTIMULANTE DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Química, para a obtenção do
título de Bacharelado em química.

Prof (a). Dr (a). Adelir Aparecida Saczk

Orientadora

Me. Matheus Julien Ferreira Bazzana

Coorientador

LAVRAS- MG

2023

THAMIRIS CAROLINA RODRIGUES DE ALMEIDA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR ELETROQUÍMICO
DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM
BIOCARVÃO DE MACAÚBA PARA DETERMINAÇÃO DE
CAFEÍNA EM BEBIDAS E CÁPSULA ESTIMULANTE DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Química, para a obtenção do
título de Bacharelado em química.

Aprovado em 29 de novembro de 2023

Prof^ª . Dra . Zuy Maria Magriotis UFLA

Prof^ª. Dra. Tatiana Cardoso UFLA

Prof^ª. Me. Matheus Julien Ferreira Bazzana UFLA

Prof (a). Dr (a). Adelir Aparecida Saczk

Orientadora

Me. Matheus Julien Ferreira Bazzana

Coorientador

LAVRAS- MG

2023

Aos meus pais que sempre colocaram minha
educação à frente de tudo, por serem meu exemplo
de vida e por serem fonte de apoio e carinho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora de Guadalupe por me manterem de pé, serem minha fonte de luz e minha força nos momentos difíceis durante a graduação e em toda a minha vida.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Química, pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão bolsa de iniciação científica que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Analítica e Eletroanalítica (LAE) e ao Laboratório de Catálise e Biocombustível (LACAB) da Universidade Federal de Lavras, por ceder o biocarvão de macaúba para o desenvolvimento do sensor eletroquímico.

À minha orientadora Adelir Aparecida Saczk, por ter me acolhido quando estava sem incentivo e por ser minha orientadora durante graduação em um período tão importante como a conclusão do curso.

Ao meu coorientador Matheus Julien Ferreira Bazzana por todos os ensinamentos, conselhos e pela paciência e confiança que depositou em mim mesmo antes de se tornar meu coorientador.

Às meninas, Gabriela e Juliana, por responderem tantas das minhas perguntas, por me acompanharem integralmente durante meu projeto, por me acalmarem nos momentos de desespero e por me lembrarem que no fim vai dar certo e que a eletroanalítica exige paciência tanto quanto eles tiveram comigo.

Ao apartamento 101, que foi meu lar durante esses anos, agradeço a Maria Julia e Giovana por me aturarem, me fazerem sorrir, por serem minha companhia diária e minha família em Lavras.

À toda minha família que sempre me apoiou. Em especial aos meus pais Maria Rozilda e Jose Holivone que nas dificuldades me incentivaram a continuar, ao meu irmão Thales que é o motivo pelo qual dou meu melhor, ao meu namorado Luan que me apoiou desde a primeira decisão de estudar fora, e não poderia deixar de agradecer a Dona Luzia, minha avó que me inspira a ser uma mulher forte e de fé.

À Família Oásis que nos quatro anos de graduação permitiu que eu continuasse no caminho de Deus, com Maria à frente de todas as situações.

GRATIDÃO!

RESUMO

A cafeína (CF) é um componente importante presente em muitos produtos, como o café, chá-verde, cacau, fármacos e bebidas estimulantes. Ela é uma das substâncias com atividades biológicas psicoativas mais ingeridas no planeta, resultando em alterações nas funções fisiológicas, como resistência física, humor, sono e dor. Entretanto, sua ingestão excessiva gera sintomas de irritabilidade, dores de cabeça, taquicardia, ansiedade, insônia, entre outras. Nesse sentido, justifica-se o desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para monitorar a CF em bebidas e cápsulas estimulantes. No entanto, técnicas tradicionais, como eletroforese capilar e cromatografia líquida, possuem alto custo, elevado tempo de análise e utilizam grandes volumes de solventes tóxicos. Assim, as técnicas voltamétricas surgem como alternativa para quantificação de CF. A sensibilidade dos métodos voltamétricos pode aumentar com o uso de eletrodos modificados com materiais carbonáceos, como o biocarvão de macaúba, pois são materiais que possuem propriedades adsorptivas e grande área superficial. Portanto, o trabalho tem como objetivo desenvolver um sensor eletroquímico de pasta de carbono modificado com biocarvão de macaúba para determinação de CF em bebidas e cápsula estimulante do sistema nervoso central por voltametria de pulso diferencial. Para análise da CF foi selecionado entre os eletrólitos avaliados, o ácido acético ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5 com cloreto de potássio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrólito de suporte. O modificador avaliado na modificação da pasta de carbono foi o biocarvão de macaúba. Foi realizado o estudo para a confecção da pasta de carbono que apresenta maior sensibilidade à CF, a proporção selecionada foi de 50% grafite, 20% biocarvão de macaúba e 30% aglutinante. Na faixa de potencial avaliada (1,2V a 1,7V) foi observado um pico de oxidação da CF em 1,45V. A velocidade de varredura foi avaliada por meio da voltametria cíclica, onde variou-se as velocidades de varredura de 10 a 200 mV s^{-1} . Os resultados indicaram que o processo de transporte de massa é controlado por difusão. O método desenvolvido para a determinação de CF apresentou linearidade na faixa de concentração $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Uma curva analítica matrizada foi realizada para determinação de CF em amostra de café solúvel (I), Refrigerante a base de cola Tradicional (II), Refrigerante a base de cola com extrato de café (III) e cápsula da cafeína (IV), apresentando boa linearidade, 0,9925; 0,9970; 0,9956 e 0,9913 respectivamente. Os limites de detecção (LOD) calculados foram de $3,522 \times 10^{-6}$ (I); $6,47 \times 10^{-7}$ (II); $1,01 \times 10^{-6}$ (III) e $8,22 \times 10^{-7}$ (IV) e os limites de quantificação (LOQ) foram $1,17 \times 10^{-5}$ (I); $2,15 \times 10^{-6}$ (II); $3,69 \times 10^{-6}$ (III) e $2,74 \times 10^{-6}$ (IV). Em testes também foi verificado que o sensor desenvolvido apresenta excelente repetibilidade e reprodutibilidade para determinação da CF. Sendo assim, foi verificado que o método desenvolvido apresentou eficiência para determinação de CF em amostras de bebidas e cápsulas estimulante do sistema nervoso central.

Palavras-chave: Cafeína; Voltametria de Pulso Diferencial; Sensor Eletroquímico; Biocarvão de Macaúba.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	8
2.1. Geral	8
2.2. Específicos	8
3. REFERENCIAL TEÓRICO	9
3.1. Cafeína.....	9
3.1.1. Mecanismos de ação	10
3.1.2. Efeitos colaterais da cafeína	11
3.2. Técnicas voltamétricas e Sensores eletroquímicos	12
3.2.1 Voltametria de pulso diferencial	15
3.3. Sensores voltamétricos modificados.....	18
3.4. Biocarvão.....	19
3.4.1 Macaúba e Biocarvão de Macaúba	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Reagentes e soluções	22
4.2. Preparo de amostras	23
4.2.1. Café solúvel	23
4.2.2. Cápsula de Cafeína	23
4.2.3. Refrigerante a base de cola tradicional	23
4.2.4. Refrigerante a base de cola com extrato de café	24
4.3. Equipamentos.....	24
4.4. Estudos voltamétricos	24
4.4.1. Eletrólito de suporte.....	24
4.4.2. Preparo das pastas de carbono modificadas e escolha da melhor proporção.....	25
4.4.3. Otimização de parâmetros da voltametria de pulso diferencial	25
4.4.4. Avaliação do transporte de massa - velocidade de varredura	26
4.5. Curva analítica	26
4.5.1. Curva analítica na ausência de matriz	26
4.5.2. Curva analítica na presença de matriz	27
4.6. Determinação de cafeína em diferentes amostras	27
4.6.1. Determinação de cafeína em amostra de café solúvel.....	27
4.6.2 Determinação de cafeína em Refrigerante a base de cola tradicional.....	28

4.6.3. Determinação de cafeína em Refrigerante a base de cola com extrato de café	28
4.6.4 Determinação de cafeína em cápsula estimulante do sistema nervoso central	28
4.7. Ensaio de repetibilidade e reprodutibilidade	29
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	29
5.1. Seleção do pH e eletrólito de suporte ideal	29
5.2. Escolha da pasta modificada	32
5.3. Otimização dos parâmetros da Voltametria de Pulso Diferencial	38
5.3.1 Otimização do step	38
5.3.2 Otimização da amplitude de pulso	40
5.3.3 Otimização da modulação de tempo	41
5.3.4 Otimização do intervalo de tempo	42
5.4. Velocidade de varredura	43
5.5. Parâmetros analíticos de desempenho para determinação de cafeína em diferentes amostras	45
5.5.1. Determinação de cafeína em amostras de bebidas	48
5.5.2. Performance do método desenvolvido	56
5.6. Repetibilidade e Reprodutibilidade do método desenvolvido	58
6. CONCLUSÃO	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

1. INTRODUÇÃO

A CF é uma das substâncias com atividades biológicas psicoativas mais ingeridas no planeta, resultando em alterações nas funções fisiológicas, como resistência física, humor e dor. Apesar de ser muito consumida por meio de bebidas (cafés, chás, refrigerantes de cola, etc.), o consumo da CF associados ao paracetamol com anti-inflamatórios, em medicamentos analgésicos e hormonais, também é muito ingerido por uma parcela da população (GOLDSTEIN et al., 2006).

Os efeitos colaterais associados ao consumo de cafeína estão associados a perda do controle motor, a qualidade do sono, confusão mental e causar crises em indivíduos com quadros de ansiedade (SMITH, 2002; FERNANDES; PEREIRA; FERNANDES, 2023). Esses efeitos são mais nítidos e se apresentam com doses menores em indivíduos não habituados ao consumo de café. A população cardiopata é aconselhada a diminuir os níveis de consumo de CF, pois o alcaloide é responsável por elevar a pressão arterial de forma persistente, sendo um consumo diário limitado de 100mg a 200mg, de acordo com a Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica. Por isso, torna-se importante o desenvolvimento de um método para quantificação de CF em bebidas e cápsula estimulante do sistema nervoso central (JAMES, 2004).

É comum que a quantificação da CF seja realizada por métodos tradicionais como a espectroscopia, eletroforese capilar e cromatografia líquida. Entretanto, para esse tipo de análise algumas desvantagens ocorrem, como, alto custo associado, elevado tempo de análise e uso de grandes volumes de solventes tóxicos (AMJADI et al., 2020).

Sendo assim, métodos eletroquímicos, podem ser uma alternativa viável para quantificação de CF. , por apresentarem diversas aplicações, podendo ser utilizada para esclarecimentos de mecanismos reacionais, quantificação de analitos eletroativos e caracterização de processos físico-químicos (ADERYANI et al., 2021).

Dentre as técnicas voltamétricas a voltametria de pulso diferencial pode apresentar diversas vantagens como baixo custo associado, análise rápida, uso de pequenos volumes de amostra, facilidade na manipulação dos equipamentos, entre outros benefícios (WATWE; KULKARNI, 2021).

Diante das técnicas voltamétricas os sensores eletroquímicos como eletrodos de pasta de carbono (EPC) são muito utilizados, uma vez que apresentam baixo custo, alta

condutividade, baixa resistência elétrica, grande janela de potencial e podem ser facilmente modificados (AMJADI et al., 2020).

Para modificação dos eletrodos de pasta de carbono, podem ser usados materiais carbonáceos nanomateriais, moléculas de reconhecimento biológico, polímeros e biocarvões. Esses materiais contribuem para a seletividade e sensibilidade do eletrodo, por meio da área superficial, adsorção e porosidade que são características desses materiais. (HRIOUA et al., 2021). O material utilizado na modificação da pasta de carbono modificada estudada foi o biocarvão de Macaúba. Esse material possui baixo custo associado, grande área superficial, propriedades adsorptivas reversíveis e alta porosidade. Além dessas características, os biocarvões possuem alta capacidade de troca iônica e microporosidade (AHMAD et al., 2014; WANG, 2008).

Sendo assim, a construção de um eletrodo de pasta de carbono modificada com biocarvão de macaúba (EPCM/BM) torna-se uma boa opção para uso em sensores eletroquímicos, para quantificação de CF em bebidas e capsulas estimulantes.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Esta pesquisa tem como objetivo desenvolver um sensor eletroquímico com pasta de carbono modificado com biocarvão de Macaúba, utilizando voltametria de pulso diferencial, para determinação de cafeína em bebidas e cápsula estimulante do sistema nervoso central.

2.2. Específicos

- a) Estimar as melhores condições eletroquímicas (pH e eletrólito de suporte);
- b) Selecionar a melhor proporção de pasta de carbono modificada com biocarvão de Macaúba;
- c) Estudar a oxidação da cafeína utilizando voltametria de pulso diferencial;
- d) Estudar o mecanismo de transporte de massa da cafeína até a superfície do eletrodo de trabalho utilizando voltametria cíclica;
- e) Determinar a concentração de cafeína em bebidas e cápsula estimulante do sistema nervoso central utilizando o método eletroquímico desenvolvido e comparar com os valores nominais;

f) Estudar a repetibilidade e reprodutibilidade do método desenvolvido para a determinação de cafeína.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

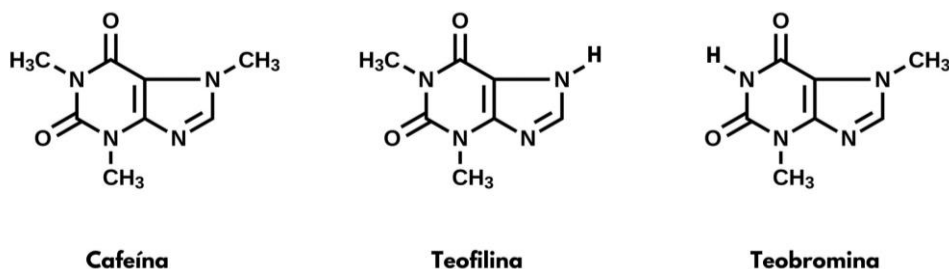
3.1. Cafeína

A descoberta da cafeína ocorreu em 1820, mas apenas no século XIX sua estrutura química foi estabelecida como metilxantina. No ano de 1981, os efeitos da CF foram reconhecidos devido ao bloqueio dos receptores de adenosina que foram relacionados com as propriedades estimulantes da CF e de outros compostos semelhantes (DALY, 2007).

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina), representada na figura 1, é um alcaloide que possui propriedades básicas e apresenta em sua estrutura o nitrogênio e um esqueleto de purina, pertence aos estimulantes mais antigos, sendo o mais potente desses compostos naturais da classe das xantinas (CAB DE MARIA, LC TRUGO, 1996).

Quimicamente esses alcaloides são semelhantes a purina, xantina e ácido úrico que são compostos metabolicamente importantes para o organismo humano. (BRENELLI, 2003).

Figura 1 – Estruturas químicas da CF e de outras metilxantinas



Fonte: Do Autor, 2023

A CF pode ser encontrada em diversos produtos. O café (*Coffea* sp.) é o produto que apresenta em sua constituição a maior quantidade desse alcalóide. Entretanto, outras substâncias também se destacam pela presença de CF em sua composição, esse é o caso do chá verde (*Camilla sinensis*), em frutos como no cacau (*Theobroma cocoa*), no guaraná (*Paullinia cupana*) e na erva-mate (*Ilex paraguayensis*) (BUCCI, 2000).

A atuação da CF no organismo humano gera uma série de efeitos fisiológicos como: estimulantes do sistema nervoso central, diuréticos, dependência química, aumento da taxa metabólica, relaxamento da musculatura lisa dos brônquios, do trato biliar, do trato gastrointestinal e de partes do sistema vascular. A CF pode ser detectada no corpo humano após cinco minutos da ingestão, atingindo seu máximo após 20-30min, é metabolizada no fígado e sua meia vida no corpo humano é de cerca de 3-6 h (BRENELLI, 2003).

A ingestão da CF em quantidades recomendadas aponta um efeito benéfico relativo ao desenvolvimento de determinadas doenças, entre elas: diabetes tipo II, asma, cirrose alcoólica, determinados tipos de câncer, Doença de Parkinson e Alzheimer (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009).

3.1.1. Mecanismos de ação

A CF é um alcaloide que pertence ao grupo dos estimulantes do sistema nervoso central. É uma droga psicotrópica, na qual seus efeitos no organismo consistem em reduzir a sensação de fadiga e aumentar o estado de alerta resultando no aumento da capacidade para realizar determinadas tarefas. Efeitos reforçadores podem surgir em consequência do sistema dopaminérgico que foi ativado (FAZAN; HENRIQUE; DECONTE, 2022).

No mecanismo de ação das células do organismo vivo, a CF é um antagonista competitivo dos receptores de adenosina e que possui atuação direta ao nível dos receptores, que por meio do desacoplamento da atividade da ATPase no músculo esquelético, potencializa a liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático (PHYSIOL et al., 2014).

O aumento da lipólise causado pela CF após esses dois mecanismos celulares, vem acompanhado da facilidade da transmissão no sistema nervoso central, uma redução da concentração plasmática de potássio durante o exercício, um aumento da força de contração muscular em baixas frequências de estimulação e uma economia do glicogênio muscular (TARNOPOLSKY, 1994).

Ao nível celular, esses mecanismos de ação pressupõe um benefício ergogênico da CF durante exercícios em que a queda de glicogênio no organismo do atleta limita seu desempenho em treinamentos de longa duração (FAZAN; HENRIQUE; DECONTE,

2022). É provável que a CF seja a precursora de ativação de processos neuronais ou musculares quando relacionadas a atividades desportivas, atuando diretamente no sistema nervoso central, estimulando a liberação de hormônios (ACTH e beta-endorfina) que mudam a percepção de dor e a fadiga resultante do esforço físico e respondem ao estresse, se consumidas em maiores quantidades. Por esse motivo, recentemente houve um aumento significativo do consumo de cápsulas de cafeína pré treinamentos esportivos. Entretanto, se consumidas em concentrações baixas não há mudanças corporais significativas (JACKMAN et al., 1996; DE SOUZA et al., 2022).

3.1.2. Efeitos colaterais da cafeína

Apesar dos benefícios que a ingestão da CF pode trazer, alguns efeitos colaterais podem ser causados se consumida em excesso. A ingestão excessiva de CF, mais que quatro xícaras diárias (400mg de CF) geram diversos sintomas negativos para o organismo como: irritabilidade, dores de cabeça, diarreia, taquicardia, produz excitação, ansiedade, insônia entre outras (BRENELLI, 2003; HIGA, 2022; ABESO, 2022). Assim como outras xantinas a CF possui efeitos inotrópicos, taquicardizantes, broncodilatadores e estimulantes da secreção gástrica. Quando o consumo dessa substância é recorrente, desenvolve-se a necessidade de aumentar a dose para alcançar os efeitos iniciais. Interromper o consumo em casos assim, origina-se uma síndrome de abstinência com cefaléia, irritabilidade e letargia (GUERRA; COELHO; GUTIÉRREZ, 2000).

A dose letal para um adulto com massa de 70 kg é de 10 g, o equivalente ao consumo aproximado de 100 xícaras de café, 50 kg de chocolate ou 200 latas de coca-cola (BRENELLI, 2003).

A CF é uma droga estimulante que pode ser usada indevidamente em atividades esportivas oficiais e, portanto, necessita ser monitorada continuamente durante as competições. A CF é encontrada na lista de substâncias consideradas como *doping* pelo Comitê Olímpico Internacional ($>12\mu\text{g/ml}$ na urina), pelas suas supostas propriedades ergogênicas (CUNHA et al., 2017).

Essa substância é considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma droga estimulante do sistema nervoso central, assim como as anfetaminas, a nicotina e a cocaína. São denominadas drogas uma série de substâncias psicoativas que podem ser

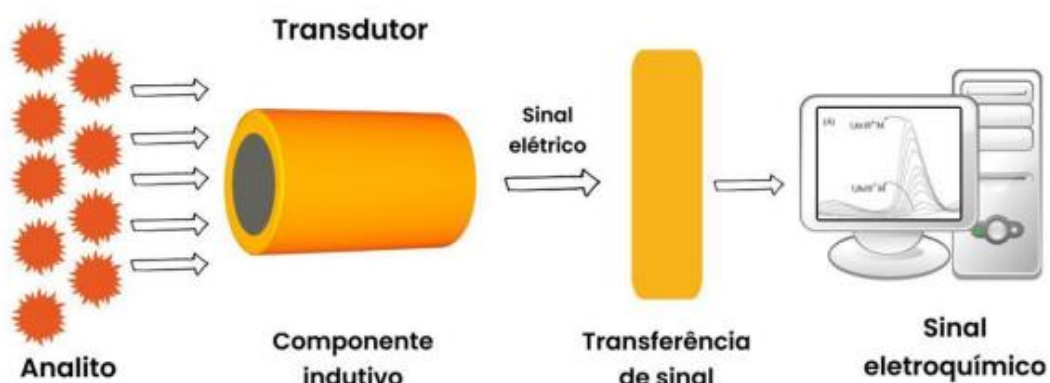
objeto de abuso. Todas são capazes de modificar uma ou várias funções do nosso organismo (GUERRA; COELHO; GUTIÉRREZ, 2000).

A CF por ser considerada uma droga e por causar efeitos colaterais negativos que atingem o controle motor, a qualidade do sono, confusão mental e causa crises em indivíduos com quadros de ansiedade (SMITH, 2002), deve ser monitorada quanto as doses permitidas para consumo humano. Assim, esse monitoramento pode ser realizado por técnicas voltamétricas, como a voltametria de pulso diferencial.

3.2. Técnicas voltamétricas e Sensores eletroquímicos

A voltametria é uma técnica analítica que mede a corrente gerada através de um eletrodo polarizado. Um potencial é aplicado para garantir que uma reação de oxidação ou redução ocorra na superfície do eletrodo, com consumo insignificante do analito na amostra (WILEY, 2002). Este potencial é um sinal de excitação dependente do tempo aplicado ao eletrodo de trabalho em uma célula eletroquímica. Este sinal gera uma corrente que é a resposta analítica desejada. O funcionamento desses sensores está exemplificado na Figura 2.

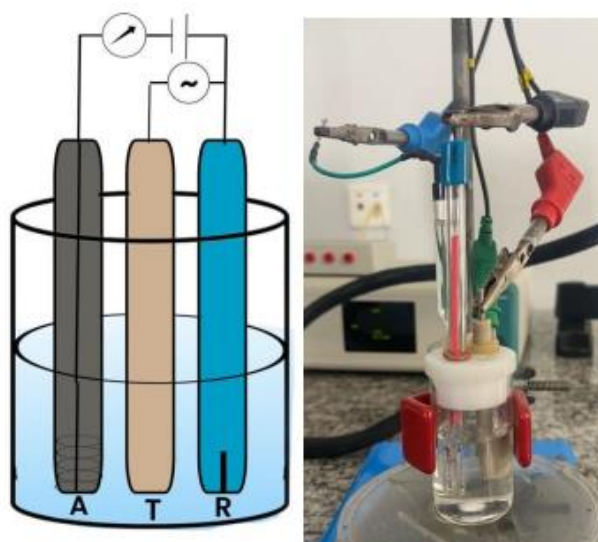
Figura 2 — Esquema do funcionamento dos sensores voltamétricos



Fonte: Do Autor, 2023

Para o desenvolvimento de métodos voltamétricos utiliza-se células eletroquímicas, que em sua grande maioria são compostas por três eletrodos: eletrodo de trabalho, de referência e contra eletrodo, como mostrado na Figura 3 (MA et al., 2021).

Figura 3 – Sensores voltamétricos em uma configuração com três eletrodos, em que: A é o eletrodo auxiliar (contra eletrodo), T é o eletrodo de trabalho e R é eletrodo de referência.



Fonte: Do Autor, 2023

O eletrodo de trabalho é inerte e é em sua superfície que ocorre a reação de redução e oxidação do analito. Para realizar a leitura e controle do potencial do eletrodo de trabalho é utilizado um eletrodo de potencial fixo, o eletrodo de referência, que geralmente é constituído de $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{(\text{sat})}$. Entretanto, o uso destes dois eletrodos pode dificultar a manutenção de um potencial estável. Sendo assim, pode-se adicionar um terceiro eletrodo, denominado auxiliar ou contra eletrodo (YANG; CHENG, 2020). Quando é utilizado um sistema eletroquímico com três eletrodos, a corrente irá fluir entre o eletrodo de trabalho e o contra- eletrodo, evitando que o potencial do eletrodo de referência varie (MA et al., 2021).

Os sensores voltamétricos, ou eletrodos de trabalho, são capazes de monitorar mudanças que ocorrem na corrente gerada na célula eletroquímica a partir das reações de redução e oxidação de substâncias eletroquimicamente ativa (MARTINS; PIMENTA; DE SOUZA, 2021; MICHALKIEWICZ; SKORUPA; JAKUBCZYK, 2021). Por meio dessas reações pode-se realizar estudos qualitativos e quantitativos das espécies de estudo, que ajudam a elucidar mecanismos reacionais de espécies eletroativas e caracterizar processos físico-químicos (MICHALKIEWICZ; SKORUPA; JAKUBCZYK, 2021).

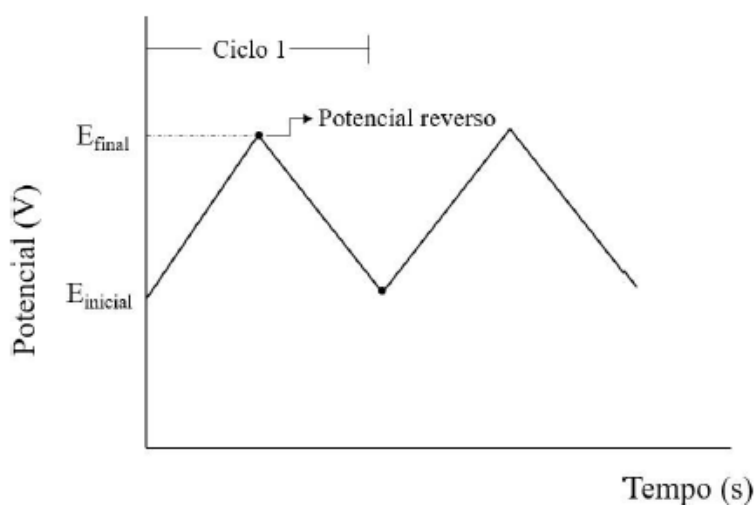
Dentre os sensores usados nas análises voltamétricas estão: eletrodo de pasta de carbono (EPC), eletrodo de carbono vítreo (ECV), eletrodo de ouro e eletrodos de óxidos metálicos. Os materiais do eletrodo de trabalho são escolhidos de acordo com a aplicação, que é ditada principalmente pelo material do eletrodo e pela composição da solução. Normalmente, o limiar do potencial de trabalho positivo é determinado pela oxidação de água para oxigênio e o limiar negativo pela redução de água para hidrogênio (WILEY, 2002).

Os sensores voltamétricos podem ser utilizados em diversas técnicas (GHORBANI et al., 2019), tais como:

- **Voltametria de Varredura Linear:** o potencial é aplicado no eletrodo de trabalho de maneira linear em função do tempo, possibilitando a aplicação de velocidades de varredura elevadas. No entanto, esta técnica é pouco sensível (PACHECO et al., 2013).

- **Voltametria Cíclica:** baseia-se na variação linear do potencial em função do tempo no eletrodo de trabalho. Na voltametria cíclica, um potencial inicial é estabelecido e a direção da varredura é invertida em um potencial reverso, como apresentado na figura 4 (PACHECO et al., 2013). Esta técnica voltamétrica é uma ferramenta eficiente na investigação de mecanismos dos processos interfaciais que ocorrem na superfície do eletrodo (DU; XIE; WANG, 2021).

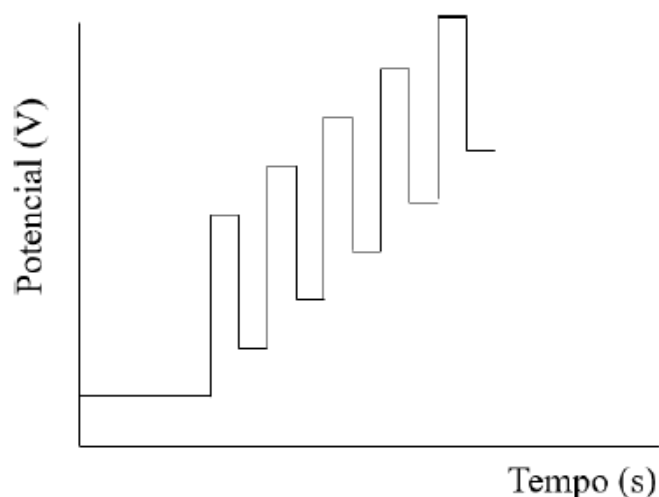
Figura 4 – Representação do potencial em função do tempo aplicado para geração de voltamograma de pulso diferencial.



Fonte: Gabriela Françaço Vilela, 2023

• **Voltametria de Onda Quadrada:** uma varredura de potencial é aplicada em uma rampa de potencial e a intensidade da corrente é medida ao final de cada pulso aplicado em um ciclo de varredura de potencial, como apresentado na figura 5. Esta técnica é amplamente utilizada na determinação de analitos, uma vez que também apresenta maior sensibilidade que a voltametria cíclica (DU; XIE; WANG, 2021).

Figura 5 – Representação do potencial em função do tempo aplicado para geração de voltamograma de pulso diferencial.



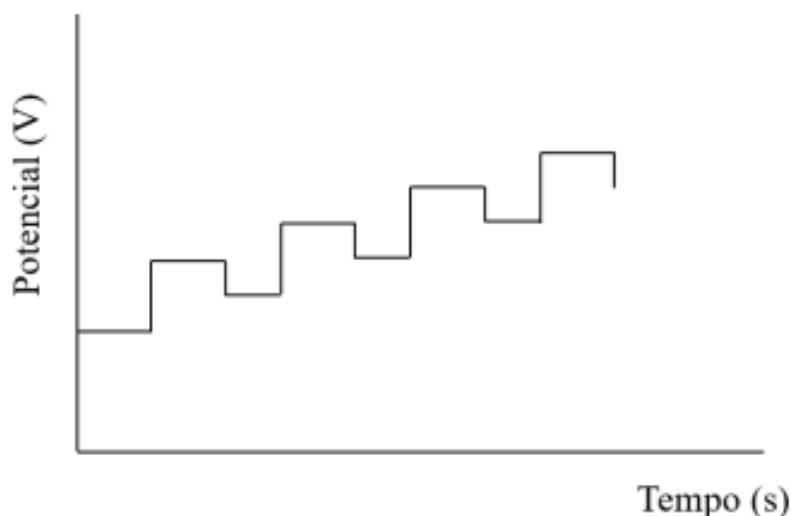
Fonte: Gabriela França Vilela, 2023

Assim como as técnicas apresentadas a Voltametria de Pulso Diferencial também é usada em métodos de determinação de analitos, tanto que foi utilizada para determinação de CF nas amostras selecionadas neste trabalho.

3.2.1 Voltametria de pulso diferencial

Além das técnicas voltamétricas já apresentadas a voltametria de pulso diferencial (DPV) também está entre os métodos aplicados. Na DPV uma sequência de pulsos de amplitude constante são sobrepostas ao potencial gerado em função do tempo, e a corrente gerada é medida entre o início e o final do pulso, como mostrado na Figura 6. O voltamograma é obtido a partir da variação das duas intensidades de corrente, a medida um pouco antes da aplicação do pulso e a ao final do tempo de duração do pulso, o que gerará um pico no voltamograma. Esta técnica apresenta maior sensibilidade que a voltametria cíclica e é aplicada na determinação dos analitos (DU; XIE; WANG, 2021).

Figura 6 – Representação do potencial em função do tempo aplicado para geração de voltamograma de pulso diferencial.



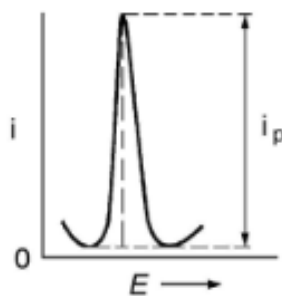
Fonte: Gabriela Françaço Vilela, 2023

As técnicas de pulso, com destaque a voltametria de pulso diferencial (DPV), são consideradas uma melhoria instrumental na diferenciação da corrente faradaica da capacitiva. Logo, a instrumentação da técnica foi desenvolvida com base nas aplicações de pulsos de potencial, e medidas de corrente em intervalos de tempo muito pequenos (ALEIXO, 2003).

A voltametria de pulso diferencial é uma técnica extremamente útil para medir níveis traços de espécies orgânicas e inorgânicas. Na DPV aplica-se um pulso de potencial que sobrepõe uma rampa de potencial em forma de degraus. Dessa maneira, a corrente capacitiva é compensada, pois os seus valores nos dois pontos onde a corrente é amostrada são muito próximos (WANG, 2008).

O potencial de pico, E_p , é o potencial que identifica o ponto máximo do pico, e tem a função de identificar uma espécie eletroativa. A corrente proveniente do E_p é a corrente de pico, I_p . Para medir a altura do pico e determinar a I_p traça-se uma reta tangenciando a base do pico. A seguir mede-se a altura a partir do ponto máximo do pico até a reta tangente à base, perpendicularmente ao eixo x e paralelamente ao eixo y. Essa altura, medida em unidades de corrente é I_p , assim como evidenciado na Figura 7 (ALEIXO, 2003).

Figura 7 – Voltamograma de pulso diferencial. (I = corrente; Ip = corrente de pico; E = potencial)



Fonte: Aleixo, 2003

O registro de diferentes correntes faz com que a corrente capacitiva seja compensada, dessa forma a sensibilidade da técnica de pulso diferencial ultrapassa à polarografia clássica, sendo capaz de atingir limites de detecção da ordem de 10^{-7} a 10^{-8} molL⁻¹. A definição e nitidez da técnica também é melhorada. É importante que antes de realizar uma análise seja feita uma otimização de parâmetros. Na DPV um dos parâmetros é o valor da amplitude do pulso a ser aplicado (ALEIXO, 2003). Esse parâmetro afeta o resultado da corrente de pico, conforme pode ser visto na Equação 1, para um processo termodinamicamente totalmente reversível e controlado por difusão:

$$i_p = \frac{nFAD^{\frac{1}{2}}C}{\sqrt{\pi t_m}} \left(\frac{1 - \sigma}{1 + \sigma} \right) \quad (1)$$

Fonte: Pacheco, 2013

Sendo: i_p = corrente do pico (μA); n = número de elétrons envolvido na reação redox; F = constante de Faraday (coulombs); A = área do eletrodo (cm^2); t_m = tempo entre o segunda e a primeira leitura de corrente (s); D = coeficiente de difusão (cm^2s^{-1}); C = concentração do analito ($mmol L^{-1}$); $\sigma = \exp(nF\Delta E / 2RT)$; ΔE = amplitude do pulso (PACHECO et al., 2013).

Por meio da equação desenvolvida por Parry e Osteryoung, Equação 1, pode-se confirmar que I_p é proporcional à concentração da espécie eletroativa assim como a amplitude de pulso. Ou seja, se o valor de corrente tende a aumentar, a amplitude de pulso também aumenta, sendo então maior a sensibilidade. Entretanto, o aumento da amplitude resulta em um alargamento do pico, diminuindo a resolução do resultado. Portanto, a

escolha do valor de amplitude deve se equilibrar entre o aumento da sensibilidade e a perda de resolução. Além da amplitude a velocidade de varredura, intervalo de tempo e modulação do tempo são outros parâmetros a se determinar (ALEIXO, 2003).

O potencial de pico, E_p , também tem a finalidade de identificar espécies, pois os picos aparecem próximos ao potencial de meia-onda da análise voltamétrica realizada: (PACHECO et al., 2013).

$$E_p = E_{\frac{1}{2}} - \frac{\Delta E_{\frac{1}{2}}}{2} \quad (2)$$

A DPV, apresenta diversas vantagens, principalmente pela alta sensibilidade, também é vantajosa no baixo volume usado de amostras, curto tempo de análise, maior confiabilidade e facilidade de manipulação (METTERS; KADARA; BANKS, 2012). Além disso, as técnicas voltamétricas oferecem maior seletividade para espécies eletroativas, menores limites de detecção e custo de instrumentação (WATWE; KULKARNI, 2021).

Como visto, a DPV apresenta boa seletividade e sensibilidade na determinação de compostos em diferentes matrizes, e para tornar o método ainda mais sensível modificações podem ser realizadas nos eletrodos. Por essa razão cada vez mais estudos de modificadores são realizados, a fim de aumentar a aplicabilidade da técnica.

3.3. Sensores voltamétricos modificados

A modificação da superfície de eletrodos é uma área de pesquisa muito importante da eletroanálise, pois essas modificações podem melhorar características analíticas, como sensibilidade, seletividade, faixa linear, limites de detecção, quantificação, entre outras. Eletrodos modificados mostram uma ampla gama de aplicações. A maioria dos estudos utilizam modificadores para conferir sensibilidade e seletividade ao sensor eletroquímico, detectando especificamente espécies dissolvidas ou grupos moleculares funcionais (GUIMARÃES et al., 2011).

A seleção dos materiais que podem ser usados como modificadores devem ser avaliadas quanto a hidrofiliicidade de sua superfície, seletividade, condutividade, porosidade e grupos funcionais, para que seja compreendida sua contribuição na reação

redox do analito e também quais as estratégias de modificação podem ser utilizadas (BILGE et al., 2022).

Existem diversas metodologias para modificação de sensores voltamétricos. Em eletrodos de pasta de carbono a modificação geralmente é realizada por meio da mistura de grafite em pó, aglutinante e material modificador. Os aglutinantes utilizados para a produção da pasta de carbono devem ser imiscíveis em água, possuir baixa volatilidade e alta viscosidade, tais como: óleo de parafina, hexadecano, óleo de silicone e, o mais utilizado, óleo mineral (MICHALKIEWICZ; SKORUPA; JAKUBCZYK, 2021).

Os sensores eletroquímicos modificados com materiais carbonáceos, como os nanotubos, grafenos, carvão ativado e fulereno, apresentam como características grande área superficial, estabilidade, alta condutividade elétrica e facilidade de funcionalização (SAJID; BAIG; ALHOOSHANI, 2019; MORAES, 2010; ALVES, 2020).

Uma opção de material carbonáceo que pode ser usado como modificador são os biocarvões. Esses materiais apresentam baixo custo de produção, estrutura porosa, alta estabilidade, além de serem ambientalmente correto. (DE OLIVEIRA et al., 2017; DONG et al., 2018).

3.4. Biocarvão

O biocarvão é um material poroso rico em carbono produzido por meio da conversão térmica da biomassa sob temperaturas que variam de 200 a 700°C na ausência de oxigênio ou em quantidades limitadas deste elemento (OLIVEIRA et al., 2021; VUPPALADADIYAM et al., 2023).

Biocarvões produzidos a partir de resíduos agrícolas e madeira apresentam altos teores de carbono e grande área superficial, pois nesses materiais há uma grande quantidade de hemicelulose, celulose e lignina. Já biocarvões derivados de esterco animal e resíduos como lodo de esgoto apresentam alto rendimento, teores de cinzas e baixos teores de carbono e área superficial, além da presença de compostos inorgânicos em sua composição (WANG et al., 2017) .

Para habilitar e maximizar a usabilidade do biocarvão, pode-se realizar sua modificação. Os métodos usados na modificação podem ser classificados como físicos e químicos, sendo realizados durante ou após a formação do material (XIE et al., 2022).

Os métodos químicos incluem a modificação ácida, em que são adicionados grupos funcionais como -CO e -COOH, por meio de uma reação de oxidação entre os agentes oxidantes (HCl, HNO₃, H₂O₂ e H₃PO₄) e o biocarvão. Além de possibilitar a adição de grupos funcionais, esta modificação possibilita a alteração do volume de poros e estrutura dos biocarvões (XIE et al., 2022).

Já métodos físicos expõem o biocarvão a um fluxo de agentes gaseificantes, como, CO₂, amônia e ar, em diferentes temperaturas. O uso destes agentes pode contribuir para o aumento da área superficial específica e porosidade, promovendo uma estrutura microporosa aumentada dos poros (XIE et al., 2022).

Os biocarvões também possuem grande área superficial, alta capacidade de troca iônica e excelente condutividade elétrica, justificando seu importante uso na modificação de sensores eletroquímicos (DE ALMEIDA et al., 2020). O biocarvão, quando utilizado na modificação de sensores eletroquímicos, apresenta diversas vantagens, como estabilidade, seletividade, longa vida útil e simplicidade. Além disso, esse material é capaz de tornar o método eletroanalítico desenvolvido mais sustentável, rápido e barato, se comparado a outros métodos eletroanalíticos (VILELA, 2021; GARCIA, 2021; DE ALMEIDA et al., 2020).

As propriedades físicas e químicas do biocarvão dependem da matéria prima e da tecnologia da pirólise. As matérias primas advêm principalmente a partir de biomassa agrícola, um dos recursos mais abundantes do planeta (GUILHEN, 2018).

Sendo assim, diversas metodologias eletroanalíticas têm sido desenvolvidas utilizando biocarvões como modificadores de eletrodos de trabalho. O biocarvão de torta de macaúba é uma possibilidade de modificador a ser investigada.

3.4.1 Macaúba e Biocarvão de Macaúba

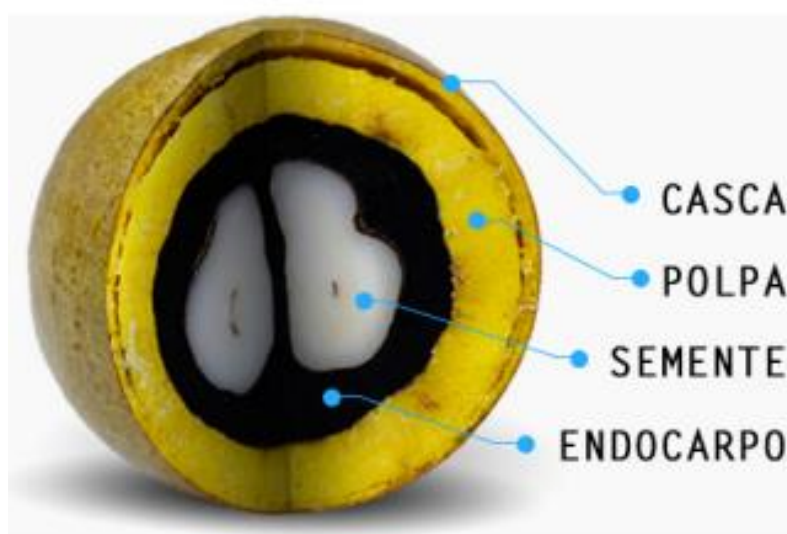
A macaúba (*Acrocomia aculeata*) é uma palmeira natural do território brasileiro pertencente à família botânica Palmae e é comum em grande parte do território nacional. Ela apresenta características importantes por ser arborescente, espinhosa, ter mais de 15m de altura e se adaptar facilmente em diferentes tipos de solos e climas. É uma planta perene que vive cerca de cem anos e não necessita de alta umidade para sobreviver, (GAMBETTA; EVARISTO; TORRES, 2023) sendo uma cultura tolerante à seca a às

baixas temperaturas e com ampla distribuição geográfica. No Brasil, ocorre principalmente em Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (RATTER; BRIDGEWATER; RIBEIRO, 2003).

A macaúba possibilita o aproveitamento em diversos ramos industriais. De seu fruto pode extrair o óleo não só de sua polpa como também de sua amêndoa. O óleo extraído da polpa é destinado grande parte à produção de biodiesel e aquele extraído da amêndoa usado para consumo humano em alimentos e componentes cosméticos. Apesar do grande aproveitamento da palmeira, esse processo gera altas quantidades de resíduos de biomassa, os quais podem ser aproveitados para produção do biocarvão (GUILHEN, 2018).

O coco da macaúba tem formato esférico e é formado 20% de casca (ou epicarpo), 40% de polpa (ou mesocarpo), 33% de endocarpo e 7% de amêndoa (endosperma) (FARIA, 2010). Na Figura 8 podemos observar as partes do coco da macaúba.

Figura 8 – Coco da macaúba e suas partes



Fonte: (QUEIROGA et al., 2021)

Carvão, óleo das amêndoas, cosmético, alimentação humana, geração de energia, biodiesel, ração animal são algumas aplicações que o fruto da macaúba oferece. A macaúba pode ser considerada uma das espécies com maior potencial de exploração econômica imediata devido a elevada produtividade de óleos e aproveitamento total dos

coprodutos. Visando os conceitos ambientais, sociais e econômicos, cultivar a palmeira da macaúba é altamente sustentável (CICONINI, 2012).

O biocarvão produzido através do endocarpo da macaúba, é reconhecido por seu grande potencial como material adsorvente para remoção de contaminantes de água, sendo possível devido a técnicas de produção do carvão e sua posterior ativação que geram um produto com características adequadas. As etapas do processo de produção são: pré-tratamento da matéria prima, pirolise e a ativação física. Esses parâmetros do processo necessitam de cuidado e a quantidade de matéria prima, as condições da pirolise, o tempo de carbonização, temperatura de cada etapa e os tamanhos das partículas devem ser definidos cuidadosamente. Além disso, os grupos funcionais de superfície do biocarvão de macaúba podem fornecer uma grande quantidade de sítios ligantes (GUILHEN, 2018; SENA, 2020).

O biocarvão de macaúba apresenta algumas propriedades que são interessantes para sua aplicação em sensores eletroquímicos, como sua capacidade adsorviva já destacada anteriormente, devido a presença de grupos funcionais aromáticos e fenólicos, provenientes de carboidratos, proteínas, lignina, celulose e água adsorvida. Além disso, os oxigênios presentes em sua superfície permitem que esse material realize troca iônica. (TEÓFILO et al., 2018).

Portanto, a utilização da macaúba para produção de biocarvão tem se mostrado promissora para utilização como materiais adsorventes. Apesar de apresentarem propriedades importantes na aplicação em eletrodos, até o momento nenhum trabalho foi encontrado na literatura para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Neste trabalho, o biocarvão de macaúba foi utilizado no desenvolvimento de uma metodologia para quantificação de CF em bebidas e cápsulas de cafeína, fornecendo assim mais uma aplicação ao material.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e soluções

Para o preparo das soluções de eletrólito suporte, foram usados cloreto de potássio (KCl, 99,5%, Merck) e ácido acético glacial P.A. (CH₃COOH, 99,7%, Synth). Para confecção das pastas de carbono usadas com modificador de macaúba foram necessários

grafite em pó (Synth), óleo mineral (Nujol®) e de biocarvão de Macaúba, cedido pelo Laboratório de Catálise e Biocombustível (LACAB) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Para o preparo da solução estoque de CF ($1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) foi realizado utilizando padrão de CF de alta pureza. ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$, 99%, Sigma-Aldrich®).

4.2. Preparo de amostras

4.2.1. Café solúvel

O café solúvel usado para análise foi adquirido no comércio local da cidade de Lavras-MG.

Para a análise do café solúvel, contendo a CF, foi pesado 1g de amostra. Após a pesagem, o café foi dissolvido em 70,0 mL de água destilada a 90°C e a solução foi transferida para um balão volumétrico de 100,0 mL, fazendo uma solução de $1,93 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O volume adicionado na célula eletroquímica foi de 258 μL , o cálculo foi realizado com base em informações do fabricante que afirmam que a massa de CF contida em 240 mL de café é 90 mg.

4.2.2. Cápsula de Cafeína

A cápsula de cafeína de 400mg de CF por porção diária (2 cápsulas), foi adquirida no comércio da cidade de Lavras-MG.

Para esta análise foram pesadas 1,169 g de comprimido. Após a pesagem, a massa obtida foi dissolvida em 200,0 mL de água destilada e filtrada à vácuo, utilizando em uma bomba à vácuo da marca Tecnal – TE-058, com filtro de papel quantitativo de 20-25 micro da marca Química Moderna, um funil e um kitassato. A solução filtrada foi transferida para um balão volumétrico de 500,0 mL, obtendo uma solução de concentração de $4,12 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.3. Refrigerante a base de cola tradicional

Para a análise da Refrigerante a base de cola tradicional foram pipetados 971 μL na célula eletroquímica. Esse valor foi calculado com base nas informações disponibilizadas pela fabricante que afirma que em um volume de 350mL da bebida há em média 35 mg de CF. (“Oito curiosidades sobre a Coca-Cola Plus Café Espresso”, [s.d.]).

4.2.4. Refrigerante a base de cola com extrato de café

A Refrigerante a base de cola com extrato de café tem cerca de 40% a mais de CF que a Refrigerante a base de cola tradicional. Para a análise da Refrigerante a base de cola com extrato de café foram pipetados 689 μ L na célula eletroquímica. Esse valor foi calculado com base nas informações disponibilizadas pela fabricante que afirma que em um volume de 220mL da bebida há em média 31 mg de CF. (“Oito curiosidades sobre a Coca-Cola Plus Café Espresso”, [s.d.]

4.3. Equipamentos

Os experimentos eletroquímicos foram conduzidos utilizando um potenciostato Autolab Type III (Metrohm®) e a coleta dos dados foram realizadas por meio do software NOVA 2.1 da Metrohm®.

4.4. Estudos voltamétricos

Uma célula eletroquímica de 15mL foi usada para realização das análises por voltamétrica de pulso diferencial (DPV). A célula foi composta por um arranjo de três eletrodos. O eletrodo de trabalho foi o de pasta de carbono modificado com biocarvão de macaúba. O eletrodo de referência foi o de Ag|AgCl|KCl_{sat} e eletrodo auxiliar o de fio de platina. O estudo do comportamento voltamétrico da CF foi realizado utilizando-se a técnica de DPV em uma janela de potencial de 1,2 a 1,7 V vs Ag|AgCl|KCl_{sat}. Nesta técnica foram avaliados o melhor eletrólito de suporte, a porcentagem das pastas de carbono modificadas com macaúba e velocidade de varredura (v). Os parâmetros analíticos de desempenho (coeficiente de determinação (R^2), faixa linear, limite de quantificação (LOQ) e limite de detecção (LOD) foram avaliados.

4.4.1. Eletrólito de suporte

Para otimização do eletrólito de suporte, foram avaliados o tampão acetato, 0,1mol L⁻¹ em uma faixa de pH de 4,0 a 5,5 com KCl (0,1 mol L⁻¹), e o tampão fosfato 0,1mol L⁻¹ nas faixas de pH de 6,5 a 8,0 e de 1,5 a 3,0 com KCl (0,1 mol L⁻¹). Os voltamogramas foram obtidos em uma janela de potencial variando de 1,0 a 1,9V, step 0,01V, amplitude 0,07V, modulação de tempo 0,003s e intervalo de tempo 0,1s. O eletrodo de trabalho utilizado foi o de pasta de carbono modificado com biocarvão de macaúba, em uma proporção de 20% de biocarvão de macaúba, 50% grafite e 30% aglutinante.

As soluções de eletrólitos suporte foram avaliadas na técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV). Para esta otimização, em uma célula eletroquímica foram adicionados 10,0 mL do eletrólito de suporte avaliado e 100 μL da solução estoque de CF ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

4.4.2. Preparo das pastas de carbono modificadas e escolha da melhor proporção

A obtenção das pastas de carbono se deu pela mistura do modificador (biocarvão de macaúba), óleo mineral (aglutinante) e grafite. As proporções de modificador, grafite e aglutinante usadas para otimização da pasta, foram definidas a partir do trabalho realizado por Teixeira e colaboradores (2019), e estão apresentadas na Tabela 1 (DE C. TEIXEIRA et al., 2019).

Tabela 1 – Proporções em % (m/m) dos componentes da utilizados na confecção da pasta.

Proporções (m/m)	Pó de grafite (%)	Modificador (%)	Aglutinante (%)
a	60	0	40
b	60	10	30
c	50	20	30
d	40	30	30
e	30	30	40
f	20	40	40
g	10	50	40
h	0	60	40

Fonte: Adptado de (DE C. TEIXEIRA et al., 2019)

As pastas foram testadas em eletrólito suporte solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5,0 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), em uma concentração de CF de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A janela de potencial utilizada foi de 1,0 a 1,9V.

4.4.3. Otimização de parâmetros da voltametria de pulso diferencial

Os parâmetros da DPV: amplitude de pulso, modulação do tempo, step e intervalo de tempo foram avaliados utilizando 10,0 mL do eletrólito de suporte selecionado na

presença de CF na concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. As faixas de otimização de cada um dos parâmetros estudados estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 — Faixas de otimização dos parâmetros da DPV

Parâmetros (DPV)	Faixa de otimização
Amplitude de pulso (E_{puls})	10 a 300 mV
Modulação de tempo (t_{mod})	1 a 20 ms
Step (E_{step})	1 a 20 mV
Intervalo de pulso (t_{int})	0,025 a 1 s

Fonte: Do Autor, 2023

4.4.4. Avaliação do transporte de massa - velocidade de varredura

A otimização da velocidade de varredura foi realizada por voltametria cíclica (CV) em uma janela de potencial de 1,2 a 1,7V vs Ag|AgCl|KCl(sat), . Para esta análise, foi utilizado 10,0 mL do eletrólito de suporte solução tampão acetato em pH 5 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e o eletrodo de trabalho usado foi eletrodo selecionado na otimização das proporções da pasta de carbono (20% modificador, 50% grafite e 30% aglutinante). As velocidades foram testadas de 20 a 500 mV s^{-1} para o estudo da irreversibilidade do sistema e transporte de massa.

4.5. Curva analítica

4.5.1. Curva analítica na ausência de matriz

A curva analítica na ausência de matriz foi construída por meio de adições seguidas de 10 μL de uma solução estoque de CF em uma concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Para o desenvolvimento da curva analítica foi utilizada uma célula eletroquímica contendo 10,0 mL do eletrólito de suporte selecionado, o eletrodo de pasta de carbono (EPC) nas proporções de 50% grafite, 20% biocarvão de macaúba e 30% de aglutinante, nos parâmetros voltamétricos selecionados para DPV. A partir da curva construída, a equação obtida foi usada para calcular os limites de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) (Equações 3 e 4). O desvio padrão do branco (Sb) foi calculado por meio das correntes de pico anódico (I_{pa}) de dez análises em branco, medidos no mesmo potencial de pico (E_{pa}) do analito (HARRIS; KOWALEWSKI; DE MENEZES, 1998).

$$LOD = \frac{(3 \times S_b)}{b} \quad (3)$$

$$LOQ = \frac{(10 \times S_b)}{b} \quad (4)$$

Em que, S_b é o desvio padrão do branco e b é a inclinação da curva analítica.

4.5.2. Curva analítica na presença de matriz

A quantificação da CF nas amostras selecionadas ocorreu por meio da adição da solução das amostras junto ao eletrólito de suporte. Após a obtenção do voltamograma da solução eletrolítica contendo apenas a amostra, foram realizadas adições sucessivas de 10 μL de uma solução estoque de $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de CF e da adição da solução inicial do analito, em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, foi construída uma curva analítica. Para o desenvolvimento da curva analítica foi utilizada uma célula eletroquímica contendo 10,0 mL do eletrólito de suporte selecionado, o EPC nas proporções de 50% grafite, 20% biocarvão de macaúba e 30% de aglutinante, nos parâmetros voltamétricos selecionados para DPV. A faixa de potencial aplicada foi de 1,2 a 1,7V. Por meio dos parâmetros da curva analítica, foram calculados o LOD, LOQ (Equações 3 e 4) e o efeito matriz (EM).

No cálculo do EM é realizada a comparação entre as inclinações da curva analítica não matrizada e da curva analítica matrizada, conforme a Equação 5.

$$EM = \frac{bm - bs}{bs} \quad (5)$$

Em que bm é a inclinação da reta da curva matrizada e bs é inclinação da reta da curva na ausência de matriz.

4.6. Determinação de cafeína em diferentes amostras

4.6.1. Determinação de cafeína em amostra de café solúvel

Nas amostras de café solúvel granulado, foi realizada a construção de uma curva analítica por adição de padrão em uma faixa de concentração de $1,209 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,609 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Na célula eletroquímica foram adicionados 9,9 mL do eletrólito de suporte, 258 μL da solução de café solúvel $1,9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e foram realizadas adições

sucessivas de 10,0 µL de uma solução padrão de CF $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. A determinação da concentração real de CF foi realizada por meio da extrapolação da curva analítica

4.6.2 Determinação de cafeína em Refrigerante a base de cola tradicional

Uma curva analítica matrizada foi construída para determinar a CF na Refrigerante a base de cola tradicional (II). No procedimento realizado foi feita a adição de 971 µL de Refrigerante a base de cola tradicional em 9,0 mL do eletrólito de suporte na célula eletroquímica. Em seguida, foram realizadas adições sucessivas de 10,0 µL da solução padrão do analito em uma concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. A curva analítica foi construída e na faixa linear de $4,73 \times 10^{-5}$ a $1,17 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (II), além disso, foram calculados os parâmetros analíticos LOQ, LOD e efeito de matriz (EM). A determinação da concentração real de CF foi realizada por meio da extrapolação da curva analítica

4.6.3. Determinação de cafeína em Refrigerante a base de cola com extrato de café

Uma curva analítica matrizada foi construída para determinar a CF Refrigerante a base de cola com extrato de café (III). No procedimento realizado foi feita a adição de 689 µL de Refrigerante a base de cola com extrato de café expresso em 9,4 mL do eletrólito de suporte na célula eletroquímica. Em seguida, foram realizadas adições sucessivas de 10,0 µL da solução padrão do analito em uma concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. A curva analítica foi construída e na faixa linear de $8,095 \times 10^{-5}$ a $1,609 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (III), além disso, calculados os parâmetros analíticos LOQ, LOD e efeito de matriz (EM). A determinação da concentração real de CF foi realizada por meio da extrapolação da curva analítica

4.6.4 Determinação de cafeína em cápsula estimulante do sistema nervoso central

Para a determinação de CF na cápsula foi realizada a construção de uma curva analítica matrizada. Nesse processo foi feita a adição de 121 µL de solução da cápsula de CF em 9,9 mL do eletrólito de suporte na célula eletroquímica. Em seguida, foi realizado adições sucessivas de 10,0 µL da solução padrão do analito em uma concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. A curva analítica foi construída na faixa linear de $5,119 \times 10^{-5}$ a $1,119 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e foram avaliados os parâmetros analíticos LOD, LOQ e efeito de matriz (EM). A determinação da concentração real de CF foi realizada por meio da extrapolação da curva analítica

4.7. Ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade

O ensaio de repetibilidade foi realizado por meio de análises realizadas em DPV em uma janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. Para realização deste teste na presença de matriz, é adicionado a célula um volume de 10mL de eletrólito e o volume de amostra, conforme descrito para as curvas matrizadas. Já para amostras que não possuem efeito de matriz é adicionado à solução estoque de CF $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Após a adição, foram feitas 10 análises consecutivas sem o polimento do eletrodo de trabalho entre cada uma das análises.

No teste de reprodutibilidade as 10 análises consecutivas também foram feitas, entretanto, diferente do teste de repetibilidade, o eletrodo de trabalho foi polido entre cada uma das análises.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

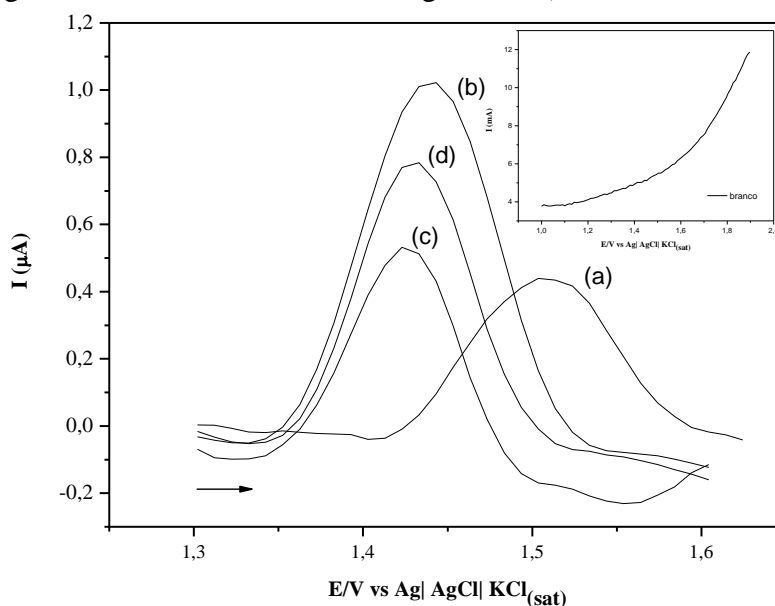
5.1. Seleção do pH e eletrólito de suporte ideal

Para estudo do eletrólito de suporte foram selecionados o tampão acetato e o tampão fosfato, ambos com a presença de KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). O eletrólito de suporte tem como intuito de conferir à solução e à interface em estudo uma série de propriedades. Tais propriedades, em geral são resultantes da manutenção da força iônica alta e constante da solução, o que simplifica a análise do sistema eletroquímico (AGOSTINHO et al., 2004).

Além disso, o pH da solução também foi analisado, sob conhecimento da região de tamponamento do ácido acético. A faixa de estudo de pH foi de 4,0 a 5,5, já que o pKa do ácido é 4,76 (LI, 1923). Entretanto, o tampão fosfato, possui três regiões de tamponamento, sendo uma mais ácida (pH: 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0), outra com pH na região básica (pH: 11,5; 12,0; 12,5 e 13,0) e na região central com pH neutro (pH: 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0), isso se dá pois o ácido fosfórico (H_3PO_4) sofre desprotonação, uma vez que os três hidrogênios de sua estrutura podem ser retirados, o que justifica o ácido possuir três pKas (pKa1 = 2,14; pKa2 = 6,86 e pKa3 = 12,4) (BIOCIÊNCIAS, 2023).

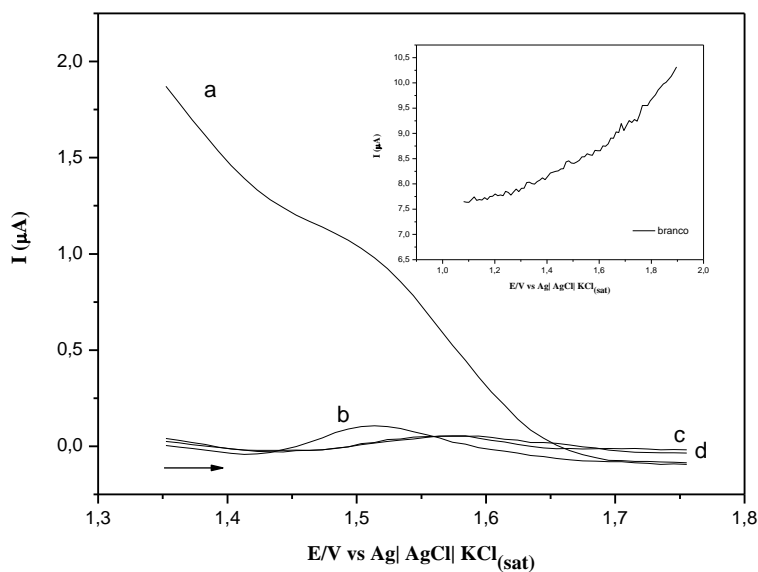
No presente trabalho as faixas de tamponamento usadas para estudo do tampão fosfato foram as faixas mais ácida e a central, isso pois, apesar do pKa da CF ser próximo a 14, a adsorção química de CF é melhor em pHs ácidos e neutros (SOTELO et al., 2012); (JAIME, 2016). Os resultados obtidos são mostrados nas Figuras 9, 10 e 11.

Figura 9 – Voltamogramas DPV: solução tampão acetato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl ($0,1\text{ mol L}^{-1}$) na presença de CF ($1,0 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$) em pHs: (a) 4,0; (b) 5,0; (c) 4,5; (d) 5,5. Janela de potencial de 1,3 a 1,65 V, step 0,01V, amplitude 0,07V, modulação de tempo 0,003s e intervalo de tempo 0,1s. EPCM/BM (40:30:30 de grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



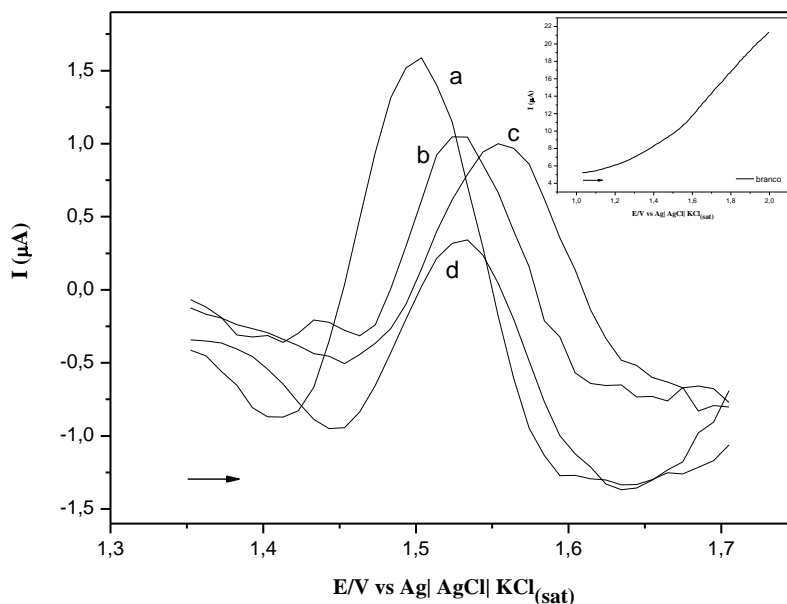
Fonte: Do Autor, 2023

Figura 10 – Voltamogramas DPV: solução tampão fosfato $0,1\text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl ($0,1\text{ mol L}^{-1}$) na presença de CF ($1,0 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$) em pHs: (a) 2,0; (b) 2,5; (c) 3,0; (d) 1,5. Janela de potencial de 1,3 a 1,7 V, step 0,01V, amplitude 0,07V, modulação de tempo 0,003s e intervalo de tempo 0,1s. EPCM/BM (40:30:30 de grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

Figura 11 – Voltamogramas DPV: solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ contendo KCl (0,1 mol L⁻¹) na presença de CF (1,0 x10⁻⁴ mol L⁻¹) em pHs: (a) 7,0; (b) 6,5; (c) 8,0; (d) 7,5. Janela de potencial de 1,3 a 1,7 V, step 0,01V, amplitude 0,07V, modulação de tempo 0,003s e intervalo de tempo 0,1s. EPCM/BM (40:30:30 de grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

Os valores de I_{pa} e E_{pa} dos voltamogramas obtidos nas análises realizadas utilizando tampão acetato e fosfato como eletrólito em diferentes pH são apresentados na Tabela 3 e 4.

Tabela 3 - Valores de I_{pa} e E_{pa} em tampão acetato em pH 4,0; 4,5; 5,0 e 5,5. Obtido em uma janela de potencial de 1,3 a 1,65 V. EPCM/BM (40:30:30 de grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante)

pH	I _{pa} (A)	E _{pa} (V)
4,0	4,88x10 ⁻⁶	1,50
4,5	6,71x10 ⁻⁶	1,42
5,0	1,11x10 ⁻⁵	1,44
5,5	8,45x10 ⁻⁶	1,43

Fonte: Do Autor, 2023

Tabela 4 - Valores de I_{pa} e E_{pa} em tampão fosfato em pH 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0. Obtido em uma janela de potencial de 1,3 a 1,65 V vs. Ag|AgCl|KCl(sat). EPCM/BM (40:30:30 de grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante)

pH	Ipa (A)	Epa (V)
1,5	1,47x10 ⁻⁶	1,53
2,0	2,65x10 ⁻⁶	1,49
2,5	1,48x10 ⁻⁶	1,54
3,0	1,56x10 ⁻⁶	1,56
6,5	1,49x10 ⁻⁶	1,50
7,0	1,81x10 ⁻⁶	1,53
7,5	8,40x10 ⁻⁷	1,59
8,0	7,23x10 ⁻⁷	1,57

Fonte: Do Autor, 2023

Observando os voltamogramas apresentado nas Figuras 7, 8 e 9 e os valores apresentados na Tabela 3 e 4, percebe-se que as Ipa obtidas para a oxidação da CF utilizando o tampão acetado (0,1 mol L⁻¹) com KCl (0,1 mol L⁻¹) como eletrólito suporte apresentou melhores resultados, ou seja, maior valor de Ipa, devido ao pico anódico resultante se comparado a utilização do tampão fosfato, além disso, os voltamogramas obtidos em tampão fosfato apresentaram alargamento e ruídos, o que pode dificultar a visualização do pico do analito em menores concentrações. Por essa razão, o eletrólito escolhido foi a solução tampão acetato (0,1 mol L⁻¹) com KCl (0,1 mol L⁻¹).

Analisando os resultados obtidos em cada um dos pHs estudados, o pH 5, em solução de tampão acetato foi escolhido para a continuação do trabalho, pois sua Ipa foi maior, 1,11x10⁻⁵ A.

5.2. Escolha da pasta modificada

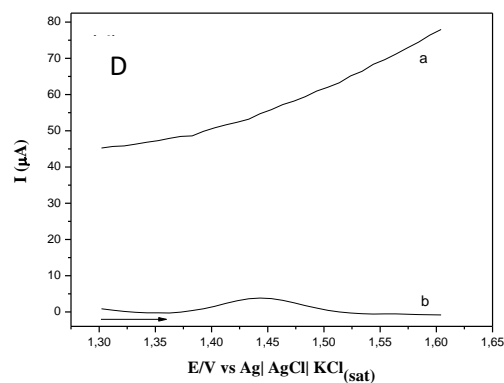
O comportamento do biocarvão de macaúba como modificador da pasta de carbono para determinação de CF foi avaliado por meio de diferentes proporções dos componentes da pasta de carbono. A partir das análises realizadas foi possível observar que pequenas variações nas proporções da pasta, foram suficientes para apresentar resultados voltamétricos distintos.

A Tabela 5 apresenta os voltamogramas obtidos por DPV nas diferentes proporções de pastas, e a Figura 12 apresenta a imagem das pastas preparadas para o experimento.

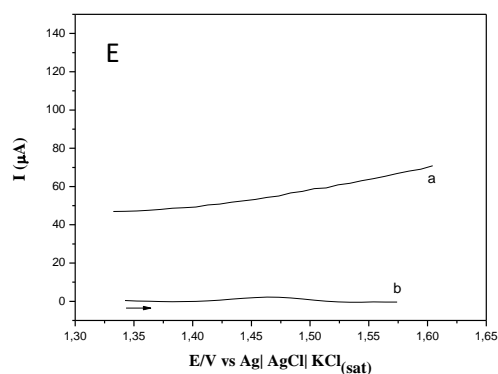
Tabela 5 - Voltamogramas de pulso diferencial das proporções de pastas modificadas com Biocarvão de macaúba, na presença de CF ($1 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$) em solução tampão acetato ($0,1 \text{ molL}^{-1}$) contendo KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5. Janela de potencial 1,2 a 1,7V, step 0,01V, amplitude 0,07V, modulação de tempo 0,003s e intervalo de tempo 0,1s. (a) branco (b) voltamograma (Continua)

Pastas	% Proporção (m/m)	Voltamogramas
A	60% grafite 0% modificador e 40% aglutinante	
B	60% grafite, 10% modificador e 30% aglutinante	
C	50% grafite, 20% modificador e 30% aglutinante	

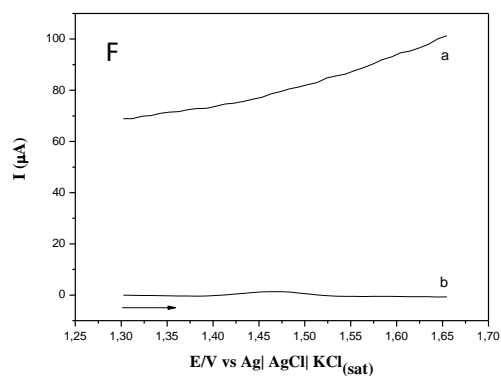
D 40% grafite, 30%
modificador e 30%
aglutinante



E 30% grafite, 30%
modificador e 40%
aglutinante



F 20% grafite, 40%
modificador e 40%
aglutinante



G 10% grafite, 50%
modificador e 40%
aglutinante

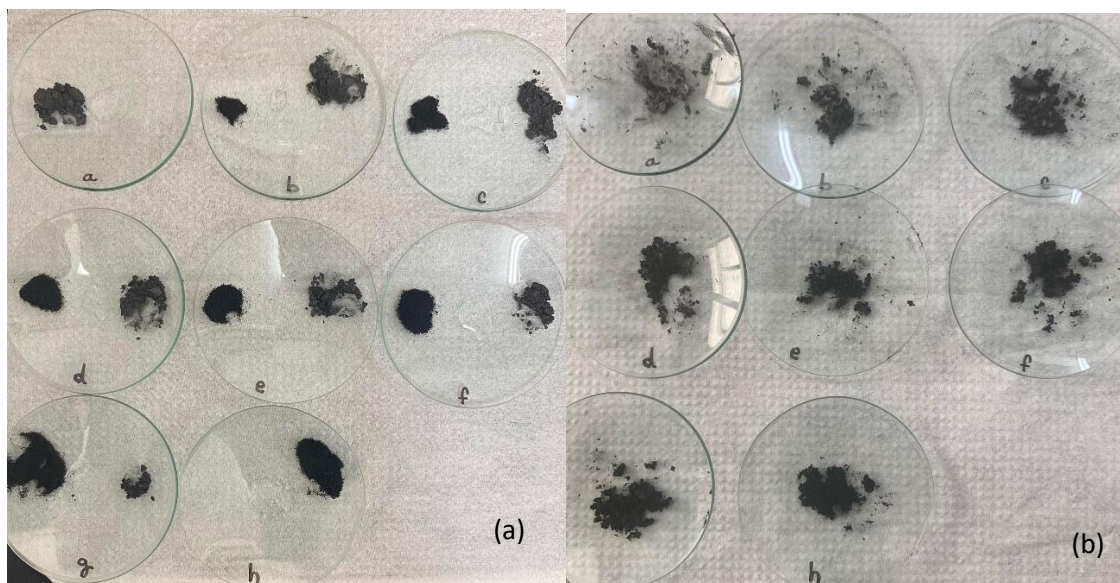
Não foi possível obter o voltamograma

H 0% grafite, 60%
modificador e 40%
aglutinante

Não foi possível obter o voltamograma

Fonte: Do Autor, 2023

Figura 12 – Imagem das proporções de pastas feitas no laboratório sobre vidros relógios, realizadas de acordo com as porcentagens da Tabela 5. (a) Componentes antes da mistura; (b) Componentes misturados formando a pasta de carbono.



Fonte: Do Autor, 2023

A presença do modificador de macaúba em conjunto com grafite e aglutinante provou-se eficiente para detecção de CF. Entretanto, a proporção das pastas “e”, e “f”, apresentaram correntes baixas se comparadas a pasta “a” e “b”, que resultou em picos de oxidação da CF em I_{pa} de $8,015 \times 10^{-6}$ e $7,962 \times 10^{-6}$ A, respectivamente. Nas pastas “g” e “h” o pico de oxidação característico do analito não apareceu. A partir dos voltamogramas, constatou-se que a pasta “c”, com 20% de modificador de macaúba, apresentou maior I_{pa} , $1,4 \times 10^{-5}$ A, como apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de I_{pc} e E_{pc} referentes as proporções de pastas estudadas para o biocarvão de macaúba, em uma janela de potencial de 1,2 a 1,7 V vs Ag|AgCl|KCl(sat). (Continua)

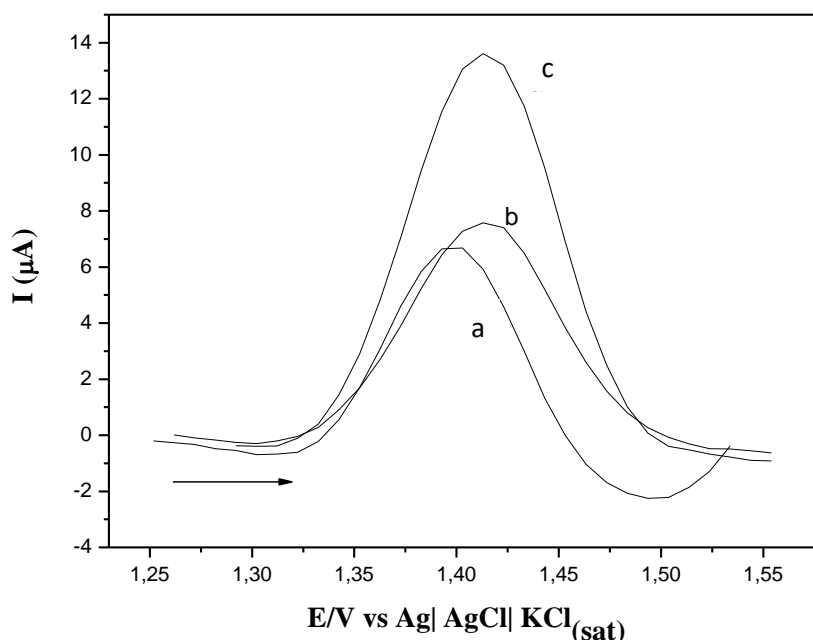
Pasta	Biocarvão de Macaúba	
	I_{pa} (A)	E_{pa} (V)
A	$8,015 \times 10^{-6}$	1,40
B	$7,962 \times 10^{-6}$	1,41
C	$1,407 \times 10^{-5}$	1,41
D	$4,235 \times 10^{-6}$	1,44

E	$2,503 \times 10^{-6}$	1,46
F	$1,816 \times 10^{-6}$	1,47
G	Não foi possível obter o voltamograma	Não foi possível obter o voltamograma
H	Não foi possível obter o voltamograma	Não foi possível obter o voltamograma

Fonte: Do Autor, 2023

Entre as pastas avaliadas, a selecionada para a realização dos experimentos foi a “c”, com as proporções de 50% de grafite, 20% de modificador e 30% de aglutinante, pois, devido apresentar a maior Ipa referente a oxidação da CF. A Figura 13 mostra a comparação entre os resultados das três melhores proporções referentes aos componentes da pasta de carbono (a, b e c).

Figura 13 - Voltamogramas em: (a) solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na presença de CF ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), pH 5, referentes as proporções de pastas (a) “a” (60: 00: 40: grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante), (b) “b” (60:10:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante) e (c) “c” (50: 20: 30: grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante). Janela de potencial de 1,25 a 1,55 V, step 0,01V, amplitude 0,07V, modulação de tempo 0,003s e intervalo de tempo 0,1s.



Fonte: Do Autor, 2023

O resultado obtido com a pasta de carbono modificada com biocarvão de macaúba pode estar relacionada à presença dos grupos funcionais da superfície do biocarvão, como estiramento de grupo OH de fenol, estiramento de grupos C=C de anéis aromáticos, vibração de ligação –CH de anéis aromáticos, deformação de –CO ligado a anel aromático, deformação de –CH de aromático fora do plano e vibrações relacionadas às ligações –CH de anel aromático. Resultados que foram obtidos por análise em Espectroscopia no Infravermelho do biocarvão de torta de macaúba realizado pela fabricante do biocarvão utilizado (TEÓFILO, 2019).

Análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) do biocarvão de macaúba indicou a presença, principalmente, de grupos funcionais de compostos aromáticos. O resultado da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) realizada no biocarvão de macaúba mostrou que o biocarvão apresentou estrutura heterogênea. A partir da análise imediata, foi possível verificar que o biocarvão apresentou drástica redução no teor de voláteis, se comparado com a torta de macaúba antes da pirólise (TEÓFILO, 2019).

Ao comparar a Ipa dos voltamogramas apresentados da Tabela 5, obtidos por meio do uso do eletrodo de trabalho de pasta de carbono modificado com biocarvão de macaúba, é possível notar uma melhora do sinal de oxidação do analito com a presença do modificador, principalmente na pasta “c” que contém 50% de grafite, 30% de aglutinante e 20% de modificador. A corrente de pico anódica (Ipa) aumenta significativamente e o Epa desloca para valores mais positivos, que levam a valores negativos da energia livre de Gibbs, ΔG , indicando a espontaneidade da reação a uma temperatura e pressão constantes (BROWN; LEMAY; BURSTEN, 2005). Sendo assim, quanto mais positivo for o potencial, mais fácil ocorrerá a reação redox.

As proporções de pastas de carbono “g” e “h”, nas proporções descritas na Tabela 5, apresentaram muitos ruídos. Devido a isso, não foi possível obter o pico de oxidação do analito. O motivo destes ruídos e da não detecção de CF pode ser devido à baixa homogeneidade da pasta, pois o biocarvão de macaúba, de acordo com Guilhen e colaboradores (2018), apresenta poros médios no tamanho de 38,3 nm, e isso pode dificultar a homogeneização entre o biocarvão e o aglutinante, fazendo a pasta perder suas características condutoras (GUILHEN, 2018).

A capacidade condutora da pasta também pode ter se perdido devido à baixa temperatura de pirólise de torta de macaúba, já que a conversão térmica desse material

foi realizada a 400°C. Segundo Gabhi e colaboradores (2020), a baixa temperatura de pirólise interfere na extensão de carbonização do biocarvão. Esta extensão está relacionada com a conversão de polímeros (lignina, hemicelulose, entre outras) em carbono amorfo, esse carbono apresenta orbitais sp² que facilitam a transferência de elétrons no material, aumentando a condutividade. Portanto, quanto menor a temperatura de pirólise menos carbono amorfo o biocarvão irá apresentar, e conseqüentemente o material terá menor capacidade condutora (GABHI et al., 2020) (TEÓFILO, 2019).

Nas análises micrográficas, observa-se que o biocarvão de macaúba possui uma estrutura heterogênea e esponjosa, além de poros longitudinais (TEÓFILO, 2019). De acordo com (LEE et al., 2013), esses poros (estruturas importantes para a propriedade adsorvente do biocarvão) são derivados do sistema vascular da biomassa, e que a decomposição térmica da celulose e hemiceluloses possibilita o aparecimento da estrutura da parede celular da biomassa que agora é composta, principalmente, de lignina modificada pelo calor. Todas essas características interferem da melhor detecção do analito pois há interações entre a superfície do biocarvão de macaúba e o analito, assim o sinal tende a aumentar com a presença do modificador na proporção adequada (TEÓFILO, 2019).

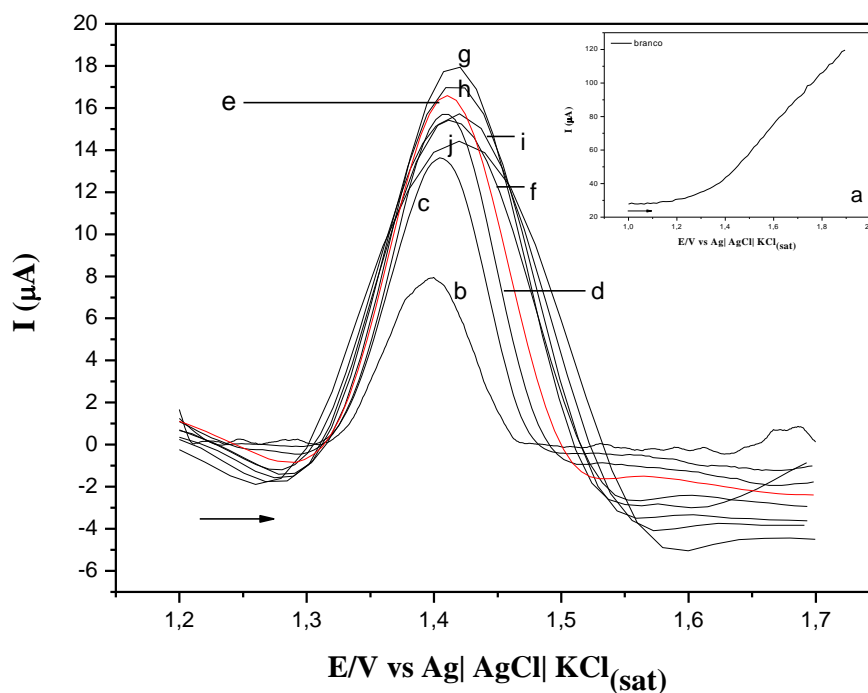
5.3. Otimização dos parâmetros da Voltametria de Pulso Diferencial

Nesta técnica voltamétrica foram otimizados os seguintes parâmetros: Epuls, tmod, Estep e tpuls. As análises foram realizadas considerando a maior Ipa.

5.3.1 Otimização do step

Para realizar a otimização do step, os parâmetros de Epuls, tmod e tint foram mantidos fixos em 70mV, 0,003s e 100ms, respectivamente e o step foi variado de 1 a 20 mV. Os voltamogramas obtidos estão apresentados na Figura 14.

Figura 14 — Voltamogramas obtidos por DPV em (a) solução de KCl (0,1 mol L⁻¹) com tampão acetato (0,1 mol L⁻¹). E na presença de CF (1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹) em: (b) 1 mV, (c) 3,0 mV, (d) 5,0 mV, (e) 7,0 mV, (f) 10 mV, (g) 13 mV, (h) 15 mV, (i) 17 mV, (j) 20 mV. EPCM/BM, tmod= 0,003 s, Epuls= 70 mV e tint= 100ms.



Fonte: Do Autor, 2023

Os valores obtidos de I_{pa} na otimização do step são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores de I_{pa} obtidos nos estudos do step.

Step (mV)	I_{pa} (A)
1	$5,78 \times 10^{-6}$
3	$1,39 \times 10^{-5}$
5	$1,68 \times 10^{-5}$
7	$1,89 \times 10^{-5}$
10	$2,09 \times 10^{-5}$
13	$2,17 \times 10^{-5}$
15	$2,31 \times 10^{-5}$
17	$2,35 \times 10^{-5}$
20	$2,40 \times 10^{-5}$

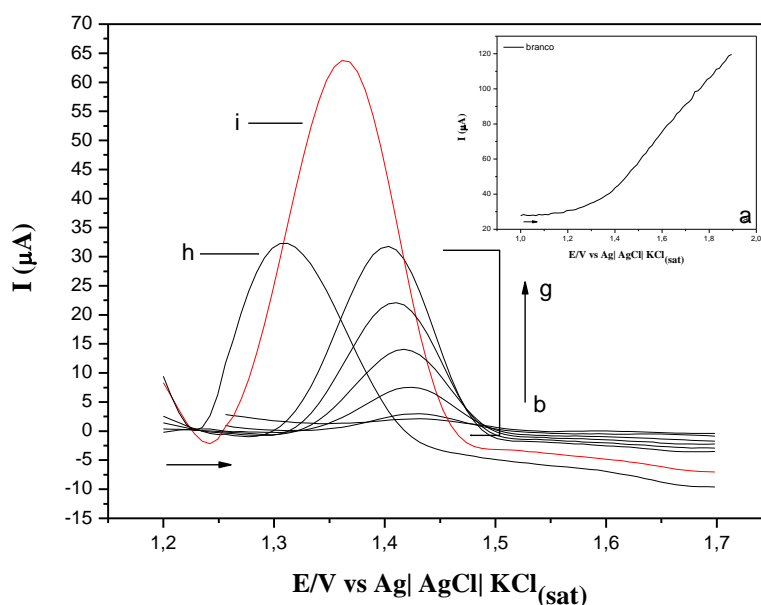
Fonte: Do Autor, 2023

A partir dos valores apresentados na Tabela 7, foi possível observar uma variação nos valores de I_{pa} . Após as análises das correntes de pico do analito, o step selecionado para a continuidade dos experimentos foi o de 7mV, devido a corrente apresentada. Outros valores de step, apesar de terem apresentado um valor de corrente superior ao de 7mV, problemas como enquadramento ou alargamento do pico puderam ser observados inviabilizando a escolha da condição para o step selecionado.

5.3.2 Otimização da amplitude de pulso

Para realizar os experimentos, a Epuls foi variada em uma faixa de 10 a 400 mV e os parâmetros tmod, Estep e tint foram mantidos fixos em 0,003s, 7mV e 100ms, respectivamente. Os voltamogramas obtidos estão apresentados na Figura 15.

Figura 15 — Voltamogramas obtidos por DPV em (a) solução de KCl (0,1 mol L⁻¹) com tampão acetato (0,1 mol L⁻¹). E na presença de CF (1,0x10⁻⁴ mol L⁻¹) em: (b)10mV, (c)20mV, (d) 40mV, (e) 60mV, (f)80mV, (g)100mV, (h) 300mV, (i)200mV. EPCM/BM, tmod= 0,003s, Estep= 7mV e tint= 100ms.



Fonte: Do Autor, 2023

Os valores obtidos para Ipa na otimização da amplitude são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores de Ipa obtidos nos estudos da amplitude.

Amplitude (mV)	Ipa (A)
10	1,74x10 ⁻⁶
20	2,68x10 ⁻⁶
40	7,63x10 ⁻⁶
60	1,47x10 ⁻⁵
80	2,32x10 ⁻⁵
100	3,26x10 ⁻⁵
200	6,61x10 ⁻⁵
300	2,89x10 ⁻⁵

Fonte: Do Autor, 2023

A partir dos voltamogramas apresentados na Figura 13 foi possível observar

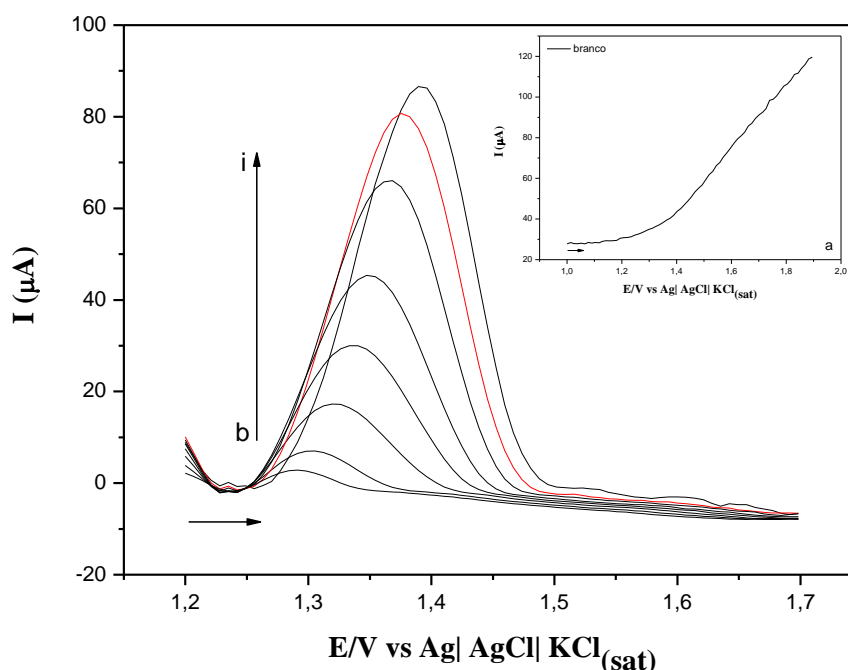
que os valores de I_{pa} aumentam de maneira proporcional aos valores de E_{puls} aplicados até 200 mV, após este valor ocorre uma inversão nas I_{pa} , ou seja, a I_{pa} em 200 mV é maior que em 300mV, como mostrado na Tabela 8. Isso ocorre pois, apesar do aumento da amplitude aumentar a corrente, também ocorre o alargamento do pico, o que pode levar à redução da I_{pa} . (ALEIXO, 2003)

Assim, o valor de E_{puls} selecionado foi de 200mV, pois apresentou um aumento considerável de I_{pa} .

5.3.3 Otimização da modulação de tempo

Para realizar este estudo, os outros parâmetros E_{puls} , E_{step} e t_{int} avaliados foram fixados em 200mV, 7mV e 100ms, respectivamente, e o t_{mod} foi variado de 1 a 20 ms. Os voltamogramas obtidos neste estudo estão apresentados na Figura 16.

Figura 16 — Voltamogramas obtidos por DPV em (a) solução de KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). E na presença de CF ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em: (b) 20ms, (c) 15ms, (d) 10ms, (e) 7ms, (f) 5ms, (g) 3ms, (h) 2ms, (i) 1ms. EPCM/BM, $E_{puls}= 200 \text{ mV}$, $E_{step}= 7 \text{ mV}$ e $t_{int}= 100\text{ms}$.



Fonte: Do Autor, 2023

Os voltamogramas mostrados na Figura 16 evidenciam a diminuição da I_{pa} com o aumento do tempo de modulação. Sendo assim, o t_{mod} selecionado foi o 2 ms, pois o t_{mod} aplicado em 1 ms, apesar de ter apresentado maior I_{pa} apresentou uma quantidade

de ruídos significativa, que pode alterar negativamente o resultado. Os valores obtidos para I_{pa} neste estudo são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores de I_{pa} obtidos nos estudos da modulação do tempo.

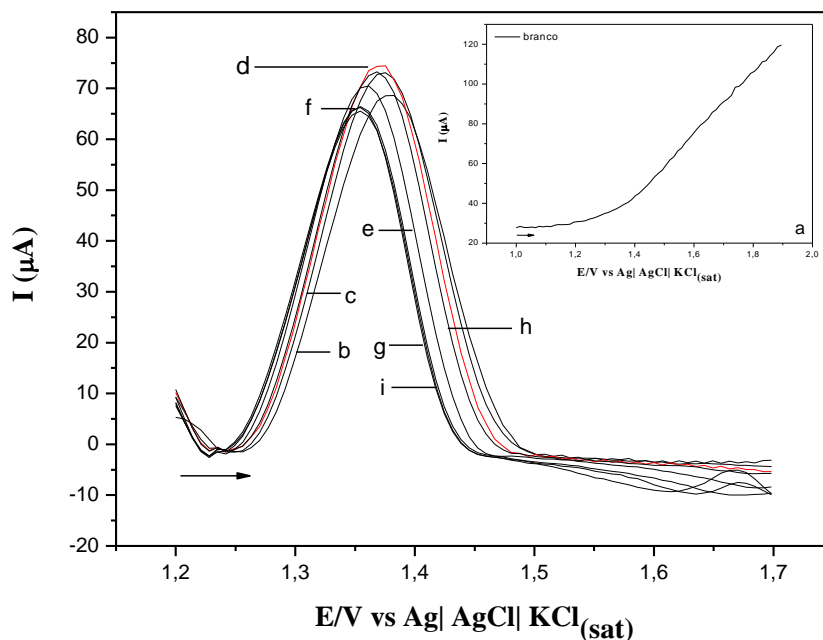
Modulação do tempo (ms)	I_{pa} (A)
1	$9,02 \times 10^{-5}$
2	$8,27 \times 10^{-5}$
3	$6,78 \times 10^{-5}$
5	$4,75 \times 10^{-5}$
7	$3,17 \times 10^{-5}$
10	$1,68 \times 10^{-5}$
15	$8,58 \times 10^{-6}$
20	$5,37 \times 10^{-6}$

Fonte: Do Autor, 2023

5.3.4 Otimização do intervalo de tempo

Neste estudo, os parâmetros já otimizados foram fixados e o t_{int} foi variado de 25 a 1000 ms. Os voltamogramas obtidos estão apresentados na Figura 17.

Figura 17 — Voltamogramas obtidos por DPV em (a) solução de KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). E na presença de CF ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em: (b) 25ms, (c) 50ms, (d) 75ms, (e) 250ms, (f) 750ms, (g) 1000ms, (h) 100ms, (i) 500ms. ECV, $E_{puls} = 200 \text{ mV}$, $E_{step} = 7 \text{ mV}$ e $t_{mod} = 2 \text{ ms}$.



Fonte: Do Autor, 2023

A partir dos voltamogramas e dos valores de I_{pa} , apresentados na Figura 16 é evidente que os valores das I_{pa} possuem pouca diferença ao variar o t_{int} . Sendo assim, o t_{int} escolhido foi de 75 ms, pois apresentou uma I_{pa} maior que os demais intervalos de tempo, como mostrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores de I_{pa} obtidos nos estudos do intervalo de tempo.

Intervalo de tempo (ms)	I_{pa} (A)
1000	$6,71 \times 10^{-5}$
750	$6,80 \times 10^{-5}$
500	$6,79 \times 10^{-5}$
250	$7,31 \times 10^{-5}$
100	$7,47 \times 10^{-5}$
75	$7,83 \times 10^{-5}$
50	$7,48 \times 10^{-5}$
25	$7,08 \times 10^{-5}$

Fonte: Do Autor, 2023

Portanto, após a otimização dos parâmetros da técnica de DPV foi possível definir que as melhores condições para determinação da CF utilizando o EPCM/BM foram: E_{puls} 200 mV, E_{step} 7 mV, t_{mod} 2ms e t_{int} 75 ms.

Com a otimização do eletrólito de suporte e pH, proporção dos modificadores da pasta de carbono modificada com biocarvão de macaúba, definiu-se os melhores parâmetros para continuar o trabalho. Os parâmetros encontram-se da Tabela 11.

Tabela 11 – Melhores parâmetros analíticos para determinação de CF.

Teste	Parâmetros definidos
Eletrólito de suporte e pH	Solução tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$)
Proporção de pasta de carbono modificada	Proporção de pasta “c” (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante)

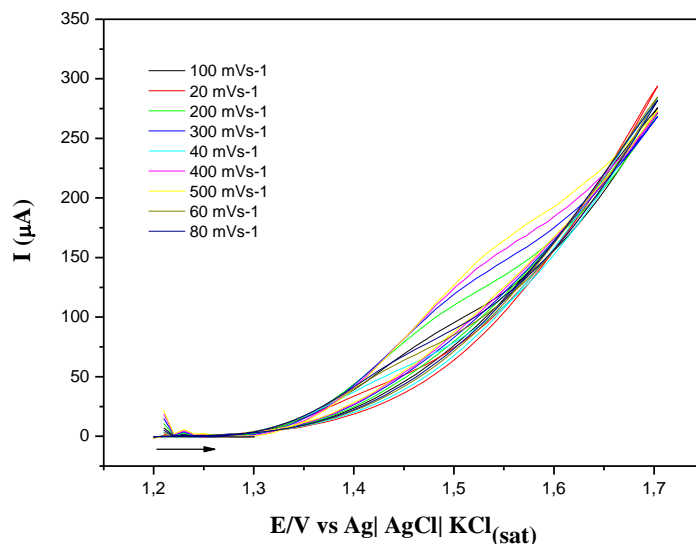
Fonte: Do Autor, 2023

5.4. Velocidade de varredura

O estudo do transporte de massa do analito até a superfície do EPCM/BM foi realizado por meio da variação da velocidade de varredura (v). A análise foi realizada na presença do eletrólito de suporte tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em

pH 5 e a velocidade de varredura foi variada de 10 mVs^{-1} a 500 mVs^{-1} , como mostrado na Figura 18.

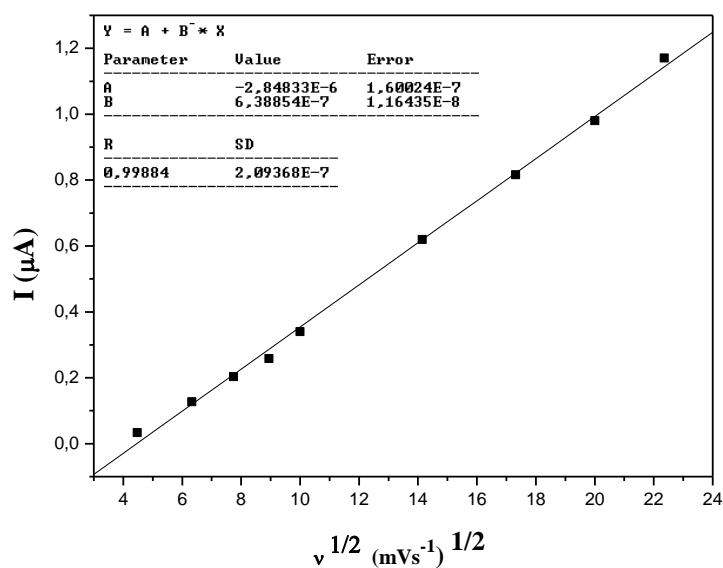
Figura 18 - Voltamogramas na cíclica em: (a) solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), pH 5, na presença de CF ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$). Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

CF A curva obtida a partir das I_{pa} em função da $v^{-1/2}$ é apresentada na Figura 19.

Figura 19 - Variação da I_{pa} com a $v^{1/2}$ evidenciando um processo de difusão, utilizando EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Da Autora, 2023

Na Tabela 12 encontram-se os valores de I_{pa} obtidos por meio dos voltamogramas cíclicos da Figura 16 e $v^{1/2}$.

Tabela 12 — I_{pa} obtidos pela variação da velocidade de varredura na presença de CF ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

Velocidade de Varredura (mV s^{-1})	I_{pa} (A)	$v^{1/2}$ (mV s^{-1}) ^{1/2}
20	$3,34 \times 10^{-7}$	4,47
40	$1,27 \times 10^{-6}$	6,32
60	$2,03 \times 10^{-6}$	7,74
80	$2,58 \times 10^{-6}$	8,94
100	$3,40 \times 10^{-6}$	10,00
200	$6,20 \times 10^{-6}$	14,14
300	$8,16 \times 10^{-6}$	17,32
400	$9,80 \times 10^{-6}$	20,00
500	$1,17 \times 10^{-5}$	22,36

Fonte: Do Autor, 2023

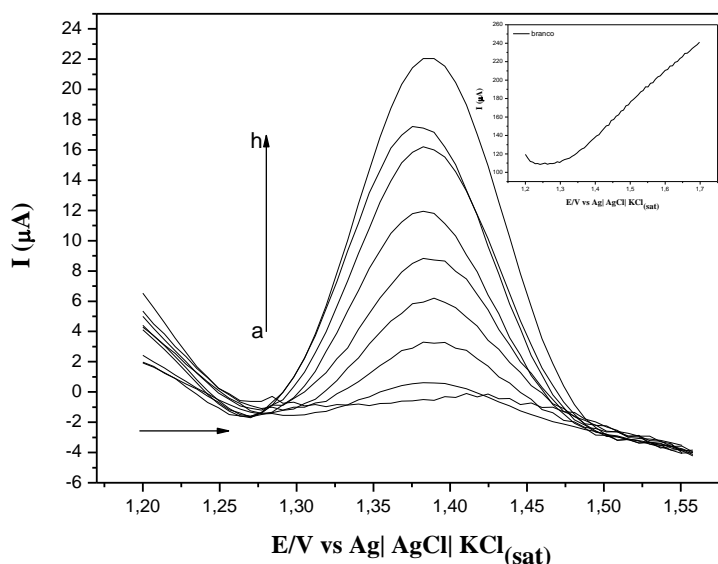
A partir da linearidade obtida por meio das I_{pa} em função da $v^{-1/2}$ infere-se que o processo de transferência de massa do sistema é controlado predominantemente por difusão, já que o R^2 da curva foi de 0,9968, apresentando-se linear dentro da faixa estudada. O processo de difusão caracteriza-se como a movimentação espontânea da espécie química devido ao gradiente de concentração que é formado com o analito, neste caso a CF (PACHECO et al., 2013).

5.5. Parâmetros analíticos de desempenho para determinação de cafeína em diferentes amostras

Para determinar CF em amostras de cápsulas estimulantes do sistema nervoso central e em bebidas como Refrigerante a base de cola tradicional, Refrigerante a base de cola com extrato de café e Café solúvel granuloso, uma curva analítica sem a matriz foi construída por adição de padrão com sucessivas adições de solução estoque de CF $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. A faixa linear analisada foi de $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Na figura 18 estão

os voltamogramas obtidos na faixa de potencial de 1,2 a 1,7V, com eletrólito de suporte de tampão acetato $0,1\text{mol L}^{-1}$ com KCl $0,1\text{mol L}^{-1}$.

Figura 20 — Voltamogramas de pulso diferencial em solução tampão acetato ($0,1\text{mol L}^{-1}$) com KCl ($0,1\text{mol L}^{-1}$), pH 5; e adicionando CF nas concentrações: (a) $2,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (b) $3,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (c) $4,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (d) $5,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (e) $6,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (f) $7,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (g) $8,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$, (h) $9,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$. Análise feita com EPCM/BM.



Fonte: Do Autor, 2023

Os valores de I_{pa} e E_{pa} resultantes dos voltamogramas observados na Figura 20 estão dispostos na Tabela 13.

Tabela 13 — Valores de I_{pa} e E_{pa} obtidos a partir dos voltamogramas de pulso diferencial obtidos na de concentração de $2,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$ a $9,0 \times 10^{-5}\text{mol L}^{-1}$.

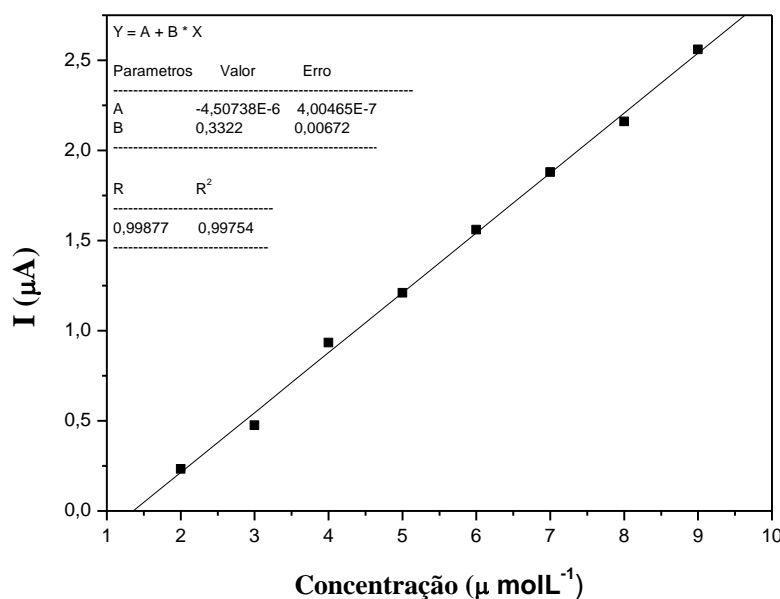
Concentração (mol L^{-1})	I_{pa} (A)	E_{pa} (V)
$2,0 \times 10^{-5}$	$2,33 \times 10^{-6}$	$2,37 \times 10^{-6}$
$3,0 \times 10^{-5}$	$4,75 \times 10^{-6}$	$2,012 \times 10^{-6}$
$4,0 \times 10^{-5}$	$9,33 \times 10^{-6}$	$1,636 \times 10^{-6}$
$5,0 \times 10^{-5}$	$1,21 \times 10^{-5}$	$1,334 \times 10^{-6}$
$6,0 \times 10^{-5}$	$1,56 \times 10^{-5}$	$9,643 \times 10^{-7}$
$7,0 \times 10^{-5}$	$1,88 \times 10^{-5}$	$5,43 \times 10^{-7}$
$8,0 \times 10^{-5}$	$2,16 \times 10^{-5}$	$1,465 \times 10^{-7}$

 $9,0 \times 10^{-5}$ $2,56 \times 10^{-5}$ $1,291 \times 10^{-7}$

Fonte: Do Autor, 2023

Os valores da concentração em função dos valores de Ipa foram usados para realização de uma regressão linear. Na figura 21 é possível observar a curva analítica no intervalo de concentração estudado.

Figura 21 — Curva analítica obtida pela adição de CF nas concentrações de: $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $4,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $8,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $9,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.



Fonte: Do Autor, 2023

Na Tabela 14 são apresentados os parâmetros analíticos, R², LOD, LOQ e equação da reta e faixa linear, referentes a curva analítica na ausência de matriz (Figura 20).

Tabela 14 – Parâmetros analíticos referentes a curva sem matriz.

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Equação da reta	$0,3322x - 4,50738 \times 10^{-6}$
Faixa Linear	$1,3568 \times 10^{-5}$ a $1,0356 \times 10^{-4}$
R ²	0,99754
LOD	$3,6851 \times 10^{-7}$
LOQ	$1,2283 \times 10^{-6}$

Fonte: Do Autor, 2023

O LOD e LOQ foram de $3,6851 \times 10^{-7}$ e $1,2283 \times 10^{-6}$ respectivamente, e o R^2 obtido foi de 0,99754. A partir dos valores obtidos para os parâmetros analíticos de desempenho é possível inferir que a curva obtida apresentou ampla faixa linear para determinação da CF, a linearidade apresentada pela curva e os limites de detecção e quantificação que se apresentaram abaixo da faixa linear estudada favorecem o objetivo do trabalho.

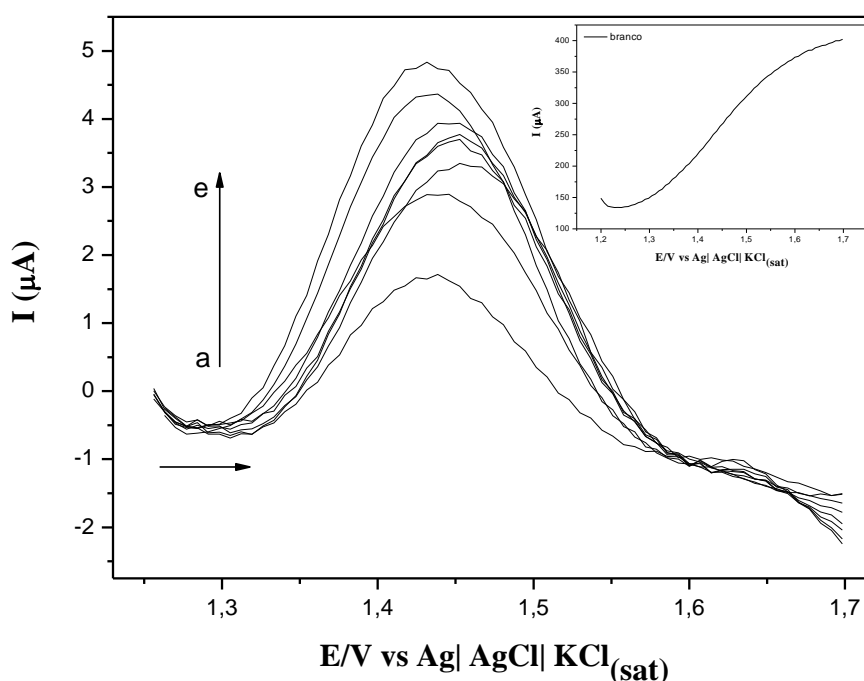
5.5.1. Determinação de cafeína em amostras de bebidas

O método desenvolvido teve sua performance avaliada primeiramente por três amostras de bebidas. A primeira amostra consiste no café solúvel granuloso, a segunda amostra na Refrigerante a base de cola tradicional e a terceira amostra na Refrigerante a base de cola com extrato de café.

5.5.1.1. Determinação de Cafeína em café solúvel granuloso

O voltamograma de pulso diferencial referente a análise da primeira amostra, foi avaliado na concentração $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O resultado está representado na Figura 22.

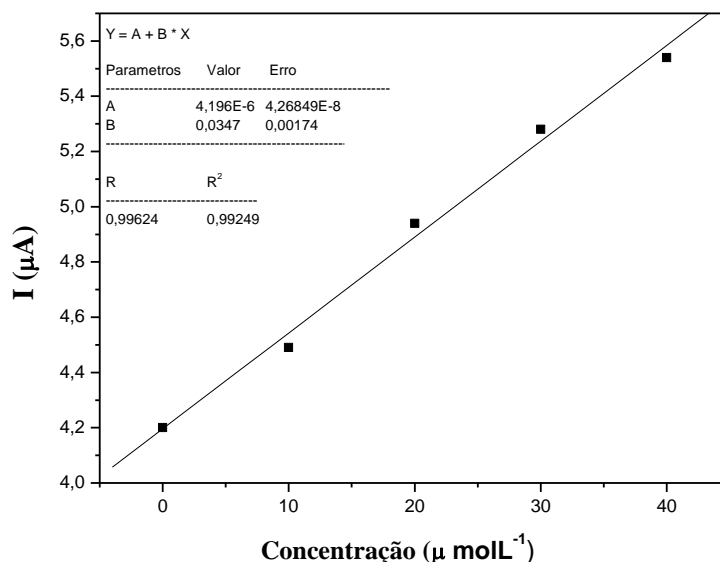
Figura 22 — Voltamograma DPV referente ao café solúvel (amostra I) em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$); com adição de (a) 258 μL de solução de café solúvel granuloso (amostra I) com adições de CF nas concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

Os parâmetros analíticos de desempenho foram obtidos por meio da construção da curva analítica que tomou por base os voltamogramas da Figura 22. A Figura 23 mostra a curva analítica no café solúvel granuloso.

Figura 23 - Curva analítica na presença da matriz (I), com adição de (a) 258 µL de solução de café solúvel granuloso com concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-4}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

A influência dos compostos presente na matriz pode ser avaliado pelo cálculo do efeito de matriz.

HU e colaboradores (2020) e (BESIL et al., 2017) mostram que o efeito de matriz pode ser classificado de três formas: (1) EM fraco, para valores entre -20% e 20%; (2) EM médio, para valores entre -50% e -20% e +20% e 50% e (3) EM forte, para valores abaixo de -50% e acima de +50%. A Tabela 15 mostra os valores de R², LOD, LOQ e EM para o café solúvel (BESIL et al., 2017) (HU et al., 2020).

Tabela 15 - Parâmetros analíticos obtidos pela curva analítica na presença de café solúvel, em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $4,0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Equação da reta	$0,0347x + 4,196 \times 10^{-6}$
Faixa Linear	$1,2092 \times 10^{-4}$ a $1,6092 \times 10^{-4}$

R2	0,9925
LOD	$3,5279 \times 10^{-6}$
LOQ	$1,1759 \times 10^{-5}$
EM	89%

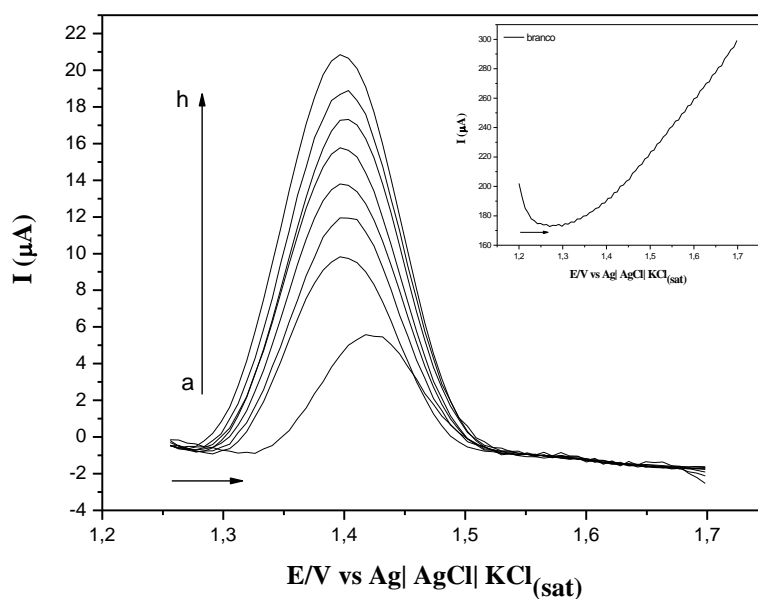
Fonte: Do Autor, 2023

Os valores de EM% calculado para a curvas da matriz I foi de 89%, indicando um EM forte. Logo, a variação nas concentrações foi expressivamente grande devido a influência de outros compostos da matriz, que foram capazes de interagir aumentando ou suprimindo o sinal do analito o que direcionou na escolha para fazer a quantificação por meio da curva matrizada (PINHO et al., 2010).

5.5.1.2. Determinação de Cafeína em Refrigerante a base de cola Tradicional

O voltamograma de pulso diferencial referente a análise da segunda amostra, foi avaliada na concentração $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados estão representados na Figura 24.

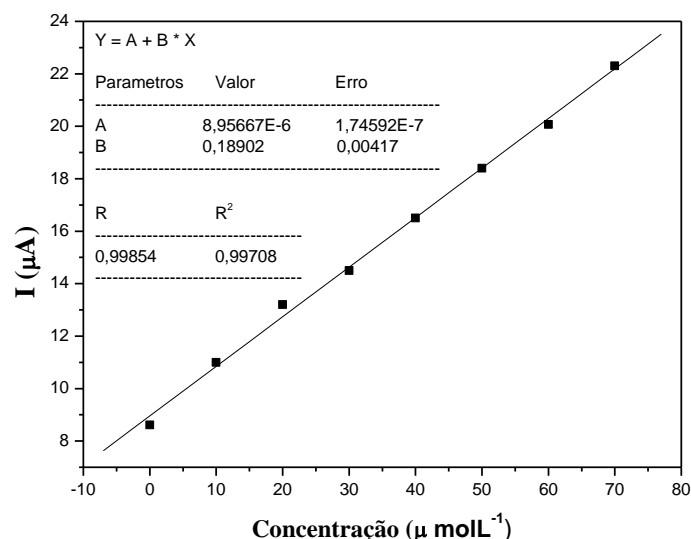
Figura 24 — Voltamograma DPV referente a amostra II em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$); com adição de (a) 971 μL de Refrigerante a base de cola tradicional com adições de CF nas concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$, (f) $5,0 \times 10^{-5}$, (g) $6,0 \times 10^{-5}$, (h) $7,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

A Figura 25 mostra a curva analítica da Refrigerante a base de cola tradicional.

Figura 25 - Curva analítica na presença da matriz, com adição de (a) 971 μL de Refrigerante a base de cola Tradicional nas concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$, (f) $5,0 \times 10^{-5}$, (g) $6,0 \times 10^{-5}$, (h) $7,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

A Tabela 16 mostra os valores de R^2 , LOD, LOQ e EM para a matriz de Refrigerante a base de cola Tradicional.

Tabela 16 - Parâmetros analíticos obtidos pela curva analítica na presença da matriz II, em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $7,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Equação da reta	$0,18902x + 8,9566 \times 10^{-6}$
Faixa Linear (molL^{-1})	$4,7384 \times 10^{-5}$ a $1,1738 \times 10^{-4}$
R ²	0,9970
LOD	$6,4766 \times 10^{-7}$
LOQ	$2,1588 \times 10^{-6}$
EM	43%

A curva de Refrigerante a base de cola tradicional resultou em um R^2 de 0,99708. Por meio da equação da reta e do desvio padrão do branco foi possível calcular o LOD $6,4766 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e o LOQ $2,1588 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

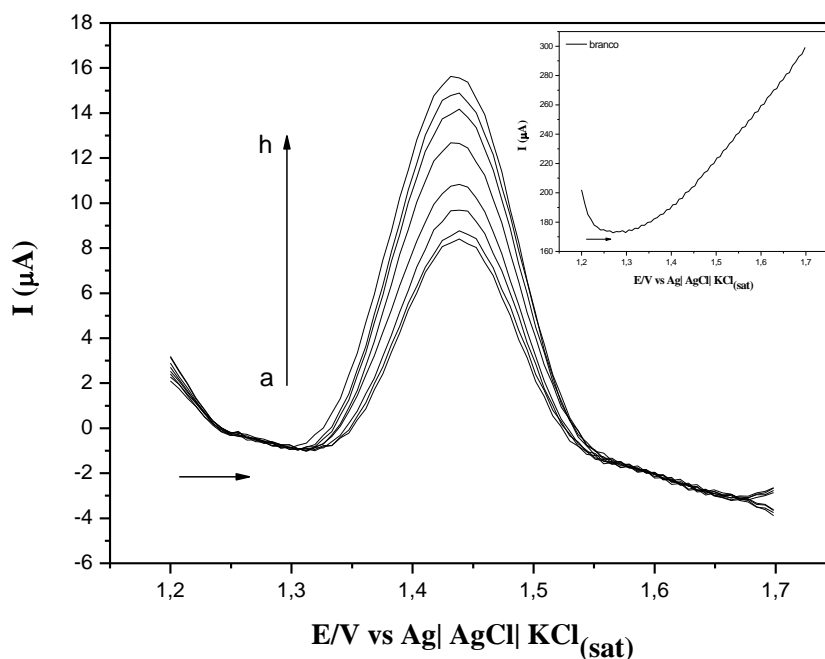
A influência dos compostos presente na matriz pode ser avaliado pelo cálculo do EM. Para isso a Equação 5 é usada.

Os valores de EM% calculado para a curva da matriz II foi de 43% (EM médio). Logo, a variação nas concentrações foi expressivamente grande, o que influenciou na escolha para fazer a quantificação por meio das curvas matrizadas. (BESIL et al., 2017)

5.5.1.3. Determinação de Cafeína em Refrigerante a base de cola com extrato de café

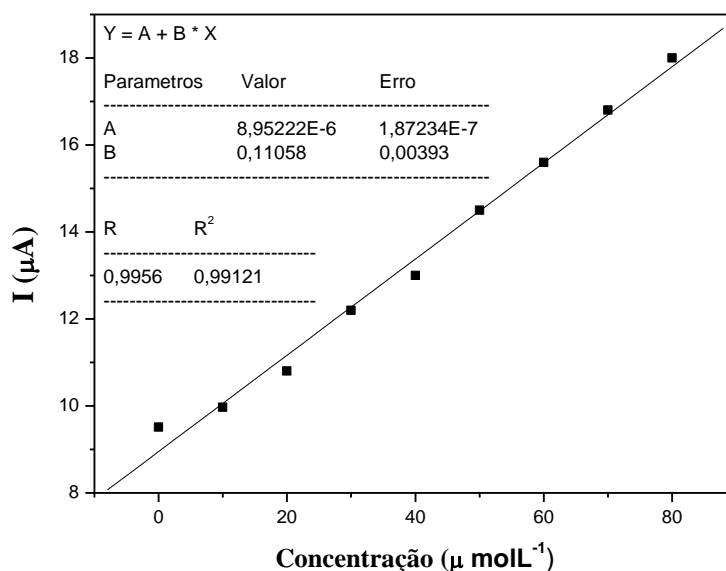
O voltamograma de pulso diferencial referente a análise da terceira amostra, foi avaliado na concentração $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados estão representados na Figura 26.

Figura 26 — Voltamograma DPV referente a amostra III em tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$); com adição de (a) 689 μL de Refrigerante a base de cola com extrato de café com adições de CF nas concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$, (f) $5,0 \times 10^{-5}$, (g) $6,0 \times 10^{-5}$, (h) $7,0 \times 10^{-5}$, (i) $8,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

Figura 27 - Curva analítica na presença da matriz, com adição de (a) 689 μL de Refrigerante a base de cola com extrato de café nas concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$, (f) $5,0 \times 10^{-5}$, (g) $6,0 \times 10^{-5}$, (h) $7,0 \times 10^{-5}$, (i) $8,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

Tabela 17 - Parâmetros analíticos obtidos pela curva analítica na presença da matriz III, em uma faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $8,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Equação da reta	$0,11058x + 8,9522 \times 10^{-6}$
Faixa linear	$8,0956 \times 10^{-5}$ a $1,609 \times 10^{-5}$
R2	0,9956
LOD	$8,2239 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$
LOQ	$2,7413 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$
EM	66%

Fonte: Do Autor, 2023

A curva de Refrigerante a base de cola com extrato de café resultou em um R^2 de 0,9956. Por meio da equação da reta e do desvio padrão do branco foi possível calcular o LOD $1,5145 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e o LOQ $5,0487 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

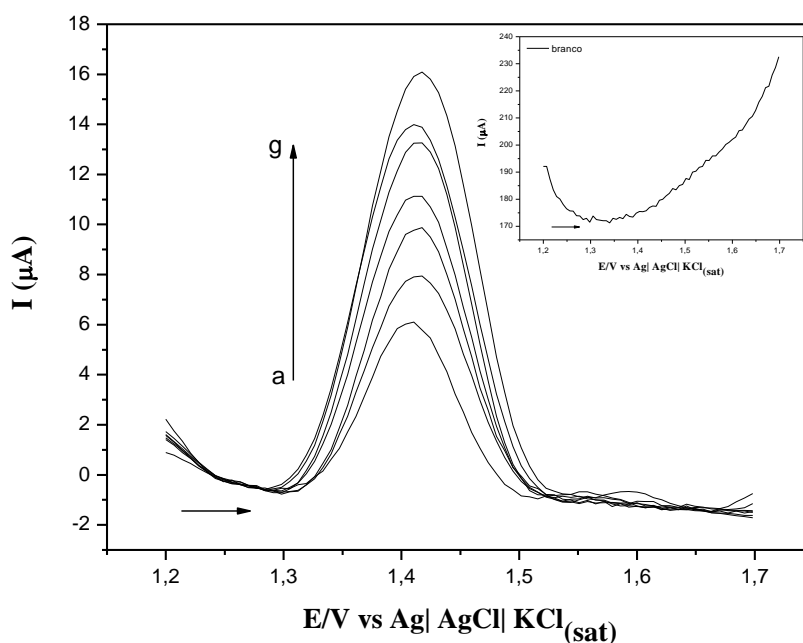
A influência dos compostos presente na matriz pode ser avaliado pelo cálculo do EM. Para isso a Equação 5 é usada.

Os valores de EM% calculado para a curva da matriz II foi de 66% (EM forte). Logo, a variação nas concentrações foi expressivamente grande, o que influenciou na escolha para fazer a quantificação por meio das curvas matrizadas. (BESIL et al., 2017)

5.5.1.4. Determinação de Cafeína em Cápsula estimulante do sistema nervoso central

Para determinação de CF em cápsulas estimulantes, foi construída uma curva na presença da amostra, 121 μL de solução da cápsula de cafeína $4,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e foram feitas sucessivas adições de 10 μL da solução estoque do CF $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O resultado está representado na Figura 28.

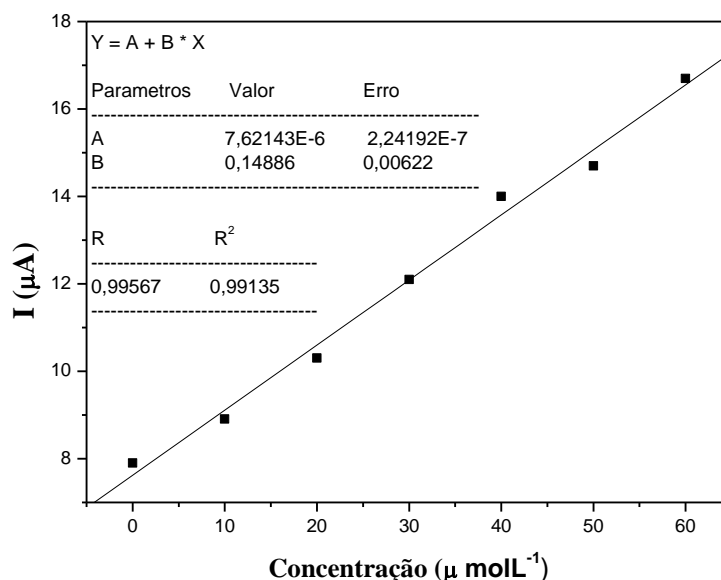
Figura 28 — Voltamograma DPV referente a amostra de cápsulas estimulantes em tampão acetato ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em pH 5 com KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$); com adição de (a) 121 μL de solução de cápsula de CF com adições de CF nas concentrações de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$, (f) $5,0 \times 10^{-5}$, (g) $6,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

Os parâmetros analíticos de desempenho foram obtidos por meio da construção da curva analítica que tomou por base os voltamogramas da Figura 28. A Figura 29 mostra a curva analítica da CF na cápsula estimulante do sistema nervoso central.

Figura 29 - Curva analítica na presença da cápsula estimulante do sistema nervoso central, com adição de (a) com concentrações de de (b) $1,0 \times 10^{-5}$, (c) $2,0 \times 10^{-5}$, (d) $3,0 \times 10^{-5}$, (e) $4,0 \times 10^{-5}$, (f) $5,0 \times 10^{-5}$, (g) $6,0 \times 10^{-5}$. Janela de potencial de 1,2 a 1,7 V. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).



Fonte: Do Autor, 2023

A Tabela 18 mostra os valores de R², LOD, LOQ e EM para a cápsula de CF.

Tabela 18 - Parâmetros analíticos obtidos pela curva analítica na presença da cápsula de CF, em uma faixa de concentração de $5,1195 \times 10^{-5}$ a $1,1119 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. EPCM/BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante).

Parâmetros analíticos	Valores obtidos
Equação da reta	$0,14886x + 7,621 \times 10^{-6}$
Faixa Linear	$5,1195 \times 10^{-5}$ a $1,1119 \times 10^{-4}$
R²	0,99135
LOD	$8,2239 \times 10^{-7}$
LOQ	$2,7413 \times 10^{-6}$
EM	55%

Fonte: Do Autor, 2023

A curva apresentou um R^2 de 0,99135 e linearidade dentro da faixa de concentração estudada como resultado da curva matrizada da cápsula de CCF. Por meio da equação da reta e do desvio padrão do branco foi possível calcular o LOD e LOQ da curva, obtendo-se valores de $8,2239 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,7413 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

Os valores de EM% calculado para a curva de CF na cápsula foi de 55%, indicando um EM forte. Logo, a variação nas concentrações foi expressivamente grande devido a influência de outros compostos da matriz, que foram capazes de interagir aumentando ou suprimindo o sinal do analito o que direcionou na escolha para fazer a quantificação por meio da curva matrizada. (PINHO et al., 2010)

5.5.2. Performance do método desenvolvido

A performance do método desenvolvido foi avaliada utilizando amostras de bebidas e cápsula de cafeína. A amostra I consiste café solúvel granuloso, amostra II em Refrigerante a base de cola Tradicional, amostra III em Refrigerante a base de cola com extrato de café e amostra IV cápsula estimulante do sistema nervoso central.

Na Tabela 19 são apresentados os valores de corrente, concentração em mol L^{-1} e massas (mg) da CF para as amostras I, II, III e IV.

Tabela 19 — Equação da reta e valores de concentração (mol L^{-1}) e massa (mg) de CF para as amostras I, II, III e IV.

Amostras	Equação da reta	Concentração (mol L^{-1})	Massa de CF (mg)
I	$0,0347x + 4,196 \times 10^{-6}$	$1,209 \times 10^{-4}$	90,91
II	$0,18902x + 8,9566 \times 10^{-6}$	$4,738 \times 10^{-5}$	33,16
III	$0,11058x + 8,9522 \times 10^{-6}$	$8,095 \times 10^{-5}$	50,19
IV	$0,14886x + 7,621 \times 10^{-6}$	$5,119 \times 10^{-5}$	410,7

Fonte: Do Autor, 2023

Na Tabela 20 são apresentadas a composição das amostras avaliadas e a comparação entre o valor nominal (especificado na embalagem) e o valor determinado pelo método analítico desenvolvido.

Tabela 20 - Composição das amostras, valor nominal de CF e valor de CF obtido pelo método desenvolvido.

Amostras	Composição	Valor Nominal de CF (mg)	Massa de CF por DPV (mg)
I	Café solúvel	90,0	90,91
II	Água gaseificada, açúcar, extrato de noz de cola, cafeína, corante caramelo IV, acidulante ácido fosfórico, sódio e aroma natural.	35,0	33,16
III	Água gaseificada, açúcar, extrato de café, cafeína, extrato de noz-de-cola, corante caramelo, aroma natural, regulador de acidez ácido fosfórico, conservadores benzoato de sódio e sorbato de potássio, edulcorantes sucralose (8mg) e acesulfame de potássio (6mg) por 100ml, antiespumante dimetilpolisiloxano.	31,0	50,19
IV	Cafeína anidra, amido modificado, estabilizante carbonato de cálcio, antiemectantes dióxidos de silício e estearato de magnésio.	400,0	410,76

Fonte: Do Autor, 2023

Analisando os resultados apresentados na Tabela 20 foi possível inferir que as concentrações de CF encontrada por meio da metodologia desenvolvida é próxima ao valor nominal das bebidas e da substância estimulante. Assim, constata-se que o método eletroquímico desenvolvido utilizando EPCM/BM apresenta boa eficiência na determinação de CF em produtos bebidas e cápsula estimulante do sistema nervoso central.

No entanto, a amostras de Refrigerante a base de cola com extrato de café apresentou uma certa variação ao valor nominal, isso pode ser melhorado por meio de um preparo de amostra mais detalhado. Uma possível explicação para essa diferença são variações externas, como a temperatura e corrente elétrica que chega ao equipamento, também pode ter ocorrido erros humanos, como erro durante a pipetagem, o que conhecemos como erro sistemático, que geralmente é devido ao erro humano. (SKOOG et al., 2015)

De acordo com a Resolução ANVISA nº 273/2005 a quantidade de CF como ingrediente não poderá conter mais do que 350 mg/L de CF em bebidas energéticas. Portanto, sabendo que as curvas matrizadas apresentaram um limite de quantificação inferiores ao exigido pela legislação a metodologia torna-se viável para a quantificação de CF em bebidas e também em cápsulas. (AMALIA YUNIA RAHMAWATI, 2020)

5.6. Repetibilidade e Reprodutibilidade do método desenvolvido

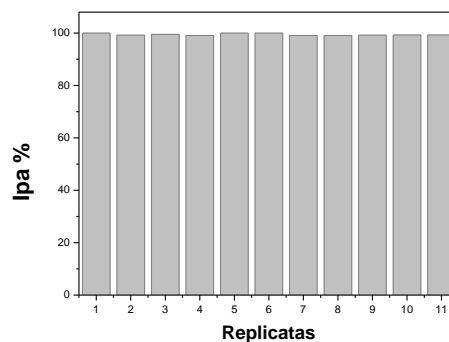
A reprodutibilidade do método foi determinada por meio de dez análises na concentração de $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ da matriz, polindo o eletrodo a cada análise. O valor de corrente de pico utilizado como 100% e a porcentagem das replicatas referente a concentração utilizada estão dispostos na Tabela 21.

Tabela 21 - Porcentagens das replicatas para o teste de reprodutibilidade do biocarvão de macaúba. EPCM/ BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante) em café solúvel, Refrigerante a base de cola tradicional, Refrigerante a base de cola com extrato de café e Cápsula estimulante do sistema nervoso central. (Continua)

Matriz	Ipa (A) utilizado como 100%	Porcentagem das replicatas
(I) Café solúvel	$3,473 \times 10^{-6}$	

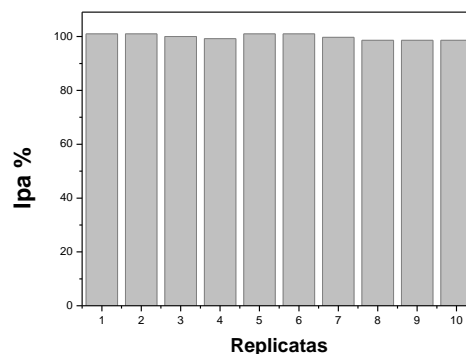
(II)
Refrigerante a
base de cola

$7,671 \times 10^{-6}$



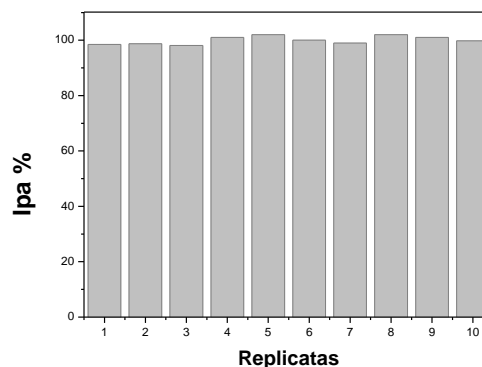
(III)
Refrigerante a
base de cola
com extrato de
café

$7,5368 \times 10^{-6}$



(IV) Cápsula de
caféina

$5,503E-6 \times 10^{-6}$



Fonte: Do Autor, 2023

Por meio dos resultados descritos na Tabela 21 foram calculados a média e o desvio padrão relativo das Ipa%. Os valores obtidos disposto na Tabela 22 mostram que o método apresenta uma alta reprodutibilidade, portanto o sensor eletroquímico utilizado apresenta resultados confiáveis em condições normais do sistema. Sendo assim, o eletrodo escolhido oferece maior precisão a metodologia proposta (LIMA et al., 2022)

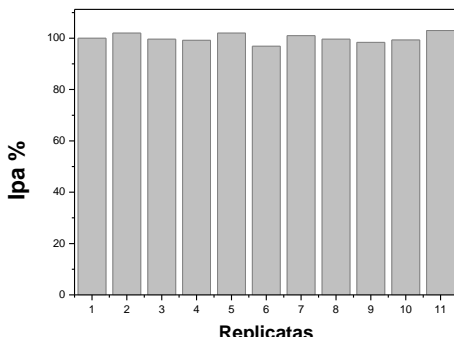
Tabela 22 – Média e desvio padrão das porcentagens das replicatas para o teste de reprodutibilidade do biocarvão de macaúba. EPCM/ BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante). (Continua)

Matriz	Média das Ipa% (A)	Desvio Padrão das Ipa%
(I) Café solúvel	98,9	2,32
(II) Refrigerante a base de cola	99,4	0,36
(III) Refrigerante a base de cola com extrato de café	99,9	1,02
(IV) Cápsula de Cafeína	100	1,36

Fonte: Do Autor, 2023

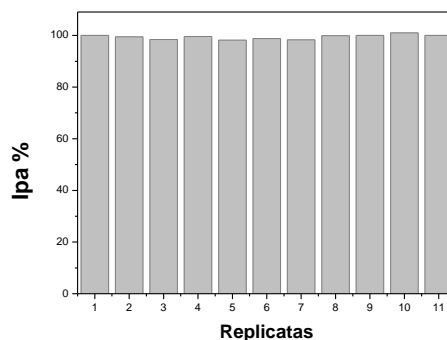
A repetibilidade do método também foi analisada através de dez análises na concentração $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ da matriz, entretanto a análise de repetibilidade não foi realizado o polimento do eletrodo de trabalho entre as análises. O valor de corrente de pico utilizado como 100% e a porcentagem das replicatas referente a concentração utilizada estão dispostos na Tabela 23.

Tabela 23 - Porcentagens das replicatas para o teste de repetibilidade do biocarvão de macaúba. EPCM/ BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante) em café solúvel, Refrigerante a base de cola tradicional, Refrigerante a base de cola com extrato de café e Cápsula estimulante do sistema nervoso central. (Continua)

Matriz	Ipa (A) utilizado como 100%	Porcentagem das replicatas
(I) Café solúvel	$5,70 \times 10^{-6}$	

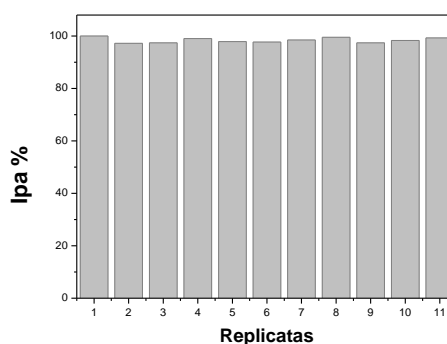
(II)
Refrigerante a
base de cola

$6,64 \times 10^{-6}$



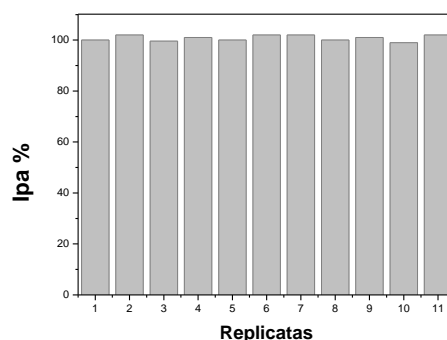
(III)
Refrigerante a
base de cola
com extrato de
café

$6,95 \times 10^{-6}$



(IV) Cápsula de
cafeína

$6,16 \times 10^{-6}$



Fonte: Do Autor, 2023

Através dos resultados obtidos foram calculados a média e o desvio padrão relativo das Ipa%. Os valores para esse cálculo estão na Tabela 24.

Tabela 24 – Média e desvio padrão das porcentagens das replicatas para o teste de repetibilidade do biocarvão de macaúba. EPCM/ BM (50:20:30 grafite: biocarvão de macaúba: aglutinante). (Continua)

Matriz	Média das Ipa% (A)	Desvio Padrão das Ipa%
(I) Café solúvel	100,02	1,622

(II)	Refrigerante a base de cola	99,46	0,833
(III)	Refrigerante a base de cola com extrato de café	98,38	0,913
(IV)	Cápsula de Cafeína	100,87	1,07

Os valores obtidos mostram que o método apresenta uma alta repetibilidade, portanto o sensor eletroquímico utilizado apresenta resultados confiáveis em condições normais do sistema. Sendo assim, o eletrodo escolhido oferece maior precisão a metodologia proposta (LIMA et al., 2022).

6. CONCLUSÃO

O método desenvolvido, usando um sensor eletroquímico com transdutor de pasta de carbono modificado com biocarvão de Macaúba, mostrou resultados promissores para determinação de CF em amostras de bebidas e cápsula estimulante do sistema nervoso central.

A partir das otimizações realizadas, foi possível o desenvolvimento de um método para determinação de CF com sensibilidade adequada e bons valores de repetibilidade e reprodutibilidade, confirmando o potencial que o sensor eletroquímico desenvolvido.

A avaliação das velocidades de varredura por voltametria cíclica determinou que o processo de transporte de massa da reação de oxidação da CF é controlado pelo mecanismo de difusão.

O método desenvolvido apresentou nas matrizes de I a IV um R^2 de 0,9925, 0,9970, 0,9956, 0,9913, respectivamente, com resultados de LOD igual a $3,52 \times 10^{-6}$ (I), $6,47 \times 10^{-7}$ (II), $1,10 \times 10^{-7}$ (III) e $8,22 \times 10^{-7}$ (IV) e os resultados de LOQ foram de $1,17 \times 10^{-5}$, $2,15 \times 10^{-6}$, $3,69 \times 10^{-6}$ e $2,74 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ respectivamente para as amostras de I a IV, a partir desse mecanismo aplicado nas amostras escolhidas e através desses dados foi possível quantificar a CF nas amostras. Obtendo como resultado uma massa de

CF próximos aos valores nominais. No café solúvel o valor nominal é de 90mg enquanto o quantificado pelo método foi de 90,91mg, na Refrigerante a base de cola Tradicional o valor nominal é de 35mg e o quantificado pelo método foi de 33,16mg, na cápsula de cafeína o valor nominal é de 400mg enquanto o quantificado pelo método foi de 410,76mg. O único que diferiu do valor nominal foi a amostra III de Refrigerante a base de cola com extrato de café o valor quantificado pelo método foi de 50,19mg, enquanto o valor nominal é de 31mg.

Portanto, a metodologia desenvolvida, usando um sensor eletroquímico de pasta de carbono modificado com biocarvão de macaúba para determinação de CF, possibilitou a quantificação desse analito em amostras de cápsulas estimulantes e bebidas. Assim, o método voltamétrico proposto pode ser utilizado no monitoramento da molécula de CF nas amostras avaliadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADERYANI, S. et al. Simulation of cyclic voltammetry in structural supercapacitors with pseudocapacitance behavior. **Electrochimica Acta**, v. 390, p. 138822, 2021.
- AGOSTINHO, S. M. L. et al. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química nova**, v. 27, p. 813–817, 2004.
- AHMAD, M. et al. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review. **Chemosphere**, v. 99, p. 19–33, 2014.
- ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas | Chemkeys Português. **Chemkeys-Liberdade para aprender**, n. Ii, p. 21, 2003.
- ALVES, A. A. C. Desenvolvimento e aplicação de sensores eletroquímicos modificados com óxido de grafeno reduzido e líquidos iônicos. 2020.
- ALVES, R. C.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B. Benefícios do café na saúde: Mito ou realidade? **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2169–2180, 2009.
- AMALIA YUNIA RAHMAWATI. COMISSÃO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO. n. July, p. 1–23, 2020.
- AMJADI, S. et al. Multifunctional betanin nanoliposomes-incorporated gelatin/chitosan nanofiber/ZnO nanoparticles nanocomposite film for fresh beef preservation. **Meat science**, v. 167, p. 108161, 2020.
- BESIL, N. et al. Matrix effects and interferences of different citrus fruit coextractives in pesticide residue analysis using ultrahigh-performance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 23, p. 4819–4829, 2017.
- BILGE, S. et al. Recent advances in electrochemical sensing of cocaine: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 157, p. 116768, 2022.
- BIOCIÊNCIAS, D. Solução Tampão. n. 1, p. 17–19, 2023.
- BRENELLI, E. C. S. Caffeine extraction from stimulating beverages: A new approach for a classic organic chemistry experiment. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 136–138, 2003.
- BROWN; LEMAY; BURSTEN. **Química: A Ciência Central, 9ª ed (2005) [REGULADO] + respostas : Theodore L. Brown, H. Eugene LeMay Jr., Bruce E. Bursten : Free Download, Borrow, and Streaming : Internet Archive**. Disponível em: <<https://archive.org/details/9788587918420>>. Acesso em: 15 fev. 2021.
- BUCCI, L. R. Selected herbals human exercise performance. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2 SUPPL., p. 624–636, 2000.
- CAB DE MARIA, LC TRUGO, G. C. Application of HPSE chromatography with a refractive index detector to green coffee analysis. **Química Nova**, n. April, p. 19(4):350-352, 1996.
- CICONINI, G. Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Campo Grande (MS)**.

Universidade Católica Dom Bosco. Dissertação (Mestrado em biotecnologia). p, v. 128, 2012.

CUNHA, T. F. et al. Exercise training decreases NADPH oxidase activity and restores skeletal muscle mass in heart failure rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 122, n. 4, p. 817–827, 2017.

DALY, J. W. Review Caffeine analogs : biomedical impact. v. 64, p. 2153–2169, 2007.

DE ALMEIDA, L. S. et al. Electrochemical devices obtained from biochar: Advances in renewable and environmentally-friendly technologies applied to analytical chemistry. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 26, p. e00089, 2020.

DE C. TEIXEIRA, M. et al. Voltammetric determination of organic nitrogen compounds in environmental samples using carbon paste electrode modified with activated carbon. **Microchemical Journal**, v. 148, p. 66–72, 2019.

DE OLIVEIRA, P. R. et al. The use of activated biochar for development of a sensitive electrochemical sensor for determination of methyl parathion. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 799, p. 602–608, 2017.

DE SOUZA, G. A. et al. EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO AGUDA DE CAFEÍNA SOBRE PARÂMETROS HEMODINÂMICOS E METABÓLICOS POR PRATICANTES DE MUSCULAÇÃO. **Mostra de Trabalhos do Curso de Nutrição do Univag**, v. 8, 2022.

DONG, X. et al. Removal of 17 β -estradiol by using highly adsorptive magnetic biochar nanoparticles from aqueous solution. **Chemical Engineering Journal**, v. 352, p. 371–379, 2018.

DU, H.; XIE, Y.; WANG, J. Nanomaterial-sensors for herbicides detection using electrochemical techniques and prospect applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 135, p. 116178, 2021.

FARIA, L. A. D. E. COM LIPASE EXTRACELULAR DE *Colletotrichum* COM LIPASE EXTRACELULAR DE *Colletotrichum*. 2010.

FAZAN, B. V. S.; HENRIQUE, L. A.; DECONTE, S. R. Efeito das doses de cafeína em atletas. 2022.

FERNANDES, R.; PEREIRA, A. M.; FERNANDES, A. Consumo de cafeína, índice de massa corporal e qualidade do sono. **RevSALUS - Revista Científica Internacional da Rede Acadêmica das Ciências da Saúde da Lusofonia**, v. 5, n. 2, 2023.

GABHI, R. et al. Electrical conductivity of wood biochar monoliths and its dependence on pyrolysis temperature. **Biochar**, v. 2, p. 369–378, 2020.

GAMBETTA, R.; EVARISTO, A. B.; TORRES, J. R. Produção de biocarvão ativado a partir do endocarpo de macaúba. **embrapa**, p. 659, 2023.

GARCIA, J. DE CARBONO MODIFICADOS COM BIOCÁRVÃO DE TUCUMÃ (*ASTROCARYUM ACULEATUM*) PARA DETECÇÃO. 2021.

GHORBANI, F. et al. Biosensors and nanobiosensors for rapid detection of autoimmune diseases: a review. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 12, 2019.

GOLDSTEIN, J. et al. Acetaminophen, aspirin, and caffeine in combination versus

ibuprofen for acute migraine: Results from a multicenter, double-blind, randomized, parallel-group, single-dose, placebo-controlled study. **Headache**, v. 46, n. 3, p. 444–453, 2006.

GUERRA, R. O.; COELHO, G. B.; GUTIÉRREZ, C. V. Archivos de Medicina del Deporte - Cafeína e esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, p. 60–62, 2000.

GUILHEN, S. N. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCARVÃO OBTIDO A PARTIR DO RESÍDUO DE COCO DA MACAUBA PARA REMOÇÃO DE URÂNIO DE SOLUÇÕES AQUOSAS. 2018.

GUIMARÃES, M. B. et al. Sensores Biosensores (SB) e. p. 1091–1366, 2011.

HARRIS, R. K.; KOWALEWSKI, J.; DE MENEZES, S. C. **International Union of Pure and Applied Chemistry Physical Chemistry Division Commission on Molecular Structure and Spectroscopy. Parameters and symbols for use in nuclear magnetic resonance (IUPAC recommendations 1997)**. Wiley Online Library, , 1998.

HIGA, G. Relação entre consumo de cafeína e enxaqueca: uma revisão da literatura. 2022.

HRIOUA, A. et al. Recent advances in electrochemical sensors for amoxicillin detection in biological and environmental samples. **Bioelectrochemistry**, v. 137, p. 107687, 2021.

HU, Z. et al. Simultaneous determination of multiclass illegal dyes with different acidic–basic properties in foodstuffs by LC-MS/MS via polarity switching mode. **Food chemistry**, v. 309, p. 125745, 2020.

JACKMAN, M. et al. Metabolic, catecholamine, and endurance responses to caffeine during intense exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 81, n. 4, p. 1658–1663, 1996.

JAIME, F. K. L. AVALIAÇÃO DE TRATAMENTOS TÉRMICOS E QUÍMICOS NA PREPARAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO A PARTIR DE BORRA DE CAFÉ NA ADSORÇÃO DE CAFEÍNA EM MEIO AQUOSO - UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS. 2016.

JAMES, J. E. Critical Review of Dietary Caffeine and Blood Pressure: A Relationship That Should Be Taken More Seriously. **Psychosomatic Medicine**, v. 66, n. 1, p. 63–71, 2004.

LEE, Y. et al. Comparison of biochar properties from biomass residues produced by slow pyrolysis at 500 C. **Bioresource technology**, v. 148, p. 196–201, 2013.

LI, S. Acidez e Basicidade de Compostos Orgânicos. p. 24–43, 1923.

LIMA, J. Z. et al. Sorption of arsenic by composts and biochars derived from the organic fraction of municipal solid wastes: Kinetic, isotherm and oral bioaccessibility study. **Environmental Research**, v. 204, p. 111988, 2022.

MA, D. et al. **SPACEMan: Wireless SoC for Concurrent Potentiometry and Amperometry**. 2021 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS). **Anais...2021**.

MARTINS, F. C. O. L.; PIMENTA, L. C.; DE SOUZA, D. Antidepressants

determination using an electroanalytical approach: A review of methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 206, p. 114365, 2021.

METTERS, J. P.; KADARA, R. O.; BANKS, C. E. Electroanalytical sensing of chromium(III) and (VI) utilising gold screen printed macro electrodes. **Analyst**, v. 137, n. 4, p. 896–902, 2012.

MICHALKIEWICZ, S.; SKORUPA, A.; JAKUBCZYK, M. Carbon Materials in Electroanalysis of Preservatives: A Review. **Materials**, v. 14, n. 24, 2021.

MORAES, F. C. DE. Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. 2010.

Oito curiosidades sobre a Coca-Cola Plus Café Espresso. Disponível em: <<https://www.cocacolabrazil.com.br/historias/marcas/oito-curiosidades-sobre-a-coca-cola-plus-cafe-espresso>>. Acesso em: 2 nov. 2023.

OLIVEIRA, G. A. et al. Biochar obtained from spent coffee grounds: Evaluation of adsorption properties and its application in a voltammetric sensor for lead (II) ions. **Microchemical Journal**, v. 165, p. 106114, 2021.

PACHECO, W. F. et al. Voltammetry: A brief review about concepts. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PHYSIOL, J. A. et al. Lactate inhibits Ca²⁺-activated Ca²⁺-channel activity from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. Lactate inhibits Ca²⁺-activated Ca²⁺-channel activity from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. p. 447–452, 2014.

PINHO, G. P. DE et al. Influência dos constituintes químicos dos extratos de diferentes matrizes na resposta cromatográfica de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 33, p. 909–913, 2010.

QUEIROGA, V. D. P. et al. **TECNOLOGIAS DE PLANTIO DA MACAUBEIRA NA REGIÃO DO NORDESTE E APROVEITAMENTO ENERGÉTICO** Editores Técnicos **CASCA POLPA AMÊNDOA ENDOCARPO REVISTA CIENTÍFICA**. [s.l.: s.n.].

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. ANALYSIS OF THE FLORISTIC COMPOSITION OF THE BRAZILIAN CERRADO VEGETATION III: COMPARISON OF THE WOODY VEGETATION OF 376 AREAS. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, n. 1, p. 57–109, 2003.

SAJID, M.; BAIG, N.; ALHOOSHANI, K. Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine: Challenges and opportunities. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 368–385, 2019.

SENA, P. L. M. Utilização de carvão ativado vegetal no processo de adsorção: uma revisão bibliográfica. 2020.

SKOOG, D. A. et al. Fundamentos de química analítica: tradução da 9 edição norte-americana. **Cengage Learning Nacional**, ed, v. 2, 2015.

SMITH, A. Effects of caffeine on human behavior. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 9, p. 1243–1255, 2002.

SOTELO, J. L. et al. Removal of caffeine and diclofenac on activated carbon in fixed bed column. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 7, p. 967–974,

2012.

TARNOPOLSKY, M. A. Caffeine and endurance performance. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 18, n. 2, p. 109—125, 1994.

TEÓFILO, C. R. et al. Comparação dos rendimentos dos produtos de pirólise de oleaginosas. 2018.

TEÓFILO, C. R. CARLA RHAIRA TEÓFILO PIRÓLISE DE TORTA DE MACAÚBA : INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS E CARACTERIZAÇÃO DOS LAVRAS-MG. **Universidade Federal de Lavras**, 2019.

VILELA, G. F. DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM MATERIAL LAVRAS- MG. p. 0–63, 2021.

VUPPALADADIYAM, A. K. et al. Bio-oil and biochar from the pyrolytic conversion of biomass: A current and future perspective on the trade-off between economic, environmental, and technical indicators. **Science of The Total Environment**, v. 857, p. 159155, 2023.

WANG, J. ANALYTICAL ELECTROCHEMISTRY. v. 2, p. 282, 2008.

WANG, X. et al. Electrospun micropatterned nanocomposites incorporated with Cu₂S nanoflowers for skin tumor therapy and wound healing. **ACS nano**, v. 11, n. 11, p. 11337–11349, 2017.

WATWE, V.; KULKARNI, P. Evaluation of Cr(VI) adsorption on glutaraldehyde crosslinked chitosan beads using cyclic voltammetry employing gold electrode. **Journal of Analytical Science and Technology**, v. 12, n. 1, 2021.

WILEY, N. Y. Allen J . Bard and Larry R . Faulkner , *Electrochemical Methods* : v. 38, n. 12, p. 1505–1506, 2002.

XIE, Y. et al. A critical review on production, modification and utilization of biochar. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 161, p. 105405, 2022.

YANG, X.; CHENG, H. Recent Developments of Flexible and Stretchable Electrochemical Biosensors. **Micromachines**, v. 11, n. 3, 2020.