

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA**

**MATHEUS CHAGAS MELONIO**

**DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA UTILIZANDO  
MICROELETRODO DE OURO**

**São Luís  
2019**

**MATHEUS CHAGAS MELONIO**

**DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA UTILIZANDO  
MICROELETRODO DE OURO**

Monografia apresentada junto à Coordenação do Curso de Química da Universidade Federal do Maranhão como um dos requisitos para obtenção do grau de Licenciado em Química.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luiza Maria Ferreira Dantas

**São Luís**

**2019**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Melonio, Matheus Chagas.

Determinação de cafeína utilizando microeletrodo de ouro / Matheus Chagas Melonio. - 2019.

43 f.

Orientador(a): Luiza Maria Ferreira Dantas.

Monografia (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Cafeína. 2. Eletroanalítica. 3. Microeletrodo de ouro. I. Dantas, Luiza Maria Ferreira. II. Título.

# **DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA UTILIZANDO MICROELETRODO DE OURO**

**MATHEUS CHAGAS MELONIO**

Monografia apresentada junto à Coordenação do Curso de Química da Universidade Federal do Maranhão como um dos requisitos para obtenção do grau de Licenciado em Química.

Aprovada em 12 de dezembro de 2019.

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> LUIZA MARIA FERREIRA DANTAS (Orientadora)

Departamento de Tecnologia Química/CCET/UFMA

---

Prof. Dr. NESTOR EVERTON MENDES FILHO

Departamento de Tecnologia Química/CCET/UFMA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> JACIENE JESUS CARDOSO ROCHA

Departamento de Tecnologia Química/CCET/UFMA

Dedico este trabalho aos meus amados pais,  
Lobato e Conceição, e ao meu irmão Fellipe.  
Sem vocês jamais teria chegado até aqui.

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus por tudo. Pelo dom da vida e por ter me permitido nascer, ter saúde e lutar por cada sonho que Ele me permitiu ter.

Aos meus pais, Lobato e Conceição, que apesar de tantas circunstâncias adversas nunca desistiram de lutar por nossa família, sempre apoiando a mim e meu irmão em nossas jornadas em busca de nossos sonhos.

Ao meu irmão Fellipe pelo companheirismo e por ter me ajudado em tudo que precisei nos momentos mais difíceis ao longo dos últimos meses.

Aos demais familiares por todo incentivo, especialmente minha avó Lucia, por ter me ajudado sempre.

À minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luiza Dantas pela oportunidade concedida, pela paciência e por todo conhecimento compartilhado, desde a época das disciplinas no início do curso até o desenvolvimento deste trabalho.

Não sei o que seria deste trabalho sem os conselhos e dicas de um expert na área, meu caro amigo William, que me ajudou muitíssimo desde que embarquei nessa aventura. Sei que você tem um enorme potencial e espero que alcance todos os seus objetivos.

Ao meu amigo Lucas. Deus sabe as aventuras que passamos juntos desde que nos conhecemos e a amizade e confiança construída ao longo dos anos. Sou grato por tudo que ganhei em ter conhecido você.

Ao meu amigo Patrick, que caminhou comigo esse percurso, me incentivando e apoiando em todos os momentos. Com você com certeza foi mais fácil.

Às minhas amadas irmãs de coração Ákila e Aline. O apoio de vocês foi importantíssimo para mim.

À galera do Laboratório de Eletroquímica: Professores, Geyse, Mesaque, Junior Wellington, Wemerson, Anny, pelo acolhimento e companheirismo ao longo deste período.

Aos demais colegas que ingressaram no curso comigo em 2015 pelas amizades e momentos juntos.

A todos que de alguma forma me ajudaram no decorrer de todo esse longo percurso. Muito obrigado!

“A persistência é o menor caminho do êxito”.  
Charles Chaplin

## RESUMO

A cafeína é um alcaloide natural que pertence aos derivados N-metílicos da xantina. A cafeína é uma substância mundialmente consumida, no entanto, toda a cafeína consumida acaba sendo excretada no esgoto, e este ao passar por tratamento não elimina a cafeína de forma eficaz, bem como outros contaminantes emergentes. Dada a importância de se determinar a concentração de cafeína em matrizes alimentícias, fluidos biológicos e águas de tratamento, diferentes métodos têm sido aplicados. Neste trabalho estudou-se uma forma de determinação da cafeína utilizando o microeletrodo de ouro em meio ácido. Os resultados obtidos mostraram que o eletrodo de ouro responde como sensor eletroquímico para cafeína no intervalo de potencial de 0,1 a 1,7 V e que apresenta um aumento na corrente de pico anódico com o aumento da velocidade de varredura. O processo oxidativo para cafeína foi avaliado como irreversível, com transporte de massa ocorrendo por difusão. Por meio da técnica amperométrica observou-se a possibilidade de aplicação analítica do microeletrodo de ouro para a quantificação de cafeína.

**Palavras-chave:** Cafeína. Microeletrodo de ouro. Eletroanalítica



## ABSTRACT

Caffeine is a natural alkaloid that belongs to N-methyl xanthine derivatives. Caffeine is a globally consumed substance, however, all consumed caffeine ends up being excreted in the sewage, which when treated does not effectively eliminate caffeine as well as other emerging contaminants. Given the importance of determining caffeine concentration in food matrices, biological fluids and treatment waters, different methods have been developed. In this work, we studied a method for caffeine determination using the gold microelectrode in acid medium. The results showed that the gold electrode responds as an electrochemical sensor for caffeine in the potential range from 0.1 to 1.7 V and that it presents an increase in anode peak current with increasing scanning speed. The oxidative process for caffeine was evaluated as irreversible, with mass transport occurring by diffusion. Through the amperometric technique it was noticed the possibility of analytical application of the gold microelectrode for the quantification of caffeine.

**Keywords:** Caffeine. Gold Microelectrode. Electroanalytical.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da cafeína.....	5
Figura 2: Célula eletroquímica e eletrodos utilizados durante o estudo, da esquerda para direita: eletrodo auxiliar, eletrodo de ouro e eletrodo de referência. ....	14
Figura 3: Sistema eletroquímico para estudo da cafeína. ....	15
Figura 4: Voltamograma cíclico obtido com $\mu\text{Au}$ em solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$ . ....	17
Figura 5: Voltamograma cíclico do $\mu\text{Au}$ em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . .	18
Figura 6: Voltamogramas cíclicos obtido com $\mu\text{Au}$ em solução de $\text{HClO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência (—) e presença (—) de cafeína $4,85 \text{ mmol L}^{-1}$ , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	19
Figura 7: Esquema do mecanismo de oxidação da cafeína. ....	20
Figura 8: Voltamogramas cíclico obtido com $\mu\text{Au}$ em $\text{HClO}_4$ , $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ antes e após sucessivas adições de cafeína ( $1,01$ ; $2,0$ ; $2,79$ ; $3,92$ e $4,85 \text{ mmol L}^{-1}$ ), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	20
Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtidos sobre $\mu\text{Au}$ em $\text{H}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo cafeína $1 \text{ mmol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura: $10$ ; $25$ ; $50$ ; $75$ e $100 \text{ mV s}^{-1}$ (A). Dependência entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura (B). ....	21
Figura 10: (A) Voltamogramas cíclicos obtido com $\mu\text{Au}$ nos eletrólitos avaliados na ausência e presença de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de cafeína, $0,05 \text{ Vs}^{-1}$ . (B) Influência do eletrólito de suporte na corrente de pico anódico de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de cafeína. ....	22
Figura 11: Dependência da corrente da corrente de pico anódico em função da variação do pH. ....	23
Figura 12: Voltamogramas cíclicos obtidos com $\mu\text{Au}$ em ácido sulfúrico (A) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (B) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (C) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e (D) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ; (—) antes e (—) após adição de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de cafeína, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ . ....	24
Figura 13: Dependência da corrente de pico anódica de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de cafeína com a concentração de $\text{H}_2\text{SO}_4$ . ....	25
Figura 14: (A) Sinais amperométricos obtidos para adições de cafeína no intervalo de concentração de $47,6$ a $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ . (B) Curva analítica para oxidação da cafeína. ....	26

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
3.1	Objetivo Geral	4
3.2	Objetivos Específicos	4
<b>4</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>5</b>
4.1	Cafeína	5
4.2	Contaminantes emergentes	6
4.3	Técnicas eletroquímicas	8
4.4	Amperometria	9
4.5	Sensores eletroquímicos	10
4.5.1	Microeletrodos	10
<b>5</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>12</b>
5.1	Reagentes e soluções	12
5.2	Instrumentação	12
5.3	Construção dos eletrodos	13
5.3.1	Microeletrodo de ouro ( $\mu\text{Au}$ )	13
5.3.2	Eletrodo de referência (Ag/AgCl/KCl <sub>sat</sub> )	13
5.3.3	Eletrodo auxiliar (Fio de platina)	14
5.4	Medidas eletroquímicas	14
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>16</b>
6.1	Avaliação do microeletrodo de ouro ( $\mu\text{Au}$ )	16
6.2	Comportamento eletroquímico da cafeína	17
6.3	Desenvolvimento do método analítico	21
6.3.1	Escolha do eletrólito	21
6.3.2	Influência do pH na corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ )	22
6.3.3	Variação da concentração do eletrólito	23
6.3.4	Construção da curva de calibração	26
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>28</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>29</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As Xantinas são uma classe de compostos orgânicos de grande importância biológica, sendo encontradas em diversas espécies vegetais, dentre elas a *Coffea arábica*, uma espécie de café encontrada na Etiópia [1,2]. São espécies químicas derivadas da base nitrogenada purina, sendo classificadas como alcaloides purínicos, pois estas não são sintetizadas a partir de aminoácidos [1]. Como representantes desse grupo estão a Teofilina, a Teobromina e, a mais famosa delas, a Cafeína.

A cafeína (CAF) é um alcalóide natural pertencente a derivados N-metílicos da xantina [3]. Devido à alta popularidade do café, que é consumido como bebida diária em muitos países e por sua larga utilização em diversos produtos da indústria alimentícia como chás, chocolates, refrigerantes e energéticos, é sem dúvida umas das substâncias mais consumidas do mundo [4,1].

O alto consumo de cafeína presente principalmente em bebidas como café e energéticos se justifica pelos seus efeitos psicoativos, principalmente como estimulante do sistema nervoso central, que provoca um estado de excitação e alerta, bastante almejado pelos consumidores dessas mercadorias [5].

A cafeína também é amplamente utilizada na indústria farmacêutica [6]. Tal aplicação se deve as suas propriedades farmacológicas que vem recebendo atenção crescente nos últimos anos na produção de novos fármacos, associado ou não a outros compostos [7]. Analgésicos e anti-inflamatórios são exemplos comuns de remédios contendo cafeína [6].

A cafeína tem muitos efeitos fisiológicos benéficos para o organismo humano. Pode-se destacar a melhora no desempenho do sistema cardiovascular, aumento da capacidade de alerta, redução da fadiga, melhora no desempenho de atividades que exijam um estado de maior vigilância [8], como também suas propriedades diuréticas e sua utilização no alívio de dores como as enxaquecas [9].

Estudos corroboram que o consumo moderado de cafeína por adultos não é prejudicial à saúde [8]. No entanto, o consumo regular excessivo pode causar efeitos negativos em diversos grupos populacionais, gerando sintomas como perda da qualidade do sono, aumento da pressão arterial, tremedeiras e nervosismo, podendo ainda levar à óbito, se atingida a dose letal, estimada entre 150 a 200 mg Kg<sup>-1</sup> [3,5,8].

Devido sua vasta utilização, a cafeína passou a integrar um grupo de compostos denominados contaminantes emergentes (CEs). Contaminantes ou poluentes emergentes são substâncias com potencial tóxico ou nocivo à saúde humana e meio ambiente ainda pouco

conhecidas, que vem sendo introduzidos no ecossistema através das atividades humanas, decorrente dos avanços tecnológicos alcançados. Como exemplos podemos citar vários pesticidas, compostos polihalogenados, fármacos, produtos de higiene, etc [10,11].

## 2 JUSTIFICATIVA

A presença de cafeína em diversas matrizes, sua significativa utilização em vários produtos, bem como a sua classificação como contaminante emergente tornam importante o desenvolvimento de novas metodologias que sejam sensíveis, seletivas e de baixo custo para aplicação na determinação e quantificação desse alcaloide.

Dada a importância em se determinar a concentração de cafeína em matrizes alimentícias, fluidos biológicos e águas de tratamento, diferentes métodos têm sido aplicados, podendo-se destacar as técnicas espectroscópicas e cromatográficas, bastante utilizadas para esse fim. No entanto, são técnicas que requerem pré-tratamento de amostra e alto custo de análise.

Como alternativa, o emprego de técnicas eletroquímicas são uma opção pois apresentam vantagens como, o baixo custo e rapidez de análise, alta seletividade e sensibilidade além da possibilidade de miniaturização dos equipamentos, o que oferece possibilidade de análise in loco [3,5].

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Desenvolver um método eletroanalítico para determinação da cafeína utilizando microeletrodo de ouro.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

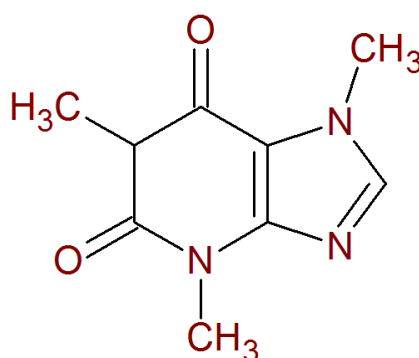
- Fabricar microeletrodos de ouro para emprego em técnicas eletroquímicas;
- Estudar o comportamento eletroquímico da cafeína utilizando microeletrodo de ouro;
- Otimizar as condições experimentais para desenvolvimento da metodologia analítica para quantificação da cafeína;
- Quantificar a cafeína por amperometria.

## 4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 4.1 Cafeína

A cafeína é uma substância natural classificada como um alcalóide pertencente ao grupo das xantinas. É nomeada, segundo a união internacional de química pura e aplicada, IUPAC (do inglês International Union of Pure and Applied Chemistry), como 1,3,7-trimetilxantina, apresentando fórmula molecular  $C_8H_{10}N_4O_2$  ( Figura 1) [8].

Figura 1: Estrutura química da cafeína.



Fonte: Próprio autor (2019).

Apresenta-se como um pó branco de aspecto semelhante ao de agulhas, ponto de fusão igual a 238 °C e sublimando a uma temperatura igual a 178 °C dentro das condições normais de temperatura e pressão. Tem sabor amargo característico da classe dos alcaloides, não tem cheiro e apresenta-se bastante solúvel em água quente [2].

A cafeína é substância frequente em diversas plantas como nas folhas de chá verde (*Camilla sinensis*) e erva mate (*Ilex paraguayensis*) como também em derivados vegetais nos quais podemos citar sementes de café (*Coffee sp.*), no cacau (*Theobroma cocoa*) e no guaraná (*Paullinia cupana*) [8].

Tal ocorrência se deve ao fato dessa xantina apresentar atividade biológica ativa nessas espécies [12], desempenhando em algumas delas um papel de defesa no organismo desses vegetais, agindo como um pesticida natural [13]. Estudos apontam que níveis elevados de cafeína são encontrados em plantas jovens, principalmente nas que ainda estão desenvolvendo folhagens e não possuem um sistema mecânico de defesa desenvolvido [14]. A cafeína age paralisando e matando insetos que se alimentam de suas folhas, possibilitando assim maior chance de sobrevivência [15].



A cafeína é sem sombra de dúvida uma substância bastante presente no nosso cotidiano. Encontrada em diversos produtos como bebidas, fármacos e vários alimentos comumente consumidos, dentre os quais pode-se elencar chocolates, energéticos de vários tipos, bem como o mundialmente consumido café, bebida matinal culturalmente consumida em muitos países - dentre eles o Brasil - um dos maiores consumidores dessa bebida no mundo [1].

A cafeína se tornou parte da vida do homem contemporâneo e isso se justifica pelas suas propriedades químicas que apresentam muitas aplicações de interesse para o ser humano [16]. A cafeína apresenta diversos efeitos fisiológicos conhecidos (benéficos e maléficos) que ainda necessitam de mais estudos em relação a sua atividade no organismo pois de acordo com Bortolini, Sicka e Foppa (2010), as xantinas - dentre as quais se inclui a cafeína – oferecem ainda um campo de pesquisa bastante relevante no que concerne aos efeitos dessa substância no organismo humano a curto e longo prazo [17,18].

Dentre os efeitos benéficos da utilização da cafeína estão a estimulação do sistema nervoso central [19], o que diminui a fadiga dando uma sensação revigorante e aumentando o estado de alerta; estimulação da atividade brancodilatadora, o que leva a uma melhora na respiração sendo bastante aplicada para tratamento de pacientes com asma, e em doses elevadas é utilizada para aumentar a contratilidade do coração para melhoria do sistema cardiovascular [18].

O uso abusivo desse alcalóide de forma regular ou até mesmo intensiva pode acarretar diversos problemas para a saúde do consumidor. Várias pesquisas na área da saúde relatam os efeitos perigosos para o consumo não moderado de cafeína, uma vez que essa pode causar alterações comportamentais como ansiedade, irritabilidade e nervosismo [3,8]. Outros sintomas recorrentes são convulsões, dores de cabeça e estômago, insônia, tremedeiras, podendo também levar a um estado de dependência [18].

## **4.2 Contaminantes emergentes**

A saúde ambiental tem se tornado um tema relevante e cada vez mais discutido em nossa sociedade atual. Com o advento do desenvolvimento humano ao longo dos séculos e os avanços tecnológicos alcançados pelas ciências da natureza, inúmeras substâncias foram e ainda são utilizadas nas mais diversas áreas, sem que se saiba os efeitos que podem causar não só para o homem que as utiliza, mas também para os demais seres vivos, uma vez que muitos anos podem passar antes que seus efeitos nocivos se manifestem e medidas preventivas ou remediativas sejam tomadas para atenuá-los [20,21].

Produtos químicos são largamente utilizados na sociedade moderna, sendo produzidos e comercializados no mundo inteiro com as mais diversas finalidades e aplicações. Contudo, pode-se encontrar na geração de resíduos a principal desvantagem na produção e utilização dessas substâncias, sejam elas direta ou indiretamente decorrentes das atividades industriais ou do consumo pela sociedade; gerando impactos negativos ao meio ambiente nos quais são inseridos [21].

Denomina-se contaminantes emergentes (CE) substâncias de origem animal ou sintética, assim como microrganismos, suspeitos de produzirem efeitos potencialmente nocivos (encontrados em matrizes ambientais e biológicas), que não apresentam monitoramento regular ou ainda sem legislação regulatória correspondente, com potencial risco à saúde humana e ao meio ambiente [21,20].

Ao longo dos anos, diversos estudos têm comprovado que a exposição crônica a substâncias desse grupo pode acarretar problemas para animais e seres humanos. Esses compostos são encontrados na natureza em baixas concentrações e em diversos tipos de matrizes, dentre as quais se destacam as matrizes aquáticas, principalmente daquelas que decorrem de tratamento de esgoto [22].

Contaminantes emergentes podem ser classificados ainda de acordo com sua origem: fármacos, produtos de higiene pessoal, drogas ilícitas, esgoto de uso industrial, compostos de uso industrial, pesticidas e hormônios, um dos tipos mais nocivos. Além desses, microrganismos e toxinas de algas também são classificados como contaminantes emergentes [23,22].

Os pesquisadores têm recorrido às propriedades físico-químicas na tentativa de saber quais os prováveis destinos desses compostos no ambiente, assim como, qual deve ser o melhor método empregado para sua determinação em amostras ambientais. Outros parâmetros como temperatura, e pH têm sido usados para estabelecer as concentrações em que essas substâncias se encontram em seus respectivos meios. Para fármacos, drogas e produtos de higiene pessoal, aponta-se como principal fonte de contaminação os afluentes das estações de tratamento de esgoto (ETE) [22].

Presente em alguns produtos da indústria farmacêutica como antigripais, analgésicos e inibidores de apetite, a cafeína aparece como uma das substâncias mais estudadas da classe dos contaminantes emergentes. A presença de cafeína em matrizes aquáticas é atribuída a atividade antrópica e devido a seu alto consumo, pode ser encontrada no ambiente em quantidade suficiente para ser detectada por meio de técnicas analíticas simples [22].

A cafeína pode ser encontrada em concentrações altas no esgoto que podem chegar a  $\text{mg L}^{-1}$ , e por ser um composto estável e com solubilidade considerável em água não é removida com total eficácia nas ETE. Desse modo, a cafeína é um contaminante certo em águas de abastecimento público oriundos de mananciais impactados [24,22].

Devido aos motivos elencados nos últimos parágrafos, a cafeína reúne características que a classificam como marcador químico sensível e específico para atividade antrópica, sinalizando a presença de diversas outras substâncias como hormônios, fármacos e produtos de higiene. Cabe destacar ainda que estudos tem tentado atribuir potencial estrogênico em matrizes onde a cafeína é encontrada, uma vez que sua presença indica a ocorrência de outros compostos com potencial nocivo ao sistema endócrino [20,22].

A ecotoxicidade é um dos efeitos nocivos da cafeína, que pode causar consequências adversas tanto em microrganismos quanto em anfíbios e peixes. Estudos realizados mostram que exposição a altas concentrações de cafeína podem provocar deficiência locomotiva, má formação e morte de embriões de peixes, além de interferir no desenvolvimento de larvas de anfíbios [20].

Diante dessa perspectiva, mostra-se importante o monitoramento não só da cafeína como também de outros compostos da classe dos contaminantes emergentes na tentativa de minimizar sistematicamente seus efeitos aos seres humanos e as demais comunidades biológicas [20,22].

### **4.3 Técnicas eletroquímicas**

As técnicas eletroquímicas estão entre as mais utilizadas por pesquisadores da área analítica. Mostram-se como poderosas ferramentas com notável potencial para resolução dos mais variados problemas dentro do campo da química [25]. Constituem-se num conjunto de métodos - qualitativos e quantitativos - bastante utilizados pelos químicos analíticos para determinação e quantificação de espécies com base em suas propriedades redox [25,26].

Suas características têm despertado cada vez mais o interesse dos pesquisadores dessa área, muito em função da atual demanda por pesquisas na área ambiental [26]. Dentre as características que chamam a atenção e fazem dela uma opção a ser empregada durante a elaboração de estudos estão a elevada sensibilidade das determinações, custo moderado e portabilidade [25].

Outros aspectos vantajosos inerentes às técnicas eletroquímicas incluem sua versatilidade, uma vez que a seleção criteriosa de um potencial adequado aplicado à célula e a

modificação da interface eletrodo/solução torna possível o controle das reações eletroquímicas. Ainda nesse contexto, destacam-se também o fácil manuseio dos equipamentos, a grande variedade de espécies possíveis para a determinação e a chamada “compatibilidade ambiental”, uma vez que o reagente principal desse tipo de sistema é o elétron [25].

Pode-se definir as técnicas eletroquímicas como sendo aquelas onde ocorre a aplicação de uma diferença de potencial elétrico para que uma reação de eletrólise ocorra na superfície de um eletrodo [27]. Dentre as técnicas que mais se destacam encontram-se as técnicas voltamétricas uma vez que elas permitem fazer análises na maioria das vezes sem procedimentos de pré-tratamento de amostra de maneira rápida e simples [3,28].

Essas técnicas estão fundamentadas em fenômenos que se processam na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e uma fina camada adjacente a essa superfície. São consideradas técnicas dinâmicas, pois, a cela eletroquímica é utilizada na presença de corrente elétrica, sendo esta medida em função da aplicação de um potencial controlado [28,26].

As informações obtidas a partir dessa técnica são coletadas a partir da medição da magnitude da corrente elétrica que se origina entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar, quando estes estão submetidos a uma diferença de potencial entre os eletrodos de trabalho e referência respectivamente [26].

#### **4.3.1 Amperometria**

A amperometria também é outro exemplo de técnica eletroquímica empregada em determinações analíticas. Baseia-se na medição da corrente ao se aplicar um potencial constante, em que a intensidade da corrente está diretamente ligada à concentração de espécies eletricamente ativas na solução. Desse modo, a magnitude da corrente produzida pelas reações redox se reflete na concentração do analito, onde os registros são obtidos por meio de curvas de corrente versus tempo [27,29].

Esta técnica relaciona a corrente que flui através do eletrodo de trabalho em função do aumento ou diminuição da concentração do analito com a aplicação de um potencial constante durante um determinado espaço de tempo [30].

Na amperometria são realizadas medições de valores muito baixos de corrente (devido a baixas concentrações). Isso se deve à ausência virtual de corrente capacitiva e menor efeito de contaminação da superfície do eletrodo de trabalho, o que favorece seu emprego como técnica analítica para determinação de várias espécies químicas de interesse [31].

## 4.4 Sensores eletroquímicos

De acordo com a definição feita por Lowinsohn e Bertotti (2006), sensores químicos são dispositivos que oferecem ao pesquisador a possibilidade mínima de interferência na obtenção e coleta de dados do sistema estudado, o que torna possível fazer correlações baseado nos resultados obtidos com outros parâmetros do ambiente onde estão inseridos.

Sensores eletroquímicos são dispositivos que apresentam características peculiares que os distinguem de métodos instrumentais de largo porte, os quais apresentam-se cada vez mais precisos e seletivos, porém sem permitir análises e obtenção de informações *in situ* e em tempo real [25].

Ainda que não tenham precisão e exatidão comparáveis aos métodos instrumentais, os sensores oferecem ao pesquisador a chance de obter dados nessas condições experimentais com elementos suficientes para a tomada de decisões, durante a realização de um estudo em campo [25].

Dentre as características que se destacam por serem vantajosas em relação a este tipo de equipamento estão o baixo custo para sua aquisição, a facilidade de automação e, principalmente, a possibilidade de miniaturização [25].

### 4.4.1 Microeletrodos

Embora o emprego de sensores com dimensões micrométricas remonte à década de 40, a miniaturização de sistemas eletroquímicos tem se constituído como uma tendência crescente no panorama atual das ciências, principalmente naquelas que tem como objetivo contribuir com pesquisas na área ambiental [25]. Nas últimas décadas, o número de publicações envolvendo microsensores teve um aumento significativo. O aparecimento de novas estratégias para fabricação de eletrodos com dimensões ainda menores que os modelos clássicos, assim como a simplicidade da instrumentação empregada no manuseio desses equipamentos justificam o emprego dessa classe de sensores em vários campos da química analítica, [32,33].

Paixão e Bertotte (2009) definiram como microeletrodos sensores químicos com dimensões micrométricas ou sub-micrométricas. Embora esse seja o termo corrente mais empregado para definir esse tipo de sensor, outros nomes como eletrodos microscópicos ou ainda *ultramicroeletrodos* são utilizados e encontrados na literatura para distingui-los de eletrodos voltamétricos clássicos [32].

Na definição do termo “microeletrodo” é necessário, além do tamanho e forma da superfície eletródica, considerar adicionalmente, parâmetros intrínsecos da técnica eletroanalítica empregada, que por sua vez governam a espessura da camada de difusão. Além disso, eletrodos de tamanho convencional (raio =  $10^{-3}$  m) podem sob determinadas circunstâncias experimentais se comportar como microeletrodos, tornando a definição supracitada como arbitrária. Nesse sentido, uma definição mais abrangente do termo microeletrodo seria aquela que os caracteriza como qualquer eletrodo cuja dimensão em uma dada condição experimental seja comparável ou menor que a da camada de difusão [33].

Eletrodos miniaturizados são geralmente menores que 20  $\mu\text{m}$ , podendo ser tão pequenos quanto décimos de um micrômetro [32]. Estes dispositivos podem assumir várias formas, dentre as quais pode-se destacar aqueles construídos prendendo-se um fio de ouro ou platina com dimensões de 0,3 a 20  $\mu\text{m}$ , em um tubo capilar fino; quando então são cortados e selados rente às extremidades dos tubos. Outras configurações encontradas na literatura são; disco, anel, cilíndrico, cônico, esfera, entre outros [32,33].

Uma vez que foram apresentadas as definições e características dimensionais dos microeletrodos, pode-se elencar as vantagens que tanto tem atraído pesquisadores da área de eletroanalítica para o desenvolvimento e emprego dessa classe de eletrodos. Entre as propriedades que esses dispositivos apresentam e que ajudam a justificar o interesse já mencionado estão: o aumento da razão corrente faradáica/corrente capacitiva,  $I_F/I_C$ , uma vez que a corrente capacitiva decai proporcionalmente com a área do sensor, enquanto que a corrente faradáica é proporcional aos parâmetros dimensionais do eletrodo; a queda ôhmica,  $IR$ , considerada virtualmente desprezível como consequência dos baixos valores de corrente mensurados com microeletrodos, possibilitando estudos eletroquímicos de sistemas redox em solventes com elevada resistência ou na ausência de eletrólito de suporte, o tamanho pequeno desses eletrodos, que propicia seu emprego para investigação de microambientes, entre outras mais [32,33].

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados para realização das análises eram de grau analítico e as soluções preparadas com utilização de água deionizada em sistema de purificação MilliQ (Millipore). Na tabela 1 encontram-se todos os reagentes utilizados durante as análises e suas respectivas procedências.

Tabela 1: Lista dos reagentes utilizados com suas respectivas procedências.

REAGENTES	ORIGEM
Cafeína	
Ácido Perclórico	Sigma - Aldrich
Ácido Sulfúrico	
Ácido Nítrico	
Ácido Fosfórico	
Ácido Bórico	Isofar
Ácido Acético	
Cloreto de potássio	
Ferrocianeto de potássio	Merck S.A

Fonte: Próprio autor (2019).

As soluções padrão de cafeína foram preparadas diariamente por pesagem e dissolução em solução de ácido sulfúrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . No teste de verificação da resposta da cafeína, variação do eletrólito de suporte e pH do meio, foram utilizados como eletrólitos de suporte, na concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , as seguintes soluções:  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HCl}$ . Para o estudo do pH utilizou-se o tampão Brintton-Robinson (BR), preparada a partir da mistura dos ácidos: acético, fosfórico e bórico, todos na concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , e o pH ajustado por meio da adição de solução de  $\text{NaOH } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$ . Todas as soluções foram preparadas conforme procedimentos descritos na literatura [34].

### 5.2 Instrumentação

Todos os procedimentos eletroquímicos foram realizados utilizando-se um potenciostato Ivium-n-Star, controlado pelo software IviumSoft™ Electrochemistry, conectado a um computador e um sistema composto de uma cela eletroquímica e três eletrodos, sendo estes: o eletrodo de trabalho (microeletrodo de ouro), eletrodo de referência ( $\text{Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$ ) e eletrodo auxiliar (fio de platina) conforme pode-se observar na Figura 2. Para a agitação das

soluções entre as medidas eletroquímicas utilizou-se um agitador magnético modelo 751 da Fisaton Equipamentos Científicos Ltda e uma barra magnética. Para medições de pH foi utilizado o medidor de pH modelo 827 pH lab da Metrohm.

### 5.3 Construção dos eletrodos

Todos os eletrodos utilizados durante o desenvolvimento deste trabalho foram construídos no próprio laboratório de eletroquímica. Os procedimentos de construção estão descritos a seguir:

#### 5.3.1 Microeletrodo de ouro ( $\mu\text{Au}$ )

O microeletrodo de ouro ( $\mu\text{Au}$ ) foi construído conectando-se um pedaço de aproximadamente 2 cm da fibra do metal, 12,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, a um fio de Ni/Cr de 15 cm de comprimento. A fixação da fibra foi feita enrolando-se parte da fibra de ouro no fio de Ni/Cr e em seguida aplicando-se pequena quantidade de cola de prata (PC-9145). Para sua fixação após secagem da cola foi realizado processo de limpeza da fibra para eliminação de resíduos. Para isso, o fio de ouro foi imerso em solução de ácido sulfúrico 1,0 mol L<sup>-1</sup> por cerca de 2 minutos. Em seguida a fibra foi imersa em álcool etílico para remoção de resíduos ácidos. Após a secagem o fio de Ni/Cr foi fixado em uma pipeta de Pasteur previamente adaptada para o tamanho desejado com Parafilm M<sup>®</sup>, deixando-se 0,5 cm da fibra exposta na parte inferior da pipeta. Em seguida, foi feita a selagem da extremidade contendo a fibra de ouro com a chama de um bico de Bunsen.

Para que a fibra fosse exposta, a parte inferior do microeletrodo foi polido com lixa d'água de granulometria 1200 e alumina 0,3  $\mu\text{m}$ . Após essa etapa, o microeletrodo foi lavado abundantemente com água para eliminação de resíduos do processo de confecção.

Para avaliação do funcionamento do microeletrodo de ouro voltamogramas cíclicos em solução de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  em cloreto de potássio como eletrólito de suporte, foram construídos e comparados com os perfis característicos de um microeletrodo.

#### 5.3.2 Eletrodo de referência (Ag/AgCl/KCl<sub>sat</sub>)

Durante a realização de todos os experimentos voltamétricos foi utilizado o eletrodo de prata/cloreto de prata como eletrodo de referência. Para sua confecção, tomou-se um fio de prata do tamanho desejado, previamente limpo, e realizou-se um polimento com auxílio de uma lixa d'água e em seguida lavando com água destilada. Após essa etapa, foi realizada a



eletrodeposição de cloreto de prata na superfície do fio através da aplicação de um potencial constante por alguns segundos, buscando-se observar se a deposição foi feita de forma homogênea sobre a superfície do fio de prata. Em seguida o fio foi introduzido dentro de uma ponteira de micropipeta de tamanho adequado que fora previamente adaptada, tendo a sua extremidade inferior vedada por um separador de baterias e em seu interior solução saturada de KCl. A parte superior foi vedada deixando cerca de 1,0 cm exposto para o contato elétrico.

### 5.3.3 Eletrodo auxiliar (Fio de platina)

O eletrodo auxiliar de platina foi também utilizado no desenvolvimento deste trabalho. Para construí-lo, tomou-se uma pipeta de Pasteur previamente adaptada e introduziu-se um fio de platina em seu interior, deixando cerca de 2 cm de fio exposto em sua extremidade inferior. Em seguida realizou-se o processo de selagem da ponta inferior da pipeta com auxílio do bico de Bunsen e da ponta superior com resina epóxi Araldite. Na ponta inferior foi soldada uma pequena placa do mesmo metal de aproximadamente  $0,5 \text{ cm}^2$ .

## 5.4 Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram subdivididas em duas etapas. De início, estudou-se o comportamento eletroquímico da cafeína por voltametria cíclica (VC), utilizando para esse fim uma cela eletroquímica convencional composta por três eletrodos, como mostra a Figura 2.

Figura 2: Célula eletroquímica e eletrodos utilizados durante o estudo, da esquerda para direita: eletrodo auxiliar, eletrodo de ouro e eletrodo de referência.



Fonte: Próprio autor (2019).

Com a realização dessas análises pôde-se obter informações sobre as propriedades redox da cafeína bem como parâmetros a serem usados no desenvolvimento do método analítico

escolhido. Alguns parâmetros experimentais foram avaliados como por exemplo, influência do eletrólito e concentração do eletrólito de suporte.

A importância do eletrólito de suporte pode ser relacionada a uma série de fatores, dentre os quais se destaca a utilização de suas propriedades elétricas e no transporte de massa em soluções eletrolíticas. Em sistemas eletroquímicos, o eletrólito de suporte pode conferir diversas propriedades à solução e a interface estudada. Deve apresentar, em princípio, características como, alta solubilidade, alto grau de pureza, alta capacidade de ionização e ser estável química e eletroquimicamente no solvente a ser empregado [35].

Em solução, o eletrólito de suporte é responsável por quase toda a totalidade da corrente iônica da célula, pois é a espécie mais abundante no corpo da solução em relação às demais. Essa concentração elevada é responsável por manter a baixa resistência na célula eletroquímica, além de manter a força iônica do meio constante, o que impede que a composição da interface eletrodo/solução mude de forma significativa com a corrente proveniente das reações redox de interesse. Cabe destacar ainda sua contribuição na reprodutibilidade experimental e ainda na supressão da corrente capacitiva no transporte do analito para a superfície do eletrodo [36].

A segunda etapa consistiu na otimização dos parâmetros experimentais para determinação e quantificação da cafeína. O sistema era composto por uma célula eletroquímica conectada a um potenciostato, que tem a função de controlar a diferença de potencial aplicada entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, que por sua vez era conectado a um computador para processamento de dados (Figura 3).

A célula eletroquímica utilizada consistia em um recipiente cilíndrico com capacidade estimada em 10 ml, que possuía uma tampa removível com quatro orifícios, três para cada um dos eletrodos utilizados e um para inserção do analito.

Figura 3: Sistema eletroquímico para estudo da cafeína.



Fonte: Próprio autor (2019).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Avaliação do microeletrodo de ouro ( $\mu\text{Au}$ )

Para aplicação em estudos eletroquímicos ou eletroanalíticos, os microeletrodos devem ser avaliados quanto ao seu funcionamento e suas propriedades específicas, com o objetivo de verificar possíveis anomalias funcionais ou defeitos decorrentes do processo de fabricação [37], como descolamento da fibra metálica do fio condutor, má vedação ou ainda impurezas não removidas.

Usualmente, para avaliação do funcionamento do microeletrodo de ouro, utiliza-se voltametria cíclica em solução contendo um par redox de comportamento conhecido. Um dos sistemas redox mais amplamente utilizados para esse fim é uma solução  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  1,0 mmol  $\text{L}^{-1}$  contendo  $\text{KCl}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ , sendo este usado para avaliação do eletrodo de trabalho [37].

O voltamograma obtido para o microeletrodo representado na Figura 4 está de acordo com o apresentado na literatura e em potenciais de oxidação e redução característicos da espécie. A forma sigmoideal da onda em estado estacionário, bem como a ausência de histerese reflete um comportamento característico dos microeletrodos [37].

Para o cálculo do raio do microeletrodo utilizou-se a relação descrita na Equação 1, em que a corrente limite obtida no voltamograma cíclico apresentado na Figura 4 é diretamente proporcional à concentração da espécie eletroativa e ao raio do microeletrodo.

$$IL/4nFDC = r \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

$IL$  = corrente limite

$n$  = número de elétrons transferidos na reação ( $n = 1$ )

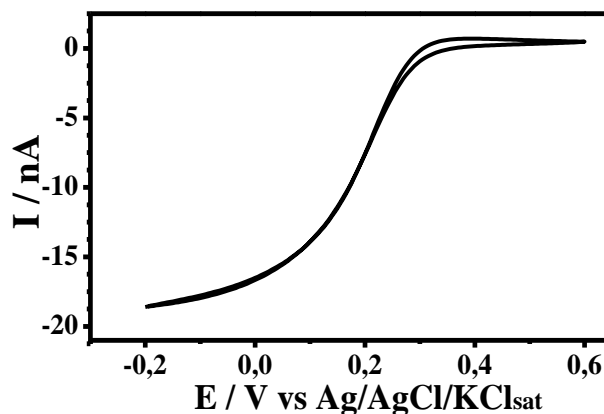
$F$  = constante de Faraday ( $F = 9,6485 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$ )

$D$  = coeficiente de difusão do mediador redox ( $7,7 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ )

$C$  = concentração da solução (0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ )

$r$  = raio

Figura 4: Voltamograma cíclico obtido com  $\mu\text{Au}$  em solução de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$ .



Fonte: Próprio autor (2019).

Os cálculos foram realizados e obteve-se o valor do raio do microeletrodo, o qual está descrito na Tabela 2.

**Tabela 2** - Comparação dos valores de raio para o eletrodo de ouro.

Raio do fio de Au	Raio do $\mu\text{Au}$
12,5 $\mu\text{m}$	13,6 $\mu\text{m}$

Fonte: Próprio autor (2019).

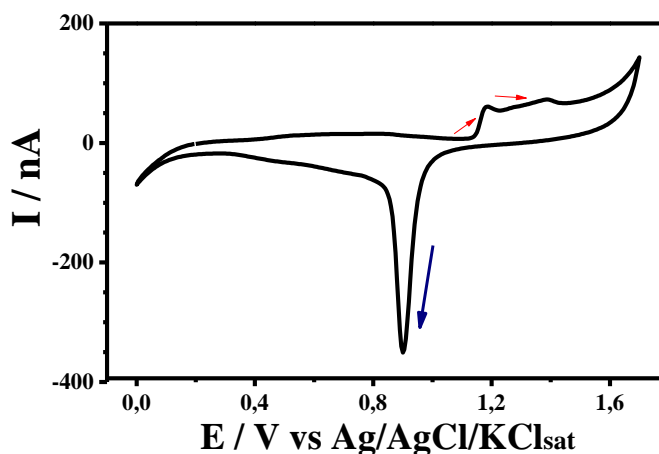
A diferença nos valores do raio do fio de ouro e do raio calculado podem ser justificados por processos de polimento e lixamento da fibra para limpeza durante os procedimentos laboratoriais. Outro fator que afeta esta medida está relacionado ao encapsulamento do fio de ouro. Nem sempre o fio de ouro utilizado fica numa posição adequada após esse processo. Por vezes pode ficar com a ponta inclinada, gerando uma superfície maior do se poderia obter se o fio estivesse numa posição mais verticalizada após as etapas já citadas.

## 6.2 Comportamento eletroquímico da cafeína

O ouro é um dos materiais mais amplamente utilizados para construção de sensores eletroquímicos, devido a suas características como sua ampla faixa de potencial e taxa de transferência eletrônica rápida, alta condutividade térmica, baixa capacidade de adsorção e estabilidade química em diferentes valores de pH [38,39,40], apresentando aplicações como eletrodo sólido ou como modificante na forma de nano partículas de ouro [41].

Inicialmente, avaliou-se o comportamento do  $\mu\text{Au}$  voltametria cíclica em solução de ácido sulfúrico  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . O voltamograma cíclico foi registrado variando-se o potencial aplicado entre  $0,0 \text{ V}$  e  $1,7 \text{ V}$ , visando avaliar a superfície do eletrodo antes do uso (Figura 5) [42].

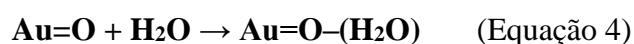
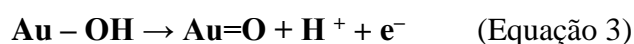
Figura 5: Voltamograma cíclico do  $\mu\text{Au}$  em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



Fonte: Próprio Autor (2019).

Pode-se observar na Figura 4 um perfil característico do eletrodo de ouro em meio ácido. As setas vermelhas na parte superior do voltamograma indicam a presença de picos de oxidação do ouro, em torno de  $1,2 \text{ V}$ . Esse pico é referente a formação de óxidos de ouro na superfície do eletrodo na varredura direta, que logo em seguida reduzem formando o pico de redução indicado pela seta azul na parte inferior do voltamograma. A repetição dos ciclos de formação e redução dos óxidos é o que causa uma atualização da superfície do eletrodo metálico, sendo assim utilizado como método de limpeza e avaliação em eletrodos de ouro [42].

As reações de eletroxidação do ouro em meio ácido já foram elucidadas e estão descritas em três etapas (Equações 2-4) [42]:

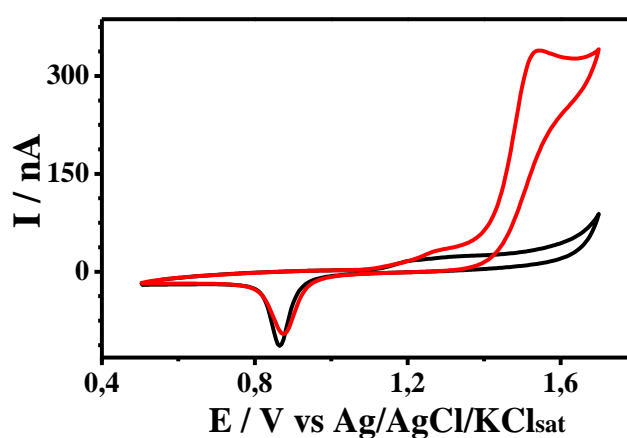


O primeiro passo da oxidação da superfície do ouro na presença de espécies de oxigênio em solução produz uma monocamada de  $\text{Au} - \text{OH}$  devido a deposição de hidroxilas e desorção de ânions quimisorvidos presentes em solução. A etapa seguinte envolve oxidação adicional a

uma mistura de óxidos de Au (II) e Au (III). Após a oxidação dessa mistura de óxidos de ouro, ocorre a troca de lugar de átomos de superfície, com adsorção de moléculas de água, resultante da repulsão entre o metal e o oxigênio (equação 4)

O comportamento eletroquímico da cafeína sobre o  $\mu\text{Au}$  foi estudado por meio de voltametria cíclica feita em solução de ácido perclórico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , na ausência e presença de cafeína (Figura 6).

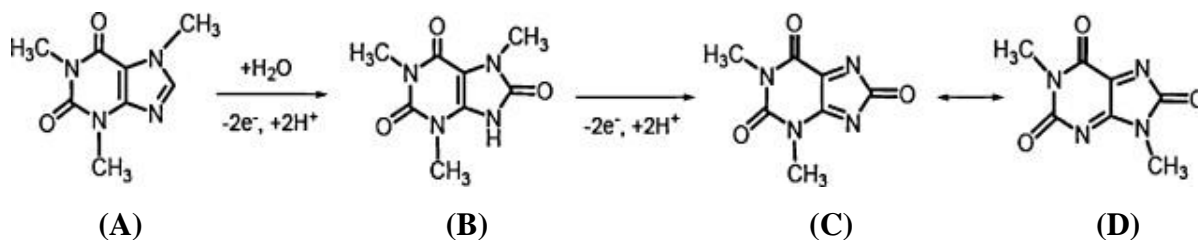
Figura 6: Voltamogramas cíclicos obtido com  $\mu\text{Au}$  em solução de  $\text{HClO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  na ausência (—) e presença (—) de cafeína  $4,85 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



Fonte: Próprio Autor (2019).

O voltamograma cíclico obtido em solução eletrolítica de  $\text{HClO}_4$  na presença de cafeína evidenciou um pico anódico irreversível em  $E_{pa} = +1,55 \text{ V}$ . O valor de potencial no qual ocorreu a oxidação está de acordo com os dados encontrados na literatura [40], bem como irreversibilidade do processo redox em meio aquoso. Em solução aquosa, o cátion radical gerado a partir da primeira reação monoeletrônica de oxidação da cafeína (**A**) reage com a água, o que leva a formação de um produto que torna a sofrer oxidação para gerar o ácido úrico substituído (**B**), em um processo que envolve  $2e^-$  e  $2H^+$ . Este produto pode ser posteriormente oxidado, resultando em um processo oxidativo geral envolvendo  $4e^-$  e  $4H^+$ . As sucessivas oxidações dos produtos da reação que ocorrem após a eletrólise da cafeína (**C** e **D**) são responsáveis por tornar irreversível o processo anódico observado no voltamograma [40,43,44]. O mecanismo simplificado pode ser visto na Figura 7.

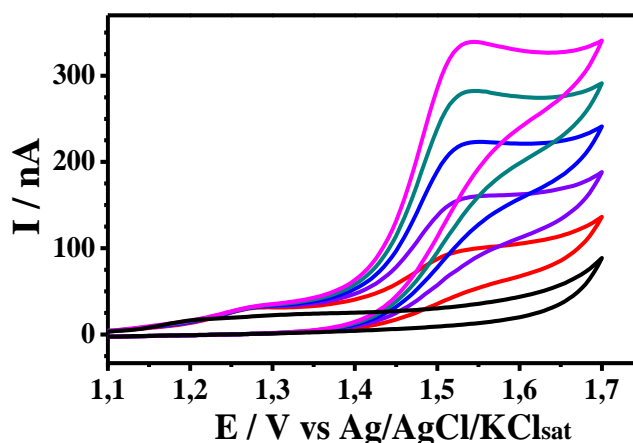
Figura 7: Esquema do mecanismo de oxidação da cafeína.



Fonte: Jun-Yong Sun et al. (2017).

Para avaliar a resposta do sensor a sucessivas adições de cafeína, foram realizadas adições crescentes de cafeína em solução de  $\text{HClO}_4$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Observa-se um aumento da corrente de pico anódica proporcional ao aumento da concentração de cafeína como ilustrado na Figura 8, mostrando a viabilidade da utilização do sensor para estudos envolvendo cafeína.

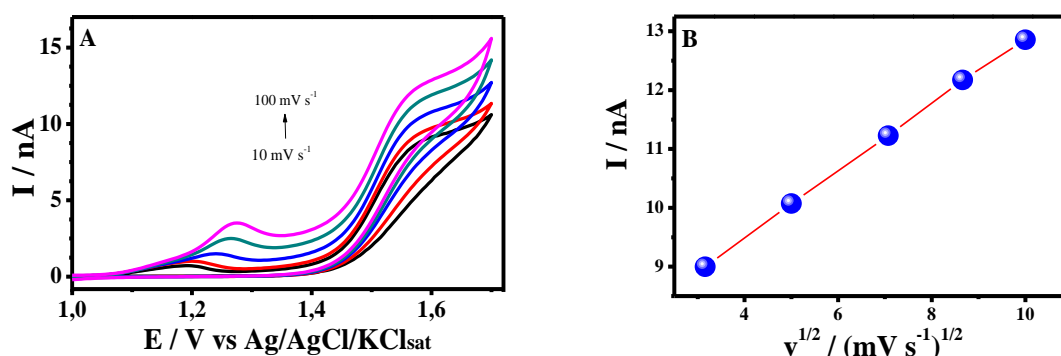
Figura 8: Voltamogramas cíclico obtido com  $\mu\text{Au}$  em  $\text{HClO}_4$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  antes e após sucessivas adições de cafeína ( $1,01$ ;  $2,0$ ;  $2,79$ ;  $3,92$  e  $4,85 \text{ mmol L}^{-1}$ ),  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



Fonte: Próprio Autor (2019).

Para avaliar a influência da velocidade de varredura sobre a corrente de pico anódico da cafeína voltamogramas cíclicos foram realizados no intervalo de potencial de  $0,6$  à  $1,7 \text{ V}$  (Figura 9). Este estudo permite verificar o mecanismo de transporte de massa na camada de difusão. Na Figura 9A estão ilustrados os voltamogramas cíclicos na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  cafeína em solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura.

Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtidos sobre  $\mu\text{Au}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo cafeína  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura: 10; 25; 50; 75 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$  (A). Dependência entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura (B).



Fonte: Próprio Autor (2019).

Observa-se na Figura 9A um leve deslocamento no potencial de pico, tanto da cafeína quanto dos óxidos de ouro formados, em direção a valores mais positivos com o aumento da velocidade de varredura. Na Figura 9B, pode-se observar uma relação linear entre a corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura ( $R^2 = 0,999$ ), indicando um processo controlado por difusão. Esse resultado está de acordo com o comportamento previsto para cafeína encontrado em trabalhos similares na literatura [44].

### 6.3 Desenvolvimento do método analítico

A seguir, serão avaliados os parâmetros para a obtenção das melhores condições reacionais para determinação de cafeína empregando o  $\mu\text{Au}$ . Os estudos iniciais, como escolha e concentração do eletrólito foram conduzidos em primeiro lugar. Em seguida, buscou-se avaliar a estabilidade do eletrodo de trabalho ( $\mu\text{Au}$ ) no meio escolhido para aplicação do método. Para aplicação do método e obtenção do limite de determinação (LD) e limite de quantificação (LQ), foi escolhida a amperometria como técnica analítica.

#### 6.3.1 Escolha do eletrólito

Foram avaliados os efeitos de três eletrólitos,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$  e  $\text{HNO}_3$ , escolhidos por serem comumente utilizados como soluções eletrolíticas em estudos voltamétrico envolvendo cafeína em trabalhos relatados na literatura [5,44-47].

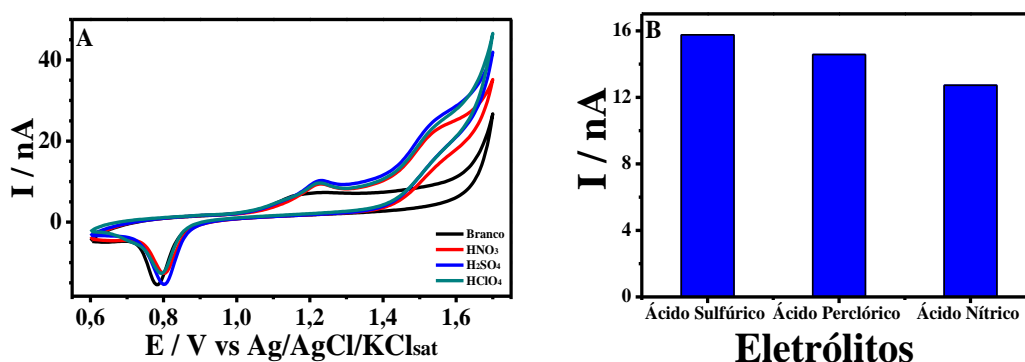
Foram preparadas soluções dos ácidos escolhidos na concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e realizadas voltametrias nos mesmos parâmetros para cada eletrólito testado ( $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E = 0,6$  a  $1,7 \text{ V}$ ), obtendo-se voltamogramas cíclicos referentes ao branco e a adição de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$



<sup>1</sup> de cafeína. A cada novo eletrólito testado, foram realizados procedimentos de polimento e limpeza do eletrodo de trabalho para garantir a remoção de impurezas da superfície do  $\mu\text{Au}$  oriundas de experimentos anteriores.

Após realizados os procedimentos experimentais, foi plotado um voltamograma comparando a resposta de cada eletrólito na ausência e presença de cafeína, como pode-se observar na Figura 10A. A Figura 10B permite melhor visualização das correntes obtidas para oxidação de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de cafeína na presença dos eletrólitos avaliados.

Figura 10: (A) Voltamogramas cíclicos obtido com  $\mu\text{Au}$  nos eletrólitos avaliados na ausência e presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de cafeína,  $0,05 \text{ Vs}^{-1}$ . (B) Influência do eletrólito de suporte na corrente de pico anódico de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de cafeína.



Fonte: Próprio Autor (2019).

Os valores de corrente de pico anódico foram obtidos por subtração do valor de corrente encontrada na ausência e na presença de cafeína. Na Figura 10B, pode-se perceber que a diferença nos valores de corrente entre os eletrólitos avaliados não foi tão pronunciada. Tal resultado foi também encontrado por Koçak e colaboradores (2018), em estudo voltamétrico envolvendo cafeína, apresentando o ácido sulfúrico, de modo semelhante, o maior valor de corrente em relação aos demais.

Com base nos valores de corrente de pico para a oxidação da cafeína, foi escolhido o  $\text{H}_2\text{SO}_4$  como eletrólito de suporte. Seu emprego é recorrente em estudos envolvendo cafeína e pode ser encontrado em trabalhos similares [45,5].

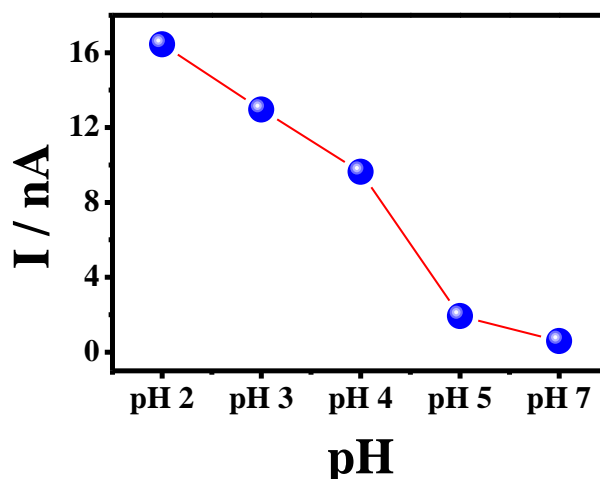
### 6.3.2 Influência do pH na corrente de pico anódica ( $I_{pa}$ )

O pH ou potencial hidrogeniônico é um termo que expressa intensidade da acidez ou basicidade de um determinado meio e varia de 0 – 14. A determinação de pH e a avaliação de sua influência é uma das mais comuns e importantes medidas realizadas no âmbito analítico,

pois é um parâmetro importante na determinação da maioria das espécies químicas de interesse uma vez que podem contribuir positiva ou negativamente em processos químicos [48].

A influência do pH nos valores de corrente de pico anódico foi avaliada através da obtenção de voltamogramas em diferentes valores pH (2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 7,0) na ausência e presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de cafeína (Figura 11).

Figura 11: Dependência da corrente da corrente de pico anódico em função da variação do pH.



Fonte: Próprio Autor (2019).

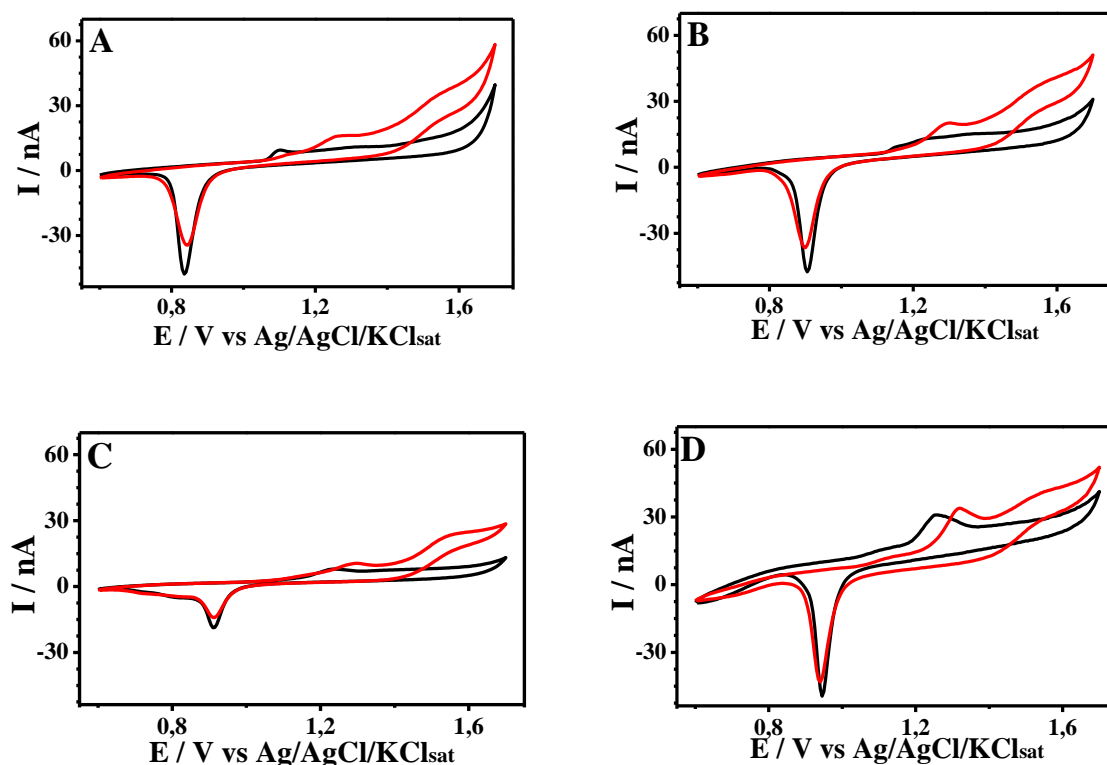
Pode-se observar na Figura 11 que ocorre um decréscimo da corrente de pico com o aumento do pH, indicando que os meios mais ácidos são mais adequados para estudos envolvendo este alcalóide. Estudos mostram ainda que valores de pH menores que 3,0 são mais adequados para determinação de cafeína havendo diminuição de sinal à medida que o pH se aproxima de regiões de menor acidez [40].

### 6.3.3 Variação da concentração do eletrólito

A concentração do eletrólito é um dos parâmetros que pode interferir de forma significativa nos resultados experimentais. Para determinar qual a concentração mais favorável do eletrólito suporte para oxidação da cafeína voltamogramas cíclicos na ausência e presença de cafeína em cada uma das concentrações avaliadas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,01;0,1;0,2 e 0,5 mol L<sup>-1</sup>) foram avaliados.

Os voltamogramas resultantes podem ser observados na Figura 12 e os valores de corrente referente a oxidação da cafeína foram dispostos em um gráfico de coluna que relaciona a concentração avaliada e o valor de corrente obtida em cada uma (Figura 14).

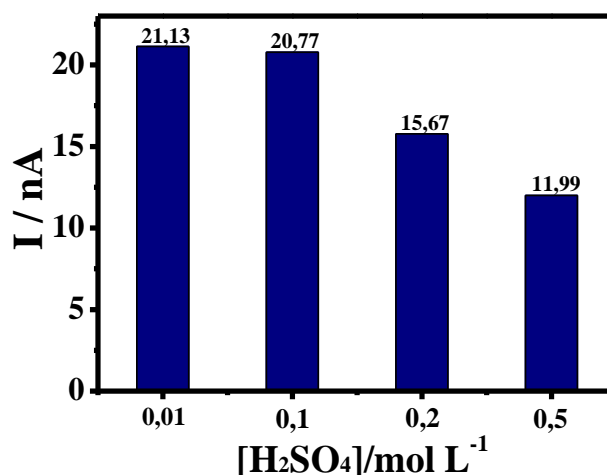
Figura 12: Voltamogramas cíclicos obtidos com  $\mu\text{Au}$  em ácido sulfúrico (A)  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  (B)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (C)  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  e (D)  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ; (—) antes e (—) após adição de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de cafeína,  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .



Fonte: Próprio Autor (2019).

Com o aumento da concentração, pode-se perceber um leve deslocamento do potencial de pico catódico, característico da redução dos óxidos formados na superfície do eletrodo de ouro. A partir dessa observação, pode-se pensar que houve também um deslocamento do potencial de pico anódico da cafeína para potenciais mais positivos, próximo da região de evolução de oxigênio, o que pode ocasionar interferências, uma vez que significaria uma possível degradação do eletrólito [26].

Figura 13: Dependência da corrente de pico anódica de 1 mmol L<sup>-1</sup> de cafeína com a concentração de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



Fonte: Próprio Autor (2019).

Na Figura 13 está ilustrada a relação entre os valores de corrente obtidos para oxidação da cafeína com a concentração do eletrólito. Pode-se observar que há um decréscimo na corrente com o aumento da concentração do eletrólito, sendo as concentrações 0,01 e 0,10 mol L<sup>-1</sup> as que exibem maior valor de corrente, apresentando variação mínima. Propõe-se como justificativa alguns argumentos: na presença de altas concentrações de eletrólito, pode ocorrer uma competição entre os íons do eletrólito e o analito na superfície do eletrodo, uma vez que em microeletrodos o processo de difusão das espécies do seio da solução até sua superfície é radial, ou seja, ocorre em todas as direções, havendo, então, menos cafeína sendo oxidada, reduzindo assim o sinal analítico.

A literatura indica uma concentração para o eletrólito 100 vezes maior que a do analito estudado [35,26]. Logo, para uma concentração de 1 mmol L<sup>-1</sup> de cafeína a concentração indicada deveria ser cerca de 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Além disso altas concentrações de eletrólito podem não favorecer o sistema estudado, principalmente em casos envolvendo microeletrodos, pois estes permitem medições práticas na ausência de eletrólito suporte [49]. De acordo com Agostinho e Villamil (2004) as dimensões do eletrodo influenciam no modo como as propriedades dos eletrólitos irão se manifestar. No caso dos microeletrodos, as densidades de corrente muito elevadas, podem gerar, na vizinhança do eletrodo, devido a processos faradáicos, uma variação muito grande na concentração de íons e como consequência o papel desempenhado pelo eletrólito de suporte deve ser tratado de forma diferente [50].

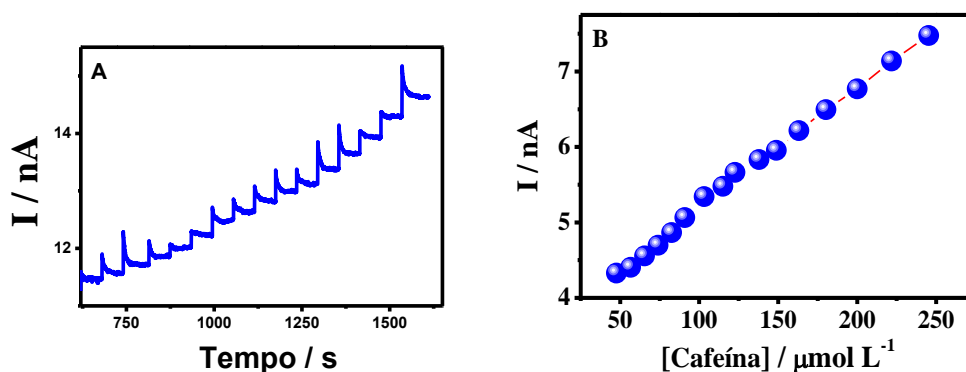
Com base nas considerações feitas e nos resultados experimentais obtidos, escolheu-se usar em estudos posteriores solução eletrolítica de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na concentração  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ .

### 6.3.4 Construção da curva de calibração

O experimento realizado foi feito aplicando-se um potencial constante na cela eletroquímica igual a  $1,6 \text{ V vs Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$ . Após a estabilização da corrente de fundo, foram feitas sucessivas injeções do padrão de cafeína preparado na concentração  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ .

A variação da corrente registrada durante a aplicação da técnica está relacionada com o gradiente de concentração da espécie oxidada na superfície do eletrodo. O aumento na concentração do analito gera um perfil de corrente em forma de patamares como ilustrado na Figura 14A. Os valores de corrente oriundos do processo oxidativo são obtidos pela diferença entre a corrente gerada pelo eletrólito de suporte e a corrente produzida pelo analito em estudo.

Figura 14: (A) Sinais amperométricos obtidos para adições de cafeína no intervalo de concentração de  $47,6$  a  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ . (B) Curva analítica para oxidação da cafeína.



Fonte: Próprio Autor (2019).

Na Figura 14B está representada a curva analítica amperométrica obtida por meio de sucessivas adições da solução padrão preparada na cela eletroquímica. Observa-se na Figura 14A que houve um aumento da corrente em função da concentração do analito correspondente a oxidação da cafeína. Pode-se observar um aumento de corrente de forma proporcional à concentração de cafeína, no intervalo linear de  $47,6$  a  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$  com limite de quantificação de  $81,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  que corresponde a três vezes o desvio padrão de dez pontos do branco dividido pelo coeficiente linear da curva analítica obtida, correspondente a uma reta e coeficiente de correlação de  $0,996$ .

O limite de detecção encontrado foi de  $27 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O LD corresponde a menor concentração de uma analito que dará um sinal três vezes maior que ruído da linha base. O LQ reflete a sensibilidade do equipamento utilizado para análise, neste caso, o potenciostato. Esses valores mostram-se coerentes e indicam a possibilidade real de determinações analíticas envolvendo cafeína.

## 7 CONCLUSÃO

Por meio dos estudos realizados por voltametria cíclica empregando microeletrodo de ouro em solução eletrolítica de ácido sulfúrico  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , foi possível verificar a aplicabilidade do eletrodo de ouro em determinações analíticas, podendo ser utilizado com sensor para determinações de cafeína.

Observou-se que o processo de oxidação da cafeína ocorre em  $1,55 \text{ V}$  e apresenta comportamento irreversível, sem ocorrência de processos adsorptivos e com transporte de massa ocorrendo por difusão, com comportamento eletroquímico bastante dependente do meio reacional.

Em condições otimizadas, a técnica escolhida para determinação da cafeína foi a amperometria, com faixa linear obtida pela curva analítica de  $47,6$  a  $250 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  com LQ e LD de  $81,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $27 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  respectivamente.

Desse modo, pôde-se comprovar a possibilidade do emprego microeletrodo de ouro para determinação de cafeína em matrizes aquáticas podendo em trabalhos futuros ser estudada a possibilidade de se determinar esse analito em outras matrizes, de forma, rápida, barata e com pouca geração de resíduos.

## 8 REFERÊNCIAS

1. CAMPOS, O. S. **Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína utilizando eletrodo de carbono vítrico**. Universidade de São Paulo. [S.l.], p. 150. 2016.
2. MONTEIRO, M. C.; TRUGO, L. C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química nova**, v. 28, p. 637-641, 2005.
3. ŠVORC, L. Determination of caffeine: a comprehensive review on electrochemical methods. **Int. J. Electrochem. Sci**, v. 8, p. 5755-5773, 2013.
4. GARDINALI, P. R.; ZHAO, X. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry (LC–APCI–MS). **Environment International**, v. 28, p. 521-528, 2002.
5. ÖREN, T.; ANIK, Ü. Voltammetric determination of caffeine by using gold nanoparticle-glassy carbon paste composite electrode. **Measurement**, v. 106, p. 26-30, 2017.
6. FERNÁNDEZ-DUEÑAS, V. E. A. Adjuvant effect of caffeine on acetylsalicylic acid anti-nociception: Prostaglandin E2 synthesis determination in carrageenan-induced peripheral inflammation in rat. **European Journal of Pain.**, v. 12, n. 2, p. 157-163, 2008.
7. ZHANG, X. E. A. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 114, p. 350-356, 2013.
8. MARIA, C. A. B. D.; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v. 30, p. 99-105, 2007.
9. LOURENÇÃO, B. C. E. A. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 78, p. 748-752, 2009.
10. RICHARDSON, S. D.; TERNES, T. A. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical chemistry**, v. 86, p. 2813-2848, 2014.
11. WARDLE, M. C.; TREADWAY, M. T.; DE WIT, H. Caffeine increases psychomotor performance on the effort expenditure for rewards task. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 102, p. 526-531, 2012.
12. DEBNATH, B. et al. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. **Materials Today Chemistry**, v 9, p 56-72, 2018.



13. NETO, J. A. R. et al. Avaliação dos efeitos da cafeína anidra e de diferentes extratos de “pata de vaca”(Bauhinia rufa) e café arábica (Coffea arabica) em larvas de Culex quinquefasciatus./Evaluation of the effects of anhydrous caffeine and different extracts of “pata de vaca., v. 6, p. 175-183, 2013.
14. FRISCHKNECHT, P. M.; ULMER-DUFEK, J.; BAUMANN, T. W. Purine alkaloid formation in buds and developing leaflets of Coffea arabica: expression of an optimal defence strategy. **Phytochemistry**, v. 25, p. 613-616, 1986.
15. LARANJA, A. T.; MANZATTO, A. J.; CAMPOS BICUDO, H. E. M. D. Effects of caffeine and used coffee grounds on biological features of Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) and their possible use in alternative control. **Genetics and molecular biology**, v. 26, 2003.
16. YAZDABADI, A.; SHAHRIARI, S.; SALEHIFAR, M. Extraction of caffeine using aqueous two-phase systems containing ionic liquid and sorbitol. **Fluid Phase Equilibria**, v 502, p. 112287, 2019.
17. CARVALHO, J. M. D. et al. Perfil dos principais componentes em bebidas energéticas: cafeína, taurina, guaraná e glucoronolactona. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v 65, p.78-85, 2006.
18. BORTOLINI, K.; SICKA, P.; FOPPA, T. DETERMINAÇÃO DO TEOR DA CAFEÍNA EM BEBIDAS ESTIMULANTES. **Revista Saúde-UNG-Ser**, v. 4, p. 23-27, 2010.
19. DURÁN, C. A. et al. Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida. **Revista Virtual de Química**, v. 9, p. 107-134, 2017.
20. CANELA, M. et al. Cafeína em águas de abastecimento público no Brasil. **Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas–INCTAA**. São Carlos: Editora Cubo, 2014. 100 p.
21. SILVA, C. G. A. D.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, 2011.
22. MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Emerging contaminants in aquatic matrices from Brazil: Current scenario and analytical, ecotoxicological and legislative aspects. **Química Nova**, v. 40, p. 1094-1110, 2017
23. RICHARDSON, S. D.; KIMURA, S. Y. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical chemistry**, v. 88, p. 546-582, 2015.

24. SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. **Water, air, and soil pollution**, v. 206, p. 57-67, 2010.
25. LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, p. 1318-1325, 2006.
26. PACHECO, W. F. et al. Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 516-537, 2013.
27. HARRIS, D. C. **Explorando a Química Analítica**. 4. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2011.
28. ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. **Revista Chemkeys**, p. 1-21, 2003.
29. BANSOD, B. et al. A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. **Biosensors and Bioelectronics**, v.94, p. 443-455, 2017.
30. GUY, O. J.; WALKER, K.-A. D. Graphene functionalization for biosensor applications. In: **Silicon Carbide Biotechnology**. [S.l.]: Elsevier, p. 85-141, 2016.
31. STEFANO, J. S. **Utilização de análise por injeção em fluxo e em batelada com detecção amperométrica e eletrodos impressos para a determinação de ciprofloxacina**. 2016.
32. SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Edição norte-americana. ed. São Paulo: Editora Thomson, 2006.
33. PAIXÃO, T. R. L. C.; BERTOTTI, M. MÉTODOS PARA FABRICAÇÃO DE MICROELETRODOS VISANDO A DETECÇÃO EM MICROAMBIENTES. **Química Nova**, p. 306-1314, 2009.
34. MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação, indicadores de segurança e descarte de produtos químicos**. [S.l.]: Editora Blucher, 2007.
35. AGOSTINHO, S. M. et al. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química nova**, p. 813-817, 2004.
36. AUCÉLIO, R. Q. Desenvolvimento e comparação de métodos voltamétricos para a determinação de ciclofenil e primaquina em medicamentos e em urina. PUC-Rio, 2004.

37. SILVA, S. M. D. et al. Ultramicroelectrodes. Part II: construction and applications. **Química Nova**, v. 21, p. 78-85, 1998.
38. YUN XIA, H.; YA HU, X. Determination of isoniazid using a gold electrode by differential pulse voltammetry. **Analytical letters**, v. 38, p. 1405-1414, 2005.
39. SHETTI, N. P.; MALODE, S. J.; NANDIBEWOR, S. T. Electro-oxidation of captopril at a gold electrode and its determination in pharmaceuticals and human fluids. **Analytical Methods**, v. 7, p. 8673-8682, 2015.
40. TRANI, A.; PETRUCCI, ; MARROSSU, G. Selective electrochemical determination of caffeine at a gold-chitosan nanocomposite sensor: May little change on nanocomposites synthesis affect selectivity? **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 2017.
41. YANG, G.; ZHAO, F.; ZENG, B. Facile fabrication of a novel anisotropic gold nanoparticle–chitosan–ionic liquid/graphene modified electrode for the determination of theophylline and caffeine. **Talanta**, v. 127, p. 116-122, 2014.
42. WANG, Y. L. E.; CROSSLEY, A.; COMPTON, R. G. Surface oxidation of gold nanoparticles supported on a glassy carbon electrode in sulphuric acid medium: contrasts with the behaviour of ‘macro’gold. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 15, p. 3133-3136, 2013.
43. SUN, J.-Y. et al. A graphene-based electrochemical sensor for sensitive determination of caffeine. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, p. 421-426, 2011.
44. ŠVORC, L. et al. Voltammetric determination of caffeine in beverage samples on bare boron-doped diamond electrode. **Food chemistry**, v. 135, p. 1198-1204, 2012.
45. SANTOS, W. D. J. R. et al. Electrochemical sensor based on imprinted sol–gel and nanomaterial for determination of caffeine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 166, p. 739-745, 2012.
46. KOÇAK, Ç. C. et al. Simultaneous determination of theophylline and caffeine on novel [Tetra-(5-chloroquinolin-8-yloxy) phthalocyanato] manganese (III)-Carbon nanotubes composite electrode. **Talanta**, v. 184, p. 452-460, 2018.
47. CAMPUZANO, S. et al. An integrated electrochemical fructose biosensor based on tetrathiafulvalene-modified self-assembled monolayers on gold electrodes. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 377, p. 600-607, 2003.

48. CEHELERO, G. S. Sensores eletroquímicos para detecção de íons e medida de pH baseados em filmes de silício poroso. Universidade de São Paulo, 2007.
49. NGAMCHUEA, K.; BATCHELOR-MCAULEY, C.; COMPTON, R. G. Anodic stripping voltammetry of silver in the absence of electrolytes: Theory and experiment. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 830, p. 122-130, 2018.
50. HYK, W.; STOJEK, Z. Migrational chronoamperometry of uncharged substrates. Influence of electron transfer rate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 415, p. 13-22, 1996.