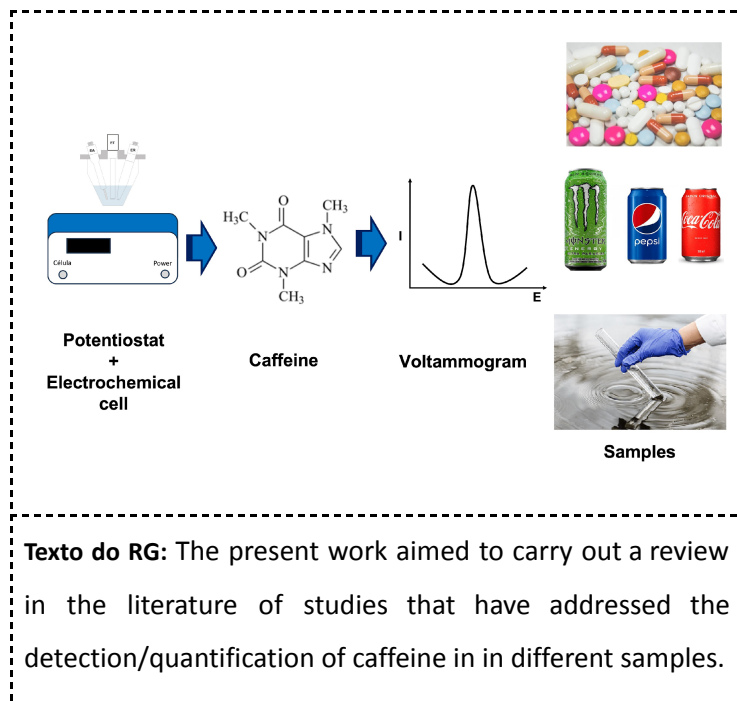


Modelo para envio de manuscritos à *Revista Virtual de Química*

Resumo Gráfico (RG)



**Determinação de Cafeína em Diferentes Amostras Utilizando Técnicas Voltamétricas: Uma
Revisão da Literatura**

Determination of Caffeine in Different Samples by Voltammetric Techniques and Its
Pharmacological Aspects: Literature Review

Douglas Nogueira da Silva Batista,^a Jonatas Gomes da Silva^{b,*}

*^aCurso de Farmácia da Universidade Federal do Oeste da Bahia, Campus Reitor Edgard Santos, Rua
da Prainha, 1326, Morada Nobre, 47.810-047, Barreiras-BA, Brasil*

*^bNúcleo de Estudos em Eletroanalítica do Oeste da Bahia (NEEOB) da Universidade Federal do Oeste
da Bahia, Campus Reitor Edgard Santos, Rua da Prainha, 1326, Morada Nobre, 47.810-047,
Barreiras-BA, Brasil*

*gomes.jonatas@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8524-9072>

FICHA CATALOGRÁFICA

B333 Batista, Douglas Nogueira da Silva.

Determinação de cafeína em diferentes amostras utilizando técnicas voltamétricas: uma revisão da literatura. / Douglas Nogueira da Silva Batista – 2023.

61f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Jonatas Gomes da Silva.

Artigo (Graduação) – Bacharelado em Farmácia. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2023.

1. Cafeína. 2. Química farmacêutica. I. Silva, Jonatas Gomes da. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 615.19

Biblioteca Central de Barreiras - UFOB

Douglas Nogueira da Silva Batista

**Determinação de Cafeína em Diferentes Amostras Utilizando Técnicas
Voltamétricas: Uma Revisão da Literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal do
Oeste da Bahia, como requisito parcial para
obtenção do Diploma de Graduação no Curso
de Farmácia.

Aprovado em 30 de junho de 2023.

BANCA EXAMINADORA:



Documento assinado digitalmente
JONATAS GOMES DA SILVA
Data: 12/07/2023 15:26:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jonatas Gomes da Silva (Orientador(a))



Documento assinado digitalmente
IDIO ALVES DE SOUSA FILHO
Data: 30/06/2023 16:47:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Idio Alves de Sousa Filho



Documento assinado digitalmente
ANDRE LEANDRO SILVA
Data: 06/07/2023 13:22:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. André Leandro Silva
(Membro)

Abstract

The concern related to the chronic ingestion of caffeine and its disposal in the environment has attracted great attention due to the risks to human health and ecosystems. The use of analytical techniques is fundamental in the study of caffeine as they allow to identify, characterize and quantify in different samples, in addition to obtaining important data for its monitoring. Voltammetric techniques are alternative analytical tools that have the advantages of presenting low cost, high sensitivity, good selectivity, short analysis time, among others. The present work aimed to carry out a review in the literature of studies that have addressed the detection/quantification of caffeine in pharmaceutical, biological, beverage and environmental samples, using voltammetric techniques. The analyzed period was between the years 2010 to 2022. From the analysis of the articles, an evaluation of the viability of the different voltammetric techniques for determination of caffeine in different samples simultaneously or not with other chemical species was made, demonstrating the versatility of the voltammetric techniques in the detection and quantification of caffeine in different samples.

Keywords: caffeine; voltammetric techniques; pharmaceutical; biological; beverage; environmental samples.

Introdução

A cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$) é um alcalóide da metilxantina e está entre as espécies químicas farmacologicamente ativas mais consumidas no mundo. Isso se deve, em sua maior parte, ao seu alto emprego na produção de bebidas (refrigerantes, energéticos, chás e etc.), suplementos alimentares, medicamentos e pelo consumo do café (Tabela 1), de tal forma que não há um controle bem estruturado e confiável dos riscos da sua ingestão exagerada, além do seu descarte no meio ambiente.¹⁻³

Contudo, estudos sobre seus aspectos farmacológicos evidenciam que a ingestão crônica da cafeína está associada ao desenvolvimento de sintomas de abstinência e toxicidade considerável. Justamente por estar presente na formulação de diversos produtos consumidos pela população, sua ingestão muitas vezes passa despercebida, acaba somatizando-se e, conseqüentemente, aumentando a concentração dessa substância no organismo.⁴

Outra questão que permeia a falta de controle é a potencialidade da cafeína em ser um contaminante emergente no ambiente, podendo interferir em diversos ecossistemas tanto por atividade antrópica, quanto por ocorrência natural. Ao ser lançada no ambiente, essa cafeína pode acabar contaminando fontes hídricas e retornando ao consumo humano, constituindo um ciclo de contaminação e aumentando ainda mais sua ingestão. Os efeitos de sua exposição nos diferentes nichos ambientais, a longo prazo, ainda são incertos, preocupando grande maioria dos pesquisadores, sendo necessárias mais pesquisas para a quantificação e efeitos ecotóxicos.⁴

A Figura 1 é uma representação da estrutura química da cafeína, onde observa-se um anel duplo constituído por cinco átomos de carbono e quatro de nitrogênio com grupos metil ligados aos átomos de nitrogênio nas posições 1, 3 e 7 e com ligações duplas nos carbonos nas posições 2 e 6.¹⁻³

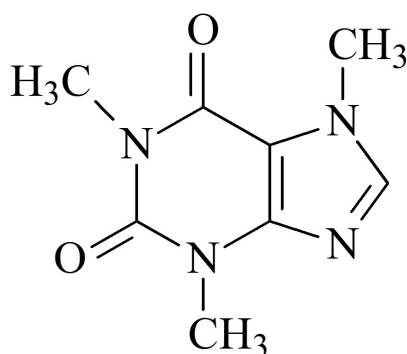


Figura 1. Estrutura química da cafeína

Diante o exposto, a necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos para a detecção e quantificação da cafeína é cada vez mais importante, para viabilidade de um monitoramento de sua dispersão no ambiente. No entanto, essas técnicas precisam trazer um custo-benefício favorável para que

sejam aplicadas de modo que permitam a realização de análises em menor tempo, com o uso de equipamentos de baixo custo e que apresentem resultados satisfatórios quanto à seletividade e sensibilidade.^{5,6}

Grande parte dos trabalhos encontrados na literatura possuem como objetivo a detecção de cafeína em diferentes amostras utilizando técnicas analíticas como, por exemplo, as cromatográficas, espectrométricas e de eletroforese, as quais proporcionam alta sensibilidade e seletividade. Porém, essas técnicas são demoradas e mais complexas de serem aplicadas por necessitarem de uma mão de obra mais especializada, instrumentos e insumos específicos que aumentam o seu custo.⁵

Nessas circunstâncias as técnicas voltamétricas são uma alternativa que driblam esses problemas, possibilitando uma instrumentalização de baixo custo, menos tempo de realização da análise, baixa produção de resíduos, capacidade de ser aplicada com facilidade, com baixos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).⁷ Portanto, nesse cenário, esse artigo teve como objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre o emprego de técnicas voltamétricas na detecção de cafeína em diferentes amostras, além disso, fazer uma revisão sobre sua farmacocinética e farmacodinâmica, bem como a toxicidade no organismo humano.

Ocorrência e Biossíntese

A rota biossintética da cafeína ocorre em sementes, nozes e folhas de várias plantas como, por exemplo, no cafeeiro, na erva-mate, no guaraná e no cacau, utilizados como aditivos de bebidas energéticas. No entanto, uma alternativa para a obtenção da cafeína é a sua síntese em laboratório, que é um método mais rápido e eficaz para fabricação de produtos industrializados que demandam uma maior quantidade de determinada espécie química.^{1,2,3}

Na biossíntese da cafeína (Figura 2), o anel de purina é formado por meio da junção de componentes mais simples resultantes do metabolismo primário (rota biossintética das purinas). Dentre esses componentes está a glicina, responsável por fornecer uma unidade de C_2N , enquanto demais carbonos são obtidos por meio de N10-formil-tetra-hidrofolato e bicarbonato. Dois dos quatro átomos de nitrogênio são fornecidos pela glutamina e um pelo ácido aspártico. Outras vias que contribuem para a produção dos nucleotídeos de purinas são as vias de degradação de nucleotídeos de adenina (rota adenosina-5-monofosfato (AMP)) e de degradação de nucleotídeos de guanina (rota guanosina-5-monofosfato (GMP)).^{8,9}

A partir da rota biossintética das purinas temos a formação da inosina-5-monofosfato (IMP) que pode sofrer a ação das enzimas IMP-desidrogenase e da 5-nucleotidase formando a xantosina. Outra porção de xantosina envolvida na síntese de cafeína pode vir da rota AMP - IMP - xantosina-5-monofosfato (XMP), por meio da ação das enzimas AMP desaminase, IMP desidrogenase e 5-nucleotidase ou, também, da rota GMP - guanosina - xantosina.^{8,9}

A ausência da enzima GMP desaminase nas plantas inviabiliza uma rota GMP - IMP - XMP - xantosina. Ao invés disso, o que ocorre é que a maioria dos nucleotídeos purínicos exógenos de guanina são rapidamente hidrolizados por enzimas (adenina fosforibosiltransferase, hipoxantina/guanina fosforibosiltransferase, adenosina quinase e inosina/guanosina quinase) nos tecidos vegetais formando nucleosídeos purínicos como a guanosina que será diretamente desaminada e, então, usada para formação da xantosina.^{8,9}

As três etapas de metilação da biossíntese são viabilizadas pela enzima S-adenosilmetionina (SAM). De forma que, SAM é convertida em S-adenosil-L-homocisteína (SAH), que por sua vez é hidrolisado em homocisteína e adenosina. A homocisteína é reciclada por meio do ciclo SAM para repor os níveis de SAM e a adenosina é liberada do ciclo. A adenosina liberada do ciclo é convertida em AMP direta e/ou indiretamente via adenina. O AMP é convertido em xantosina e é usado para a biossíntese de cafeína.^{8,9}

Uma vez que três mols de SAH são produzidos por meio do ciclo SAM para cada mol de cafeína que é sintetizada, esta via tem a capacidade de ser a única fonte tanto do esqueleto de purina quanto dos grupos metil necessários para a biossíntese de cafeína.^{8,9}

A partir daqui a xantosina é convertida em 7-metilxantosina pela atividade da enzima 7-metilxantosina sintase. Seguindo, a 7-metilxantosina sofre hidrólise pela ação da enzima N-metilnucleosidase, formando a 7-metilxantina que seguirá sofrendo uma sequência de metilações nos átomos de nitrogênio até formar a teobromina e, a partir daí, a cafeína.^{8,9}

Não obstante, outros processos de metilação geram teofilina diretamente a partir da xantosina-5-monofosfato (XMP) ou, então, esta também pode ser formada a partir da desmetilação da própria cafeína como parte de uma via degradativa.^{8,9}

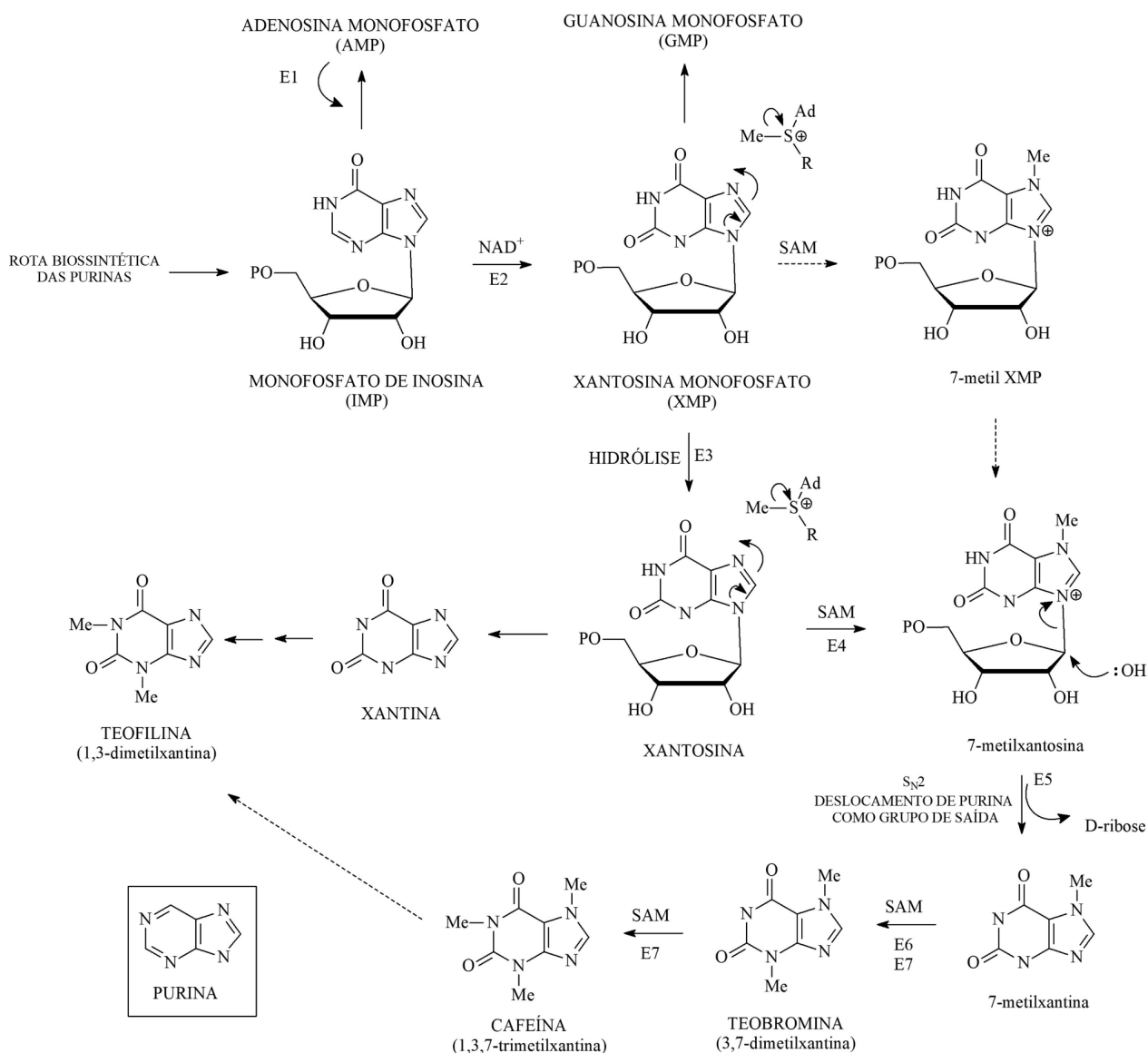


Figura 2. Biossíntese da cafeína. E1: AMP deaminase, E2: IMP desidrogenase, E3: 5'-nucleotidase, E4: xantosina 7-N-metiltransferase, E5: 7-metilxantósina nucleosidase, E6: 7-metilxantina 3-N-metiltransferase (síntese de teobromina), E7: teobromina 1-N-metiltransferase (síntese de cafeína).⁸

Farmacodinâmica

Para a compreensão da farmacodinâmica da cafeína, é importante entender inicialmente a respeito do mecanismo de ação da adenosina (Figura 4) que atua no equilíbrio do organismo humano (homeostase) e possui grandes semelhanças estruturais com a cafeína. A adenosina (Figura 3) é um nucleosídeo composto pela adenina e por um açúcar simples que tem como principal ação a depressão do Sistema Nervoso Central (SNC), reduzindo a frequência cardíaca, respiratória, atividades cerebral e motora. Por outro lado, também atua, regulando as funções renais, lipólise, vasodilatação, cronotropismo negativo, redução da pressão arterial e da temperatura corporal, agregação plaquetária, respostas imunológicas, além de modulação do estado de sono e vigília.¹⁰⁻¹²



Quanto aos receptores presentes nos terminais pós-sinápticos, a adenosina tem interação com três principais tipos, a saber: receptores de adenosina (Figura 4) que são acoplados à proteína G e regulam a Adenosina Monofosfato Cíclico (AMPC); receptores metabotrópicos P2Y que também são acoplados à proteína G e, portanto, regulam AMPC e além disso vão utilizar como mecanismo de sinalização a fosfolipase C e, por fim, receptores ionotrópicos P2X que são canais catiônicos multiméricos regulados por ATP.¹⁰⁻¹²

Receptores acoplados à proteína G (GPCRs) são receptores que se caracterizam por apresentar sete alfa-hélices transmembranares que estão ligados à proteína G que é especializada em se ligar ao trifosfato de guanosina (GTP) e difosfato de guanosina (GDP). A proteína G ligada a GPCRs é heterotrimérica, ou seja, apresenta três subunidades (α , β e γ).¹⁰⁻¹²

Quando a proteína G está inativa a subunidade α está ligada a GDP, assim que alguma molécula se liga ao GPCR este irá sofrer uma mudança conformacional que fará com que a subunidade α troque o GDP por GTP e se dissocie das outras duas subunidades (β e γ). Após isso, tanto a subunidade α quanto o dímero β e γ irão regular as proteínas alvo, como a enzima adenilcilcase ou canais iônicos.¹⁰⁻¹²

Após isso, GTP perde um fosfato em uma hidrólise que ocorre naturalmente tornando-se o GDP, fazendo com que o ligante se desconecte do GPCR e o receptor volte a ficar inativo e pronto para se ligar novamente a outro ligante.¹⁰⁻¹²

Os receptores A_1 e A_3 , majoritariamente inibitórios, são responsáveis pela inibição da adenilcilase responsável por catalisar a hidrólise de ATP a AMPc, promovendo a diminuição do AMPc e menor ativação da proteína quinase A (PKA). Com isso, não haverá fosforilação de receptores de membrana de canais permeáveis ao cálcio, o que leva a inibição de vias de outros neurotransmissores. Os receptores A_{2A} e A_{2B} são excitatórios que agem em conjunto e que atuam na ativação da adenilcilase, aumentando a concentração de AMPc, gerando maior ativação da PKA e fosforilação de receptores de membrana de canais permeáveis ao cálcio, ativando outras vias de neurotransmissores.¹⁰⁻¹²

Por agir como neuromodulador, todos esses estímulos em vias moduladas resultam em regulação gênica, ou seja, no processo de transcrição e produção de proteínas influenciando diversas funções fisiológicas. A adenosina possui ação, também, nas áreas periféricas como rins, nos sistemas respiratório, cardiovascular e gastrointestinal, tecidos endócrino e adiposo, uma vez que todas as células expressam seus receptores.¹⁰⁻¹²

A ação da adenosina por meio dos receptores A_1 e A_{2A} causará inibição de receptores dopaminérgicos e, conseqüente, diminuição da atividade de dopamina, relacionada com a disposição e a atividade neural, causando a sensação de que o corpo está cansado. Além disso, diminuirá a liberação de catecolaminas (noradrenalina e adrenalina, responsáveis pela atividade do sistema nervoso simpático), serotonina, acetilcolina e GABA. Provocará relaxamento dos músculos lisos das paredes dos vasos sanguíneos promovendo vasodilatação, o que resulta em relaxamento dos vasos e aumento do fluxo sanguíneo.¹⁰⁻¹²

Além disso, também contribuirá para a entrada de potássio no meio intracelular, gerando uma hiperpolarização da membrana neural e, assim, torna-se mais difícil para o neurônio alcançar o limiar de disparo necessário para gerar um potencial de ação, reduzindo a excitabilidade neuronal.¹⁰⁻¹²

Ademais, embora menos comum de acontecer a ação da adenosina por meio dos receptores A_{2B} e A_3 , também é responsável por acionar a fosfolipase C (PLC), levando à quebra do fosfoinositol na membrana celular e aumentando a produção de IP3 e diacilglicerol (DAG). O IP3 estimula a liberação de Ca^{2+} dos

depósitos intracelulares por meio da interação com receptores específicos localizados na membrana do retículo endoplasmático. O aumento da concentração de Ca^{2+} citosólico, juntamente com o DAG, pode mediar a ativação da proteína quinase C (PKC), levando a ativação de enzimas, modulação da atividade de canais iônicos, regulação da contração muscular e liberação de neurotransmissores, entre outras respostas celulares que vão depender do tipo de célula e do contexto fisiológico.¹⁰⁻¹²

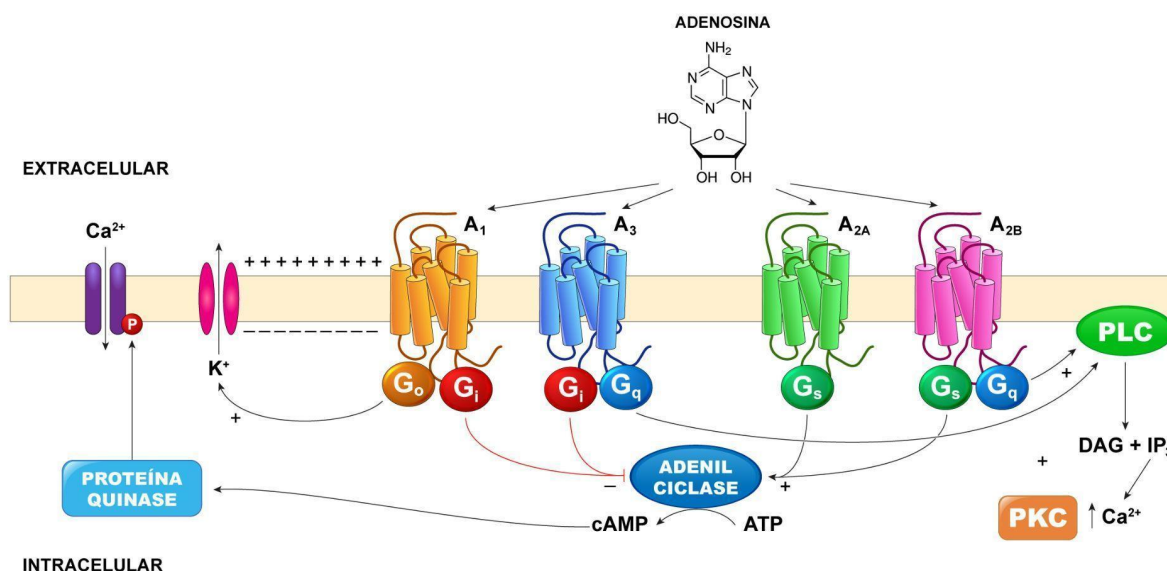


Figura 4. Esquema dos receptores de adenosina e vias de sinalização.¹¹

A cafeína é um antagonista desse sistema adenosinérgico que leva ao bloqueio dos receptores A₁ (estimulação da adenilciclase) e A_{2A} (inibição da adenilciclase), uma vez que esses requerem concentrações menores de adenosina para ativação, quando comparados aos receptores A_{2B} e A₃. Além disso, aumentará a concentração de AMPc por meio da inibição da fosfodiesterase enzima que quebra a ligação fosfodiésterica do monofosfato de adenosina cíclico (AMP cíclico) e do monofosfato de guanosina cíclico (GMP cíclico), aumentando a transdução de sinais envolvidos em funções fisiológicas como a cognição, com maior liberação de neurotransmissores, como a dopamina, noradrenalina e serotonina.^{10,13,14}

A cafeína potencializa os efeitos colinérgicos no sistema nervoso central por meio da inibição da acetilcolinesterase, enzima responsável por degradar acetilcolina ainda na fenda sináptica, transformando-a em colina e ácido acético e liberação direta da acetilcolina. Se não tem ação dessa enzima, a acetilcolina não é degradada e sua concentração na fenda sináptica aumenta, muito importante para funções cognitivas, aprendizado, codificação da memória e plasticidade sináptica. Também não há recaptação de colina pelo neurônio pré-sináptico para síntese de mais acetilcolina, podendo, a longo prazo, desencadear sintomas de ansiedade e insônia.^{10,13-15}

Com o bloqueio dos receptores A_1 e A_{2A} ocorre a ativação de receptores dopaminérgicos, liberação de dopamina e, conseqüente aumento da sua atividade, aumentando a motivação, bem-estar e disposição. Não obstante, esse antagonismo por parte da cafeína também promoverá a liberação de catecolaminas que estimulam o sistema nervoso simpático aumentando a vasodilatação, glicogenólise, broncodilatação, frequência cardíaca, o débito cardíaco, a lipólise e diminuirá o apetite.^{10,13,14,16}

O bloqueio dos receptores A_1 e, conseqüente, estimulação da adenilciclase promove redução da captação e aumento da liberação do neurotransmissor inibitório do SNC Ácido gama-aminobutírico (GABA). Ao interferir na ação inibitória do GABA, a cafeína pode aumentar a excitabilidade dos neurônios, provocando um estado de maior alerta e estimulação. Isso pode contribuir para a melhora da concentração e da atenção, mas também pode levar a um aumento da ansiedade em algumas pessoas. A longo prazo, pode interferir na qualidade do sono, gerando quadros de insônia.^{10,13,17}

Enquanto o bloqueio dos receptores A_{2A} promove a liberação de glutamato, neurotransmissor excitatório do SNC. Isso pode levar a um aumento na excitabilidade neuronal, contribuindo para a melhora da concentração e da atenção.^{10,13,17}

A cafeína pode promover diurese decorrente da vasodilatação da arteríola glomerular aferente, e conseqüente aumento da taxa de filtração glomerular; estimulação do músculo cardíaco e relaxamento da musculatura lisa como, como por exemplo, da musculatura brônquica. Além disso, ela também irá mascarar a sensação de sono e cansaço do corpo, uma vez que a adenosina que não se ligou passa a se concentrar na corrente sanguínea fazendo com que a glândulas adrenais liberem adrenalina e cause uma sensação de alerta. A inibição de neurotransmissores como a dopamina, muito importante para o relaxamento e sensação de bem-estar, causará insônia.^{10,13,14}

Sabe-se também que a cafeína causa ativação e aumento da sensibilidade dos receptores de rianodina que participam de mecanismos de liberação de cálcio da célula. Muito importantes em aspectos celulares de excitação, contração e secreção no músculo esquelético, tais receptores presentes no retículo sarcoplasmático acoplam-se diretamente aos receptores de di-hidropiridina dos túbulos T, o que promoverá liberação de cálcio (Ca^{2+}) de dentro dessa organela, assim que ocorra um potencial de ação na fibra muscular. No caso de células que não apresentam os túbulos T, ocorrerá o efeito de liberação de Ca^{2+} mediado por retroalimentação, que consiste na ativação dos receptores de rianodina por meio do aumento da concentração do próprio Ca^{2+} , isso está muito envolvido na melhora da contração muscular e performance esportiva.¹⁸

O consumo concomitante de cafeína e nicotina é bastante comum entre a população fumante. Sendo ambas as substâncias farmacologicamente ativas, existe certa interação aditiva entre seus efeitos no organismo humano, porém ainda não se tem certeza do real impacto que essas espécies químicas podem ocasionar quando consumidas juntas. O que se sabe é que as duas atuam estimulando o sistema simpatoadrenal e estão envolvidas no aumento dos níveis de AMP cíclico intracelular, o que poderá

intensificar as alterações cardiovasculares do indivíduo, como aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca.¹⁹

Farmacocinética

Uma vez ingerida a cafeína é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e atinge a sua concentração máxima na corrente sanguínea dentro de uma hora a uma hora e meia após ingestão. No sangue é transportada para todo o corpo, podendo atravessar as barreiras hematoencefálica e placentária, além de ser detectada, também, no leite materno e no sêmen. Sua metabolização é quase que completamente realizada no fígado, sendo que apenas um a cinco por cento da cafeína ingerida é excretada inalterada na urina. O metabolismo ocorre com a remoção de grupos metil, formando três grupos de metilxantinas: a paraxantina, teofilina e teobromina (Figura 5).³

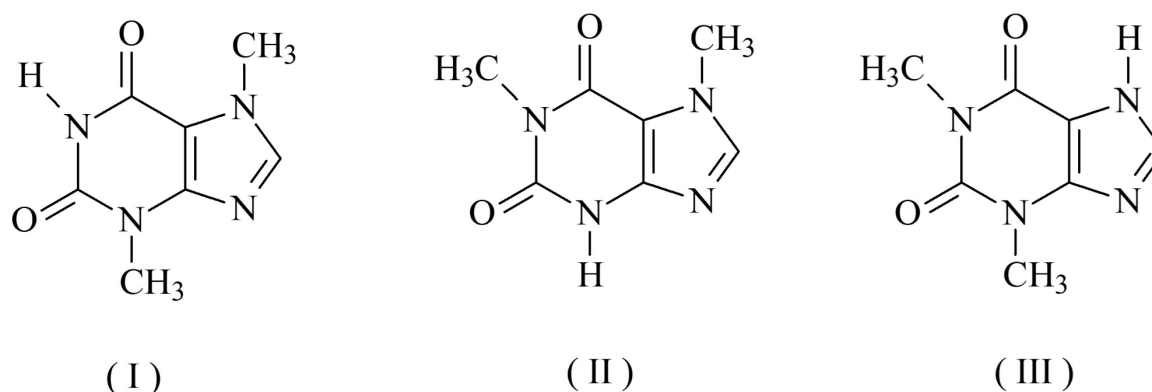


Figura 5. Estruturas químicas dos metabólitos secundários da cafeína (I) Teobromina, (II) Paraxantina e (III) Teofilina.²⁰

Essa metabolização de primeira passagem (Figura 6) ocorre por meio da atividade do citocromo P450 denominado isoforma CYP1A2, presente nos hepatócitos. A maior parte da cafeína ingerida é metabolizada em paraxantina (80-90%), por isso será a rota mais abordada nessa revisão da literatura.

Inicialmente, sua primeira desmetilação formará a 1,7-dimetilxantina (paraxantina), que após sofrer uma segunda desmetilação dará origem a 1-metilxantina. Essa espécie química pode ser oxidada a ácido 1-metilurato, por meio da atividade da enzima xantina oxidase (XO) e depois excretada na urina. Entretanto, a paraxantina pode seguir outros dois caminhos. Ela pode ser hidroxilada pelo CYP1A2 e formará o ácido 1,7-dimetilúrico ou pode sofrer acetilação, por meio da enzima N-acetiltransferase 2 (NAT2) para formar a 5-acetilamino-6-formilamino-3-metiluracil (AFMU), bastante instável e que pode ser transformado em 5-acetilamino-6-amino-3-metiluracil (AAMU).²⁰

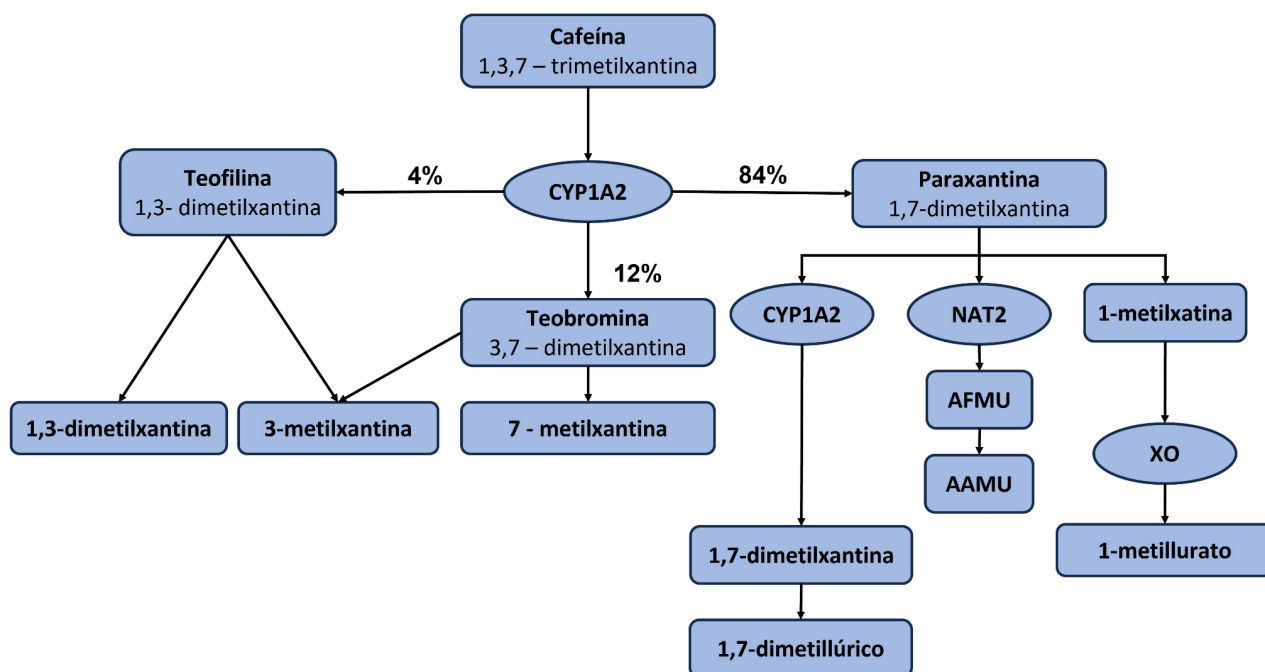


Figura 6. Esquema adaptado do metabolismo da cafeína.²⁰

Toxicologia e Interações

A ingestão prolongada e/ou superdose de cafeína é responsável pelo surgimento de efeitos nocivos à saúde humana decorrentes de intoxicação, tais como: agitação, ansiedade, delírio, convulsões, dispnéia (falta de ar), hiperglicemia (glicose alta no sangue) e hipocalcemia (baixa quantidade de potássio no sangue). Diante disso, vale salientar que a ingestão oral de doses com concentração de 15 a 30 mg kg⁻¹ de cafeína é o suficiente para que o indivíduo apresente sintomas de intoxicação, sendo fatal doses de 100 a 200 mg kg⁻¹ de massa corporal.²¹

De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *European Food Safety Authority* (EFSA) o consumo de até 400 mg por dia é considerado seguro para adultos saudáveis, 2,5 mg para crianças e de até 300 mg por dia para gestantes.²¹

A cafeína está associada também ao desequilíbrio homeostático do Ca²⁺ no organismo humano, baixa densidade mineral óssea sendo um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose, devido ao aumento da excreção do cálcio na urina e/ou redução da absorção intestinal. Além disso, essa perda de minerais pode afetar significativamente as funções cardiovasculares do indivíduo.²²

Essa excreção aumentada é observada, por exemplo, após uma exposição de indivíduos em jejum por 10 horas à cafeína em dose de 150 a 300 mg, sendo que a concentração de cálcio na urina passa a ser consideravelmente alta após duas e três horas depois da ingestão. Esse tempo que se estende entre exposição e o aparecimento de cálcio é dependente das doses administradas, ou seja, quanto maior a dose menos tempo se leva para se notar presença de cálcio na urina.²²

Além disso, indivíduos com uma massa magra corporal menor são mais suscetíveis a perda desse mineral, como por exemplo mulheres. Os idosos também são mais propensos a desenvolverem problemas com a eliminação de cálcio, uma vez que suas reservas já estão naturalmente menores devido a idade. No entanto, vale salientar que em uma dose aguda de cafeína a eliminação mineral urinária não é significativamente alta.²²

Como já mencionado a cafeína promove a liberação de vários neurotransmissores (dopamina, noradrenalina, GABA e glutamato) e um aumento da expressão de receptores de adenosina. Quando há uma interrupção abrupta de sua ingestão, também chamada de abstinência aguda, é comum o aparecimento de sintomas como cefaléia e sonolência, justamente pela redução dos níveis desses neurotransmissores no organismo e maior expressão dos receptores de adenosina. Essa maior expressão de receptores também está associada aos efeitos de tolerância à cafeína.²²

Sabe-se que a inibição da enzima fosfodiesterase pela cafeína acarreta o aumento da concentração de AMPc na musculatura lisa, inclusive na musculatura do trato gastrointestinal, o que poderá gerar intensificação da motilidade intestinal, levando à diarreia e a sensação de fome. Consequentemente, ocorre também uma inibição da saída de cálcio do retículo sarcoplasmático e uma vasodilatação periférica.²³

O consumo da cafeína é um meio de atenuar os efeitos do álcool no organismo, uma vez que tais espécies químicas atuam nos receptores de adenosina e produzem efeitos opostos. O álcool demonstrou aumentar o tônus adenosinérgico por inibir o transportador de endonucleotídeo tipo 1, bloqueando assim a captação de adenosina, aumentando a síntese de adenosina durante o seu metabolismo. Ele também é responsável, em certas doses, por aumentar a suscetibilidade à interação social e amnésia de curto prazo, enquanto a cafeína causa efeitos contrários, muito provavelmente por sua ação ansiogênica e o antagonismo de receptores de adenosina.²⁴

Em um estudo experimental, pesquisadores compararam os efeitos agudos da administração oral de cafeína ($3,3 \text{ mg kg}^{-1}$) na pressão arterial (PA) de cento e oitenta e dois homens divididos em cinco grupos de risco para hipertensão arterial sistêmica (HAS), onde setenta e três homens se enquadraram em PA ideal, vinte e oito em PA normal, trinta e seis em PA normal alta e vinte e sete com HAS estágio 1 com base na PA em repouso e dezoito homens com HAS diagnosticada. O resultado encontrado foi uma associação entre a cafeína e a elevação da PA sistólica (PAS) e diastólica (PAD) ($P < 0,0001$, para ambas) em todos os grupos, sendo que os mais acometidos foram os que já tinham um diagnóstico de HAS e um quadro clínico apresentado.²⁵

Em um outro estudo feito com trezentos e setenta e dois homens adultos, os pesquisadores evidenciaram a relação entre os níveis séricos de testosterona, cafeína e quatorze de seus metabólitos. O que se pôde notar foi uma relação inversa entre a concentração de cafeína e seus metabólitos com a concentração de testosterona no organismo, sugerindo que a cafeína é um fator de redução dos níveis de testosterona e de deficiência bioquímica de andrógenos.²⁶

Essa capacidade da cafeína em reduzir a concentração de testosterona afeta diretamente as funções do ciclo menstrual e os hormônios envolvidos nele, podendo até melhorá-los. Isso é evidenciado em um estudo em que foram acompanhadas duzentos e cinquenta e nove participantes por aproximadamente dois ciclos menstruais, com oito coletas de sangue a cada ciclo. Os resultados foram que o teor de cafeína mais alto em comparação com o mais baixo foi associado a testosterona total mais baixa ($27,9 \text{ ng dL}^{-1}$ (95% CI: $26,7, 29,0 \text{ ng dL}^{-1}$) em comparação com $29,1 \text{ ng dL}^{-1}$ (95% CI: $27,9, 30,3 \text{ ng dL}^{-1}$), respectivamente) e testosterona livre ($0,178 \text{ ng mL}^{-1}$ (95% CI: $0,171, 0,185 \text{ ng dL}^{-1}$) em comparação com $0,186 \text{ ng mL}^{-1}$ (95% CI: $0,179, 0,194 \text{ ng dL}^{-1}$), respectivamente).²⁷

Doenças que afetam a funcionalidade do fígado como, por exemplo, a cirrose e a hepatite, podem levar a uma redução da expressão de enzimas importantes no processo de metabolização, como a CYP1A2 e, conseqüentemente, acarretar uma metabolização deficiente e acúmulo plasmático da cafeína.^{28,29}

Como deu para perceber, o papel da enzima CYP1A2 na metabolização da cafeína é muito importante. No entanto, essa mesma enzima está relacionada também ao metabolismo de diversos medicamentos, fazendo com que tais interações medicamentosas ocorram por meio da enzima CYP1A2.^{28,29}

Citalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina e sertralina são inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), uma classe de antidepressivos que agem inibindo a recaptação da serotonina. Esses medicamentos, bastante prescritos, demonstram inibir a atividade da CYP1A2, aumentando o tempo de meia vida da cafeína e redução da sua metabolização.^{28,29}

Alguns antimicóticos como a cetoconazol, terbinafina e fluconazol, geralmente associados a inibição da CYP3A (outra enzima da família CYP), demonstraram redução de 11 a 25% do metabolismo da cafeína e o aumento do seu tempo de meia vida no organismo. A interação com a CYP3A e sua influência no metabolismo da cafeína ainda carece de estudos mais aprofundados.^{28,29}

Emprego da Cafeína na Produção de Medicamentos

O emprego da cafeína na formulação de medicamentos, tais como, analgésicos e antipiréticos (dipirona sódica, p. ex.) visam fazer uso de sua ação antioxidante, (impedindo a formação de espécies reativas de oxigênio) e ergogênica no combate a possíveis danos mitocondriais causados por metabólitos secundários resultantes do metabolismo desses fármacos.³⁰⁻³²

O acetaminofeno (paracetamol), por exemplo, é um anti-inflamatório não esteroideal (AINEs) que em superdosagem pode resultar em dano hepático e possível insuficiência do órgão. Tal dano está associado a fatores como: formação do metabólito secundário N-acetil-p-benzoquinona-imina por meio da ação de enzimas do citocromo P-450 (CYP450), que se liga a estrutura celular e forma adutos mitocondriais que geram disfunção dessa organela, alteração do metabolismo do cálcio; inibição dos complexos I e II e redução dos níveis de adenosina trifosfato (ATP) nas mitocôndrias do fígado.³⁰⁻³³

Com isso, ocorre alteração da permeabilidade das membranas mitocondriais, que com o desencadear da fosforilação oxidativa causa aumento nos níveis de íons e intermediários metabólicos no interior das mitocôndrias, resultando em edema mitocondrial e por fim morte celular. A cafeína, por sua vez, apresenta efeito compensatório mediado pelo complexo II e III, aumentando a respiração mitocondrial. Ou seja, o comprometimento dos complexos mitocondriais I e II causado pela toxicidade do acetaminofeno é contrabalanceado pela interação entre a cafeína e o complexo II e III que mantém a fosforilação oxidativa em níveis seguros.³⁰⁻³³

O antagonismo da cafeína á receptores purinérgicos, mais precisamente, receptores P2Y envolvidos na captação de Ca^{2+} pela mitocôndria, é responsável por melhorar a função bioenergética mitocondrial. O Ca^{2+} , por sua vez, regula a estimulação das enzimas da cadeia respiratória, o aumento da produção de ATP e a abertura dos poros que aumentam a permeabilidade das membranas, ou seja, com uma menor captação celular de Ca^{2+} , há diminuição do edema mitocondrial. Além disso, a cafeína também auxilia no efeito analgésico do fármaco, devido sua ação antagonista de receptores purinérgicos, de forma que sua combinação proporciona a redução da dosagem necessária do fármaco para se obter o efeito final.³⁰⁻³³

Por outro lado, a associação entre cafeína e analgésicos como o acetaminofeno não é eficaz contra a depleção nos níveis de glutathione mitocondrial. Vale ressaltar que a glutathione é um importante antioxidante que protege a funcionalidade mitocondrial e diminui a hepatotoxicidade induzida pela ingestão de acetaminofeno, por meio da neutralização do metabólito secundário N-acetil-p-benzoquinona-imina.³⁰⁻³³

Cafeína como um contaminante emergente

Os contaminantes emergentes (CEs) são compostos orgânicos, sintéticos ou naturais que possuem atividade biológica que podem apresentar toxicidade crônica, carcinogenicidade, capacidade de desregulação endócrina, aumento da resistência a antibióticos e interação com diversas outras substâncias ingeridas ou endógenas mesmo estando em concentrações muito baixas ($\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1}), além de ameaçar o equilíbrio de ecossistemas afetando a fauna aquática.³⁴⁻³⁷

Dentre os CEs estão, por exemplo: pesticidas; produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais, como antibióticos, antiinflamatórios, estimuladores do sistema nervoso central, β -bloqueadores, reguladores lipídicos, anticonvulsivantes, meios de contraste para raios X, repelentes de insetos, antimicrobianos, conservantes e filtros solares UV.³⁴⁻³⁷

Com o entendimento de que a dispersão dessas espécies químicas no meio ambiente, sem que haja um controle de sua bioacumulação e de seus efeitos tóxicos, resulta em perigo para a saúde humana, surgindo assim a necessidade de desenvolver estratégias de controle e avaliação de riscos dessas substâncias. O Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP, do inglês United Nations Environment Programme) e a Organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês World Health Organization)

afirmam que é de caráter indispensável o conhecimento das fontes, transformações e destino dos contaminantes emergentes no ambiente.³⁴⁻³⁷

No caso da cafeína, o auto emprego na produção industrial faz com que ela esteja presente em diversos produtos consumidos pela população (Tabela 1), sendo que sua excreção no meio ambiente advém de diversas fontes que podem ser de caráter humano (excretas biológicas, descarte inadequado de produtos farmacêuticos, resíduos das fábricas e hospitais, escoamento intensivo de operações agrícolas, drenagem de chuvas em áreas rurais e urbanas, p.ex) ou naturais (excretas biológicas de animais que consomem frutas fontes de cafeína, por exemplo).^{34-36,38,39}

Tabela 1. Concentração de cafeína em diferentes produtos.⁴

Produto	Volume (mL)	Cafeína (mg)	Cafeína (mg 100 mL ⁻¹)
Café instantâneo	148	66	44,6
Café torrado e moído	148	74	50,0
Refrigerante (Coca-Cola)	355	46	12,9
Chá verde	236	30	12,7
Barra de chocolate (Hersheys)	44	10	22,7
Chá instantâneo	236	15	6,3

De forma mais esquemática (Figura 7), a cafeína cai no esgoto bruto advindo de excretas humanas (urina), descarte de bebidas, alimentos e/ou medicamentos em pias, ralos e vasos sanitários e segue para as estações de tratamento de esgoto (ETE). Ela pode acabar também indo para aterros sanitários ou lixões a céu aberto, por meio do descarte de produtos no lixo comum, contaminando o solo e, posteriormente, as águas subterrâneas por meio do escoamento e lixiviação.^{34-36,38,39}

No meio aquático, estima-se que a cafeína possua um tempo de meia vida de 100 a 240 dias devido sua alta estabilidade molecular, sua alta solubilidade (13,5 g L⁻¹) e volatilidade insignificante. Essas características somadas com o grande aporte dessa espécie química fazem com que as ETEs não consigam retirar toda a cafeína da água e, conseqüentemente, essa cafeína restante segue solubilizada nessas águas residuais até as águas superficiais continentais ou costeiras.^{34-36,38,39}

Após isso, essas águas são captadas pelas estações de tratamento de água (ETAs) onde passam por processos de coagulação, floculação e decantação. Esses processos são ineficientes para retirar totalmente a cafeína da água e ela retorna ao consumo humano. No entanto, estudos acerca de drogas

estimulantes de abuso em águas superficiais e sua remoção em ETAs demonstraram que o tratamento com ozônio demonstrou ser eficaz na eliminação parcial da cafeína em 76% e quando combinada com cloração essa eliminação sobe para 90%.^{34-36,38,39}

Vale salientar também que o crescimento populacional associado a prescrição e uso irracional de medicamentos e inversão da pirâmide etária são importantes contribuidores para uma maior produção e consumo de fármacos. Com isso, as sobras desses medicamentos acabam seguindo as rotas já mencionadas até o ambiente.^{34-36,38,39}

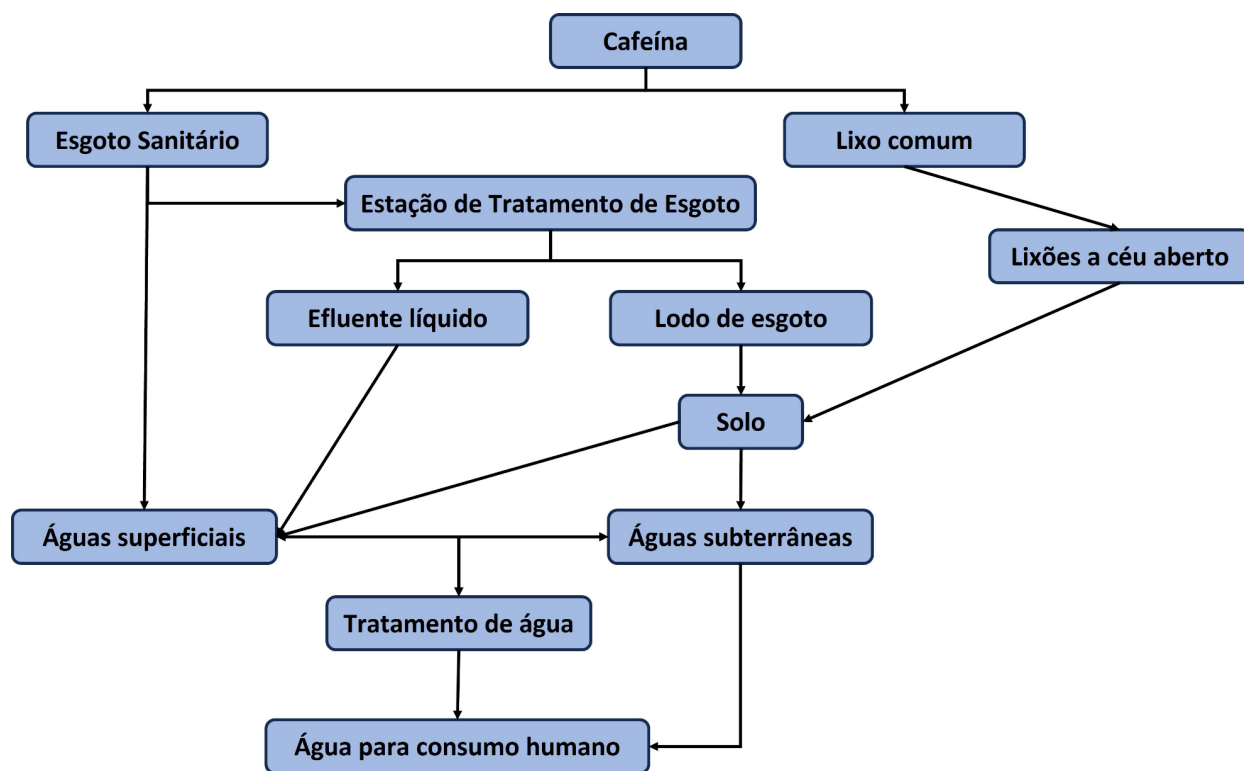


Figura 7. Cascata de contaminação biológica da cafeína.³⁸

Estudos avaliando o distúrbio do movimento e alteração neuromuscular em embriões de danio rerio (peixe zebra) após exposição à cafeína demonstraram uma ecotoxicidade. Os dados obtidos demonstraram que uma concentração maior ou igual a 150 mg L⁻¹ os embriões já apresentavam desalinhamento das fibras musculares e defeitos do neurônio motor, especialmente defeitos de crescimento axonal do neurônio motor secundário. Sendo que uma concentração superior a 300 mg L⁻¹ de cafeína causa a morte dos embriões.⁴⁰

Técnicas Analíticas Aplicadas na Determinação de Cafeína

Visto as consequências da ingestão de cafeína, a suscetibilidade de alguns grupos mais específicos e a exposição descontrolada no meio ambiente, alguns métodos analíticos de quantificação e determinação foram desenvolvidos a fim de proporcionar maior controle no emprego industrial e concentração em amostras biológicas e não biológicas.⁴¹

A gravimetria foi o primeiro método desenvolvido e adotado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) para quantificação de cafeína em produtos alimentícios e sementes de café. A técnica consistia na extração da molécula com água ou etanol, o resultante seguia para filtração com óxido de magnésio e por fim extração com clorofórmio. No entanto, sua execução demorada e a dificuldade de remoção dos interferentes inviabilizam uma leitura segura e específica dos dados gravimétricos.⁴¹

Por isso, adotou-se o método Bailey-Andrew que proporcionou a otimização necessária do processo de extração e limpeza, o que diminuiu o tempo total de execução. Com ele foi possível a determinação de nitrogênio total no extrato clorofórmio. Porém, um ponto negativo é que os outros compostos nitrogenados que possam estar presentes no clorofórmio podem agir como interferentes na leitura, causando uma alteração nos valores detectados de cafeína.⁴¹

A espectrofotometria é outro método de quantificação de cafeína e baseia-se na absorção da radiação eletromagnética da molécula, mais precisamente no nível ultravioleta (UV). As primeiras análises definiram um limite de detecção de onda para cafeína de 271 a 275 nm e seus interferentes eram tratados com óxido de magnésio e ferrocianeto de zinco. Quando comparada a gravimetria, esse método se mostra mais rápido, simples e preciso, embora nem todos os interferentes sejam amenizados por completo.^{41,42}

A adoção dos métodos cromatográficos de adsorção (UV) e camada delgada, utilizados para determinação de cafeína em bebidas e alimentos, proporcionou uma limpeza mais eficiente dos extratos e maior exatidão de seus teores. De modo geral, o que houve foi uma junção de métodos cromatográficos e espectrofotométricos onde as primeiras análises consistiram na passagem do extrato por uma coluna celite básica, após isso o conteúdo é dissolvido em éter e levado para uma coluna celite ácida, onde só restará a cafeína adsorvida. Por fim, a cafeína passa por uma coluna com clorofórmio e é quantificada por meio de seu comprimento de onda na faixa de 276 nm.⁴¹

A cromatografia gasosa (CG) é outro método de quantificação de cafeína e apresenta vantagens por tornar possível a análise de cafeína em pequenos volumes de amostra, mantendo uma reprodutibilidade, sensibilidade e exatidão considerável. A detecção é feita por meio de um detector de ionização de chama e a separação por meio de uma coluna de vidro.⁴¹

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma das mais utilizada dentre os métodos analíticos de separação em função de sua detectabilidade e adaptabilidade às determinações analíticas com exatidão, e sua adequação para separação de compostos não voláteis com sua aplicação em compostos de interesse para a indústria. A técnica CLAE foi utilizada como método de separação de fase reversa para análise simultânea de nicotina, 3-hidroxicotinina, cotinina e cafeína na urina de fumantes passivos. O

experimento também incluiu detecção espectrométrica de massa em tandem e quantificação usando ionização por eletrospray em um analisador de massa com armadilha de íons por quadrupolo.^{41,43}

Outra técnica bastante utilizada para multianálise de metilxantinas é a eletrocromatografia capilar micelar, também chamada de cromatografia capilar eletrocinética micelar (CCEM). Ela apresenta algumas vantagens frente às outras técnicas como: a necessidade de um volume de amostra muito baixo em comparação com a CLAE, a possibilidade de injeção direta de fluidos biológicos, a alta eficiência de separação e identificação de metabólitos ou estereoisômeros e a capacidade de quantificar drogas com cromóforos pobres por detecção indireta de absorção de UV ou usando comprimentos de onda baixos.^{41,44,45}

A literatura descreve o uso da CCEM para separar cafeína e outros derivados da purina em amostras de saliva, soro e urina. Nesse experimento, a fase móvel foi constituída de tampão borato-fosfato a pH $\approx$ 9 contendo 75 mmol L⁻¹ de dodecil-sulfato de sódio. Obtiveram-se bons resultados e não houve necessidade de pré-tratamento das alíquotas da saliva ou do soro.^{37,44,45}

Outro método utilizado para determinação rápida e simultânea de cafeína, propifenazona e paracetamol é a análise por injeção em batelada com detecção amperométrica que apresenta um nível de confiança de 95%, bastante próximo ao da CLAE. Esta técnica, além de ser rápida, barata e simples, permite ainda a limpeza constante da superfície do eletrodo de trabalho por meio do uso de pulso de potencial adicional. Há um baixo consumo de reagentes nesse experimento, sendo que a alíquota da amostra ou solução padrão necessária é de 50 a 150 μ L e seu preparo é bastante simplificado (apenas pulverização, dissolução e diluição).⁴⁶

Voltametria

A voltametria é uma técnica eletroquímica bem comum que permite a obtenção de dados qualitativos e quantitativos de uma determinada espécie química (analito) por meio de sua eletrólise no interior de uma célula eletroquímica (CE). Essa CE pode ser constituída por três eletrodos (Figura 8), sendo eles: um eletrodo de trabalho (ET), um eletrodo de referência (ER) e um eletrodo auxiliar (EA) inserido para assegurar o sistema potenciostático ou por dois eletrodos, o ET e o ER.^{47,48}

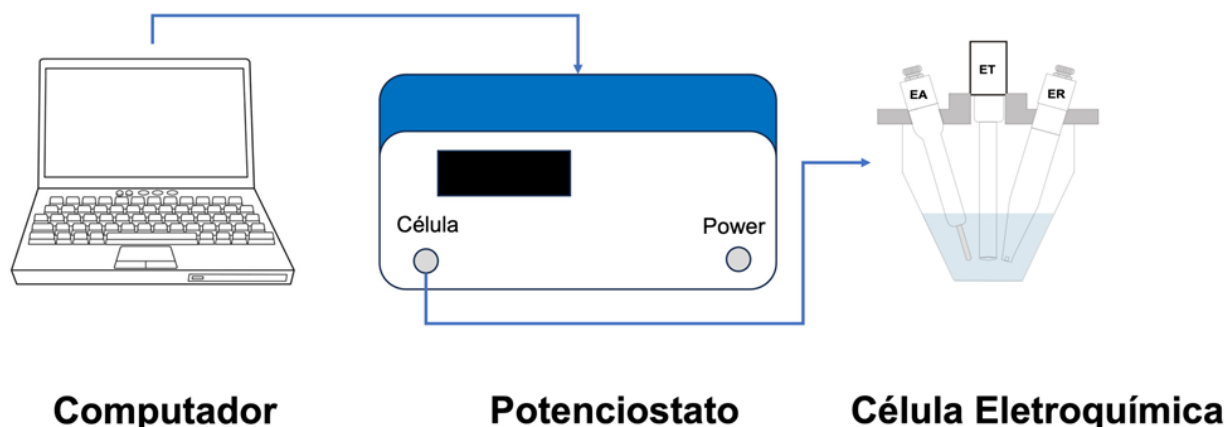


Figura 8. Aparato para uma Análise Eletroanalítica com uma Célula Eletroquímica de Três Eletrodos. Figura adaptada de Silva.⁴⁹

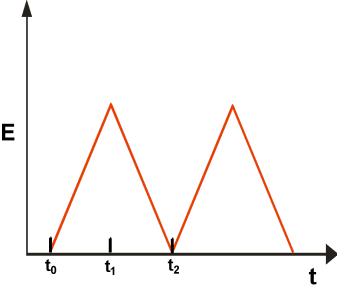
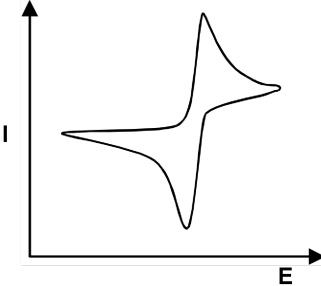
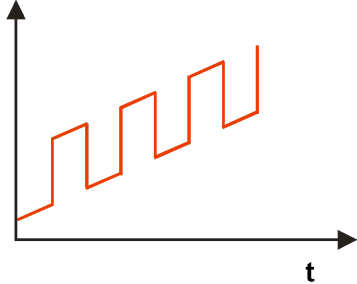
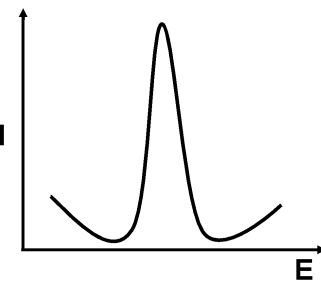
Os dados são obtidos por meio do registro simultâneo de curvas corrente-potencial em relação ao tempo. O ET é polarizado com a aplicação de um potencial (sinal de excitação) em forma de varredura entre o ET e o ER da CE. A curva obtida é chamada de voltamograma podendo ser diretamente proporcional a concentração do analito, sendo assim, possível quantificar diferentes espécies químicas.^{47,48}

O ET é geralmente constituído de materiais como ouro, platina, carbono (carbono vítreo, grafite, grafeno) ou mercúrio, podendo ser polarizado com o potencial em função do tempo da CE. Essa polarização ocorre quando a área de superfície do ET é menor em comparação com o ER. Esse, por sua vez, um valor de potencial constante e pode ser de calomelano saturado ou de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl) e o EA é geralmente um fio de platina.^{47,48}

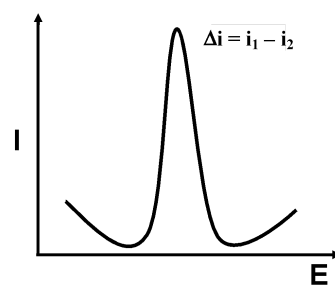
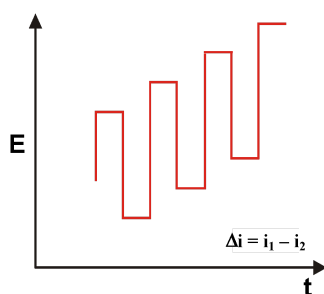
Com o objetivo de aumentar a seletividade e reduzir o limite de detecção é comum a modificação da superfície dos ET. Dessa forma, possíveis interferentes não irão contribuir com a corrente que é medida, tornando-se mais seletivo para determinado analito, além de melhorar a sensibilidade de um método eletroanalítico.^{47,48}

A seguir estão representadas as principais técnicas voltamétricas, seus sinais de excitação e respectivos voltamogramas:

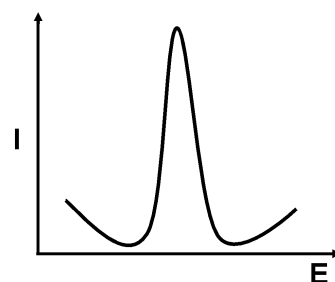
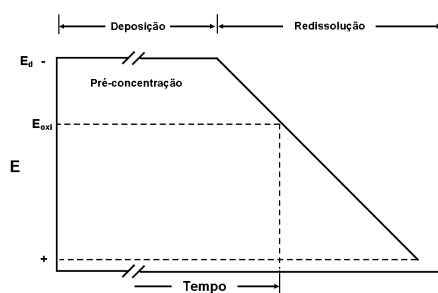
Tabela 2. Técnicas voltamétricas, sinal de excitação e voltamogramas

TÉCNICA	SINAL DE EXCITAÇÃO	VOLTAMOGRAMA
Voltametria Cíclica (CV)		
Voltametria de Pulso Diferencial (DPV)		

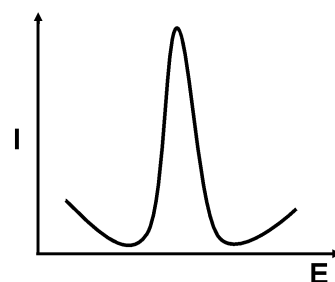
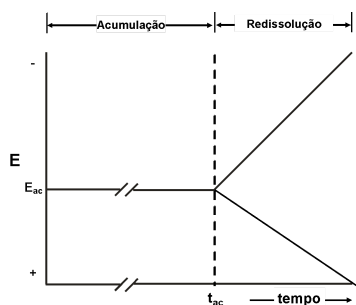
Voltametria de Onda Quadrada (SWV)



Voltametria de Redissolução Anódica (ASV)



Voltametria Adsorptiva de Redissolução (AdSV)



Revisão da Literatura

A obtenção dos dados para a elaboração dessa revisão da literatura foi realizada por meio de busca eletrônica em algumas bases de dados como Google Acadêmico, Scopus, PubMed e SciELO. Foram selecionadas produções que abordassem a aplicação de voltametria na determinação de cafeína em diferentes amostras.

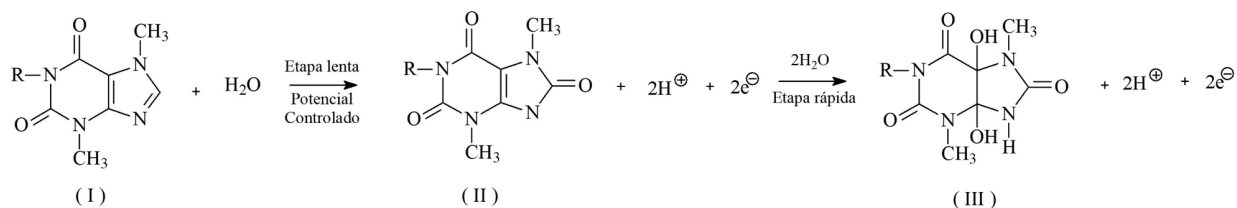
Os artigos compreendem o período de 2010 a 2022 e os descritores de assunto utilizados para busca foram: “*emerging contaminants*” (ou “*emerging pollutants*”); “*voltammetric determination*”, “*caffeine*” e “*water*”. Dessa forma, foi possível selecionar produções que se enquadram aos critérios estabelecidos, possibilitando a obtenção de informações mais inerentes ao tema.

Mecanismos de Reação de Oxidação da Cafeína

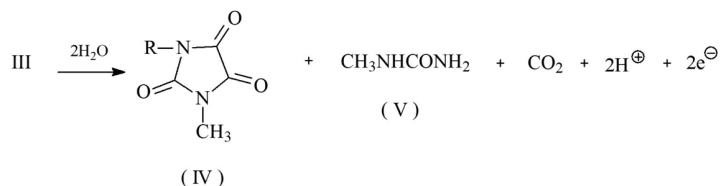
As análises eletroanalíticas dependem das propriedades eletroativas das espécies químicas analisadas. A cafeína apresenta sítios de reatividade em sua molécula que possibilitam reações de oxirredução, viabilizando o uso de técnicas como espectrofotometria, cromatografia, colorimetria e voltametria.^{50,51}

Existem alguns mecanismos de oxidação mencionados na literatura e dentre eles está o de Hansen e colaboradores,⁵² que analisou a oxidação eletroquímica de cafeína e teobromina por meio de voltametria cíclica, utilizando um eletrodo de grafite pirolítico (PGE) em tampão de acetato em pH 4,7 como eletrólito de suporte. Os autores descrevem que o processo de oxirredução da cafeína acontecerá no anel imidiazólico, principalmente no grupo das iminas. O processo ocorre em duas etapas envolvendo quatro elétrons e quatro prótons, e o mecanismo proposto é apresentado na Figura 9.⁵³ Em um primeiro momento ocorre adição de uma molécula de água concomitante a desprotonação e seguida por um tautomerismo cetó-enólico. Pode-se notar que a perda de hidrogênio ocorreu devido ao rearranjo de uma dupla ligação com o oxigênio da molécula de água. De forma mais clara, ocorre a aplicação de um potencial inicial controlado que promove a oxidação de dois elétrons da ligação dupla R-N9=C8-R resultando no ácido úrico (II, Figura 9) apropriadamente substituído que, sendo mais facilmente oxidado na dupla ligação R-C4=C5-R do que o composto original, reage com duas moléculas de água e ocorre a quebra de uma ligação dupla entre carbonos localizados no meio dos dois núcleos da molécula, bem como uma dupla desprotonação e a perda instantânea de dois elétrons. Há também a adição de dois grupos hidroxilas nos carbonos que dividem os dois núcleos da molécula, formando um ácido úrico-4,5-diol (III, Figura 9). O ácido úrico-4,5-diol é bastante instável e acaba se fragmentando dando origem a um aloxano metilado (VI, Figura 9) da porção do anel de pirimidina, uma metil uréia (V, Figura 9) do anel imidazol, uma alantoína metilada (VII, Figura 9) e um dióxido de carbono. Após essa etapa, em uma segunda oxidação eletroquímica, alguns subprodutos são formados a partir de uma quantidade muito pequena do ácido úrico-4,5-diol como, por exemplo, o ácido dimetilparabânico (IV, Figura 9), derivado da porção do anel de pirimidina da xantina inicial, e a metilureia (V, Figura 9).⁵⁰⁻⁵³

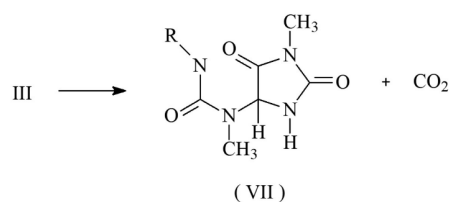
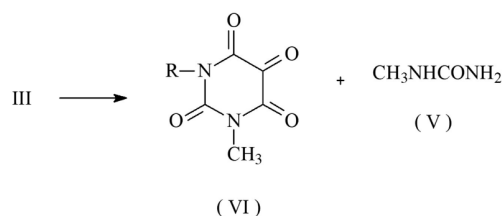
PRIMEIRA ETAPA DA OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA



SEGUNDA ETAPA DA OXIDAÇÃO ELETROQUÍMICA



FRAGMENTAÇÃO SECUNDÁRIA



HIDRÓLISE SECUNDÁRIA

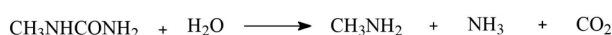


Figura 9. Oxidação eletroquímica da molécula de cafeína, segundo os autores Hansen e colaboradores.⁵² (I) Cafeína ou teobromina, (II) Ácido 1,3,7-trimetilúrico, (III) Ácido úrico-4,5-diol, (IV) Ácido dimetilparabânico, (V) metilureia, (VI) Aloxano metilado, (VII) Alantoína metilada.⁵⁰⁻⁵³

Posteriormente, Spătaru e colaboradores⁵⁴ e outros pesquisadores estudaram novamente o comportamento eletroquímico das xantinas e seus derivados (teofilina, teobromina e cafeína), mas utilizando eletrodo de diamante dopado com boro. Segundo os autores, as xantinas e outras metilxantinas como a cafeína sofre, de modo geral, o mesmo processo de oxidação eletroquímico proposto pelos pesquisadores Hansen e colaboradores.⁵² De acordo com os dados encontrados, xantina e teofilina, apresentaram intervalos de pH 1,8 – 8,0 e 1,8 – 9,0, a coeficiente angular da curva $E_p - \text{pH}$ foram iguais a 71 mV pH^{-1} e 52 mV pH^{-1} , respectivamente. Com a constatação de que os valores do coeficiente angular da curva $E_p - \text{pH}$ para essas moléculas eram próximos ao valor teórico de 60 mV pH^{-1} , os autores puderam

afirmar que a reação envolve um número igual de prótons e elétrons. Além disso, consideraram também que a reação de oxidação tanto da xantina como das outras metilxantinas envolvem quatro prótons e quatro elétrons, mesmo apresentando valores inferiores a 60 mV pH⁻¹. A oxidação eletroquímica da xantina (I) (que pode ser a cafeína) prossegue por uma oxidação inicial a (II) ácido úrico. Uma vez que o ácido úrico é mais prontamente oxidado do que a xantina, ele é imediatamente oxidado a bis-imida (IIIa, IIIb) em uma reação de oxidação adicional. Portanto, o pico voltamétrico inicial para a xantina corresponde à oxidação geral. No entanto, um outro pico mal definido é observado em um potencial menos positivo, que provavelmente é referente a uma pequena quantidade da bis-imina (IIIa, IIIb) reduzida durante a varredura negativa de volta ao ácido úrico, que é oxidado novamente, na segunda varredura positiva, na faixa do pico secundário. O mecanismo proposto está representado na Figura 10.

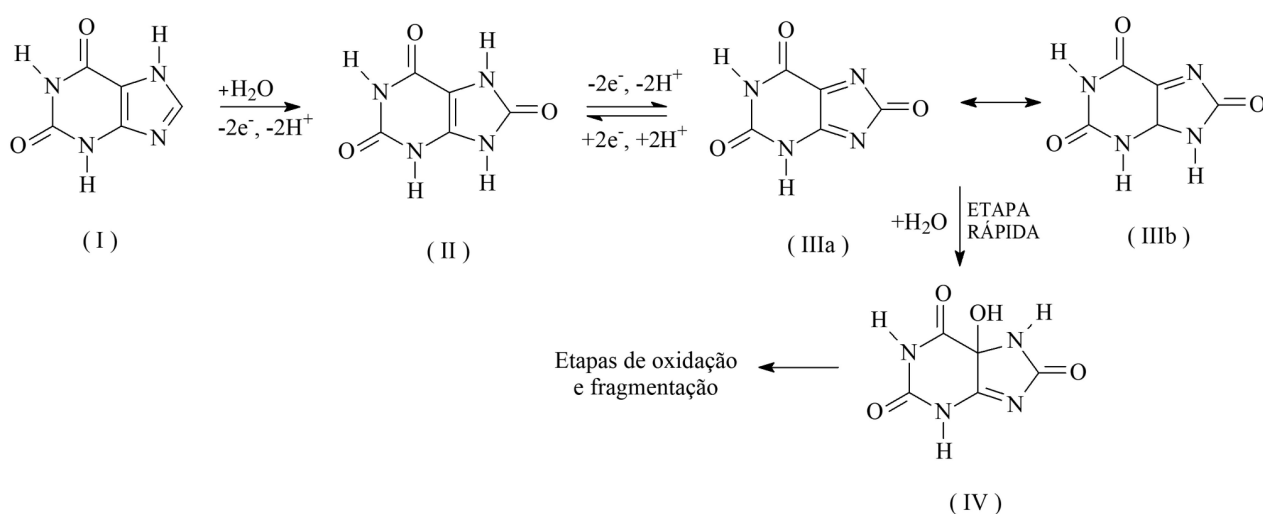


Figura 10. Mecanismo de oxidação proposto por Spătaru e colaboradores⁵⁴ para a xantina e, consequentemente, para as outras metilxantinas.

Outro mecanismo de oxidação da cafeína discutido na literatura é o de Telo e colaboradores,⁵⁵ que foi obtido usando um conjunto de técnicas analíticas, como cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia paramagnética eletrônica, onde sugerem uma oxidação via radicais livres (Figura 11). Pode-se notar que o sítio ativo da cafeína também é o anel imidazólico e o produto final dessa reação é um tautômero semelhante ao do mecanismo abordado por Hansen e colaboradores.⁵² No primeiro mecanismo proposto, o radical hidroxila ataca o grupo CH do anel imidazólico e ocorre a quebra homolítica da ligação, formando um radical intermediário (II, Figura 11). Após esta etapa, ocorre a oxidação devido à perda de um átomo de hidrogênio, gerando também o produto ácido 1,3,7-trimetilúrico (IV, Figura 11). O segundo mecanismo de oxidação da cafeína proposto por Telo e colaboradores⁵⁵ ocorre por meio de outro radical, o íon sulfato radicalizado ($-SO_4^{\cdot-}$). Este mecanismo ocorre em adição ao primeiro mecanismo descrito em seu trabalho. Primeiro, usando o íon sulfato e o radical íon sulfato, o nitrogênio protonado do anel imidazólico torna-se um radical e o carbono, presente entre os nitrogênios, um carbocátion. A segunda etapa consiste

na adição do íon hidrogenofosfato e na desprotonação do carbono (anteriormente um carbocátion), resultando na molécula ainda contendo um radical nitrogênio e o carbono anteriormente carbocátion, formando uma ligação iônica com o contra-íon PO_3^{2-} . Por sua vez, na última etapa desse mecanismo ocorre a oxidação e a hidrólise da molécula, resultando no produto final do ácido 1,3,7-trimetilúrico (IV, Figura 11).

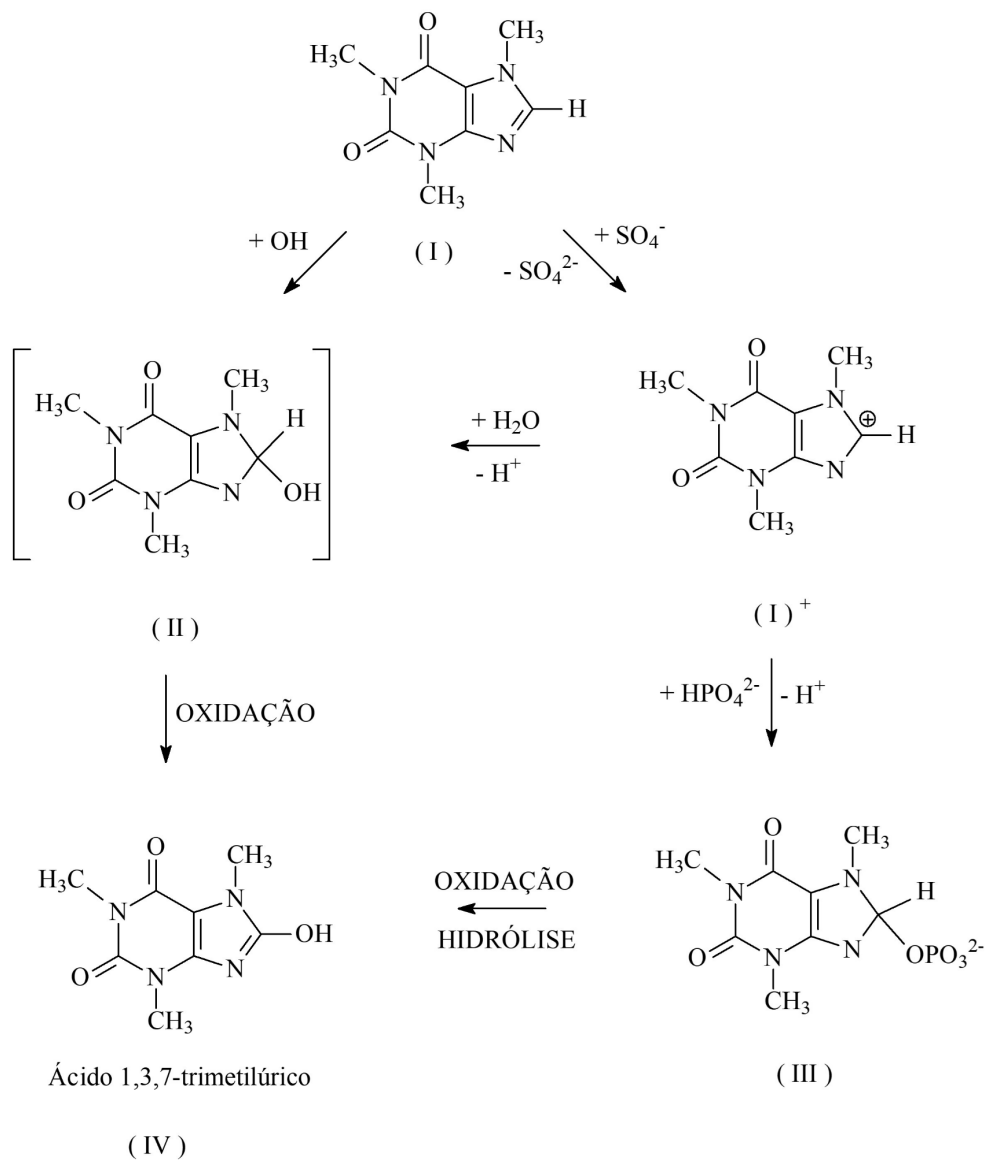


Figura 11. Mecanismo de oxidação da cafeína via radicais livres.⁵⁵

Martínez-Huitle e colaboradores⁵⁶ desenvolvem um sensor para a determinação de cafeína utilizando o eletrodo de diamante dopado com boro e modificado com Nafion. Nesse experimento pode-se evidenciar o mecanismo de oxidação da cafeína condiz com o proposto por Spătaru,⁵⁴ Telo⁵⁵ e colaboradores com uma oxidação adicional na parte final junto à fragmentação, gerando dois produtos desmetilados distintos (Figura 12).

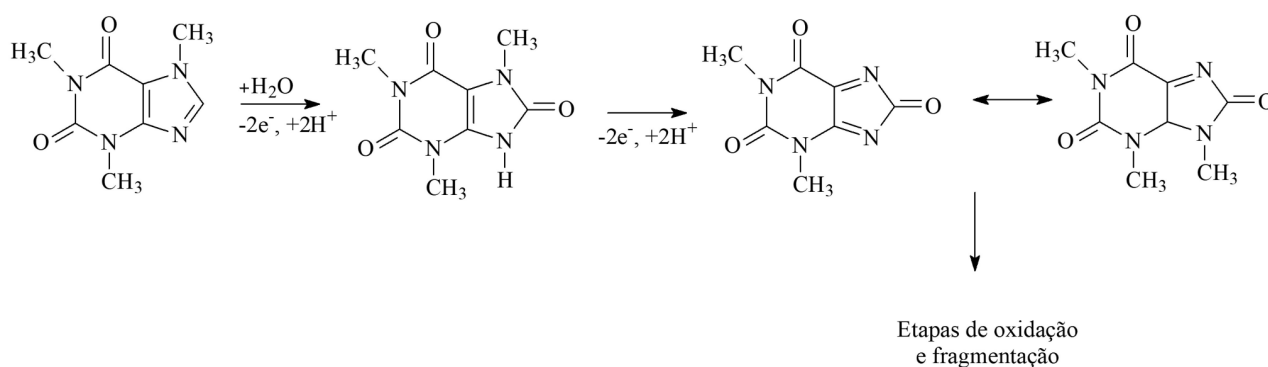


Figura 12. Mecanismo de oxidação da cafeína proposto por Martínez-Huitle e colaboradores⁵⁶

Como mencionado, tais mecanismos de oxidação são as bases para o desenvolvimento de análises voltamétricas de detecção e quantificação de cafeína em diversas amostras. O mecanismo mais encontrado nos artigos pesquisados e apresentados nas Tabelas 3 a 6, foi o proposto por Hansen⁵² e aperfeiçoado por Martínez-Huitle⁵⁶ e colaboradores. Alguns desses artigos serão discutidos a seguir:

Sun e colaboradores⁵⁷ estudaram o comportamento eletroquímico da cafeína no eletrodo de carbono vítreo modificado por Nafion-Gr (Nafion-Gr/GCE) utilizando voltametria cíclica (CV, do inglês *cyclic voltammetry*) e voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *differential pulse voltammetry*), utilizando amostras de bebidas energéticas. O mesmo processo de oxidação eletroquímica proposto pelos pesquisadores Hansen⁵² e aperfeiçoado por Martínez-Huitle⁵⁶ e colaboradores (Figura 12) foi apresentado nesse trabalho, em um processo geral com quatro prótons e quatro elétrons. Há uma oxidação das ligações C8=N9 resultando no ácido úrico substituído. Em seguida, uma oxidação imediata para produzir o análogo 4,5-diol do ácido úrico.

Amare e colaboradores⁵⁸ também estudaram o comportamento eletroquímico da cafeína só que empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com poly(ácido 4-amino-3-hidroxinaftaleno sulfônico) por meio de CV e voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*) para análise em amostras extrato de café. O eletrólito de suporte escolhido para garantir bons parâmetros para a análise foi uma solução tampão de acetato pH 5, pois o potencial de pico deslocou-se negativamente com o aumento do pH e a corrente de pico da cafeína, no eletrodo em questão, aumentou com o aumento do pH de 3,0 para 5,0 e depois começou a diminuir para valores de pH superiores a 5,0.

Tefera e colaboradores⁵⁹ abordaram em seu trabalho a determinação de cafeína e paracetamol utilizando, também, o eletrodo de carbono vítreo modificado com poly(ácido 4-amino-3-hidroxinaftaleno sulfônico) por meio de CV e SWV para análise em amostras de bebidas energéticas. A influência do pH nas correntes e potenciais de pico de cafeína foram examinados por CV na faixa de pH 3,5 – 6,0 a 0,1 V s⁻¹ e observou-se que ambos são afetados pela mudança de pH. Sendo assim, a solução tampão de acetato pH 5,0 foi escolhida como ideal para a análise por garantir os parâmetros desejados de corrente e potencial.

Ali e colaboradores⁶⁰ estudaram simultaneamente o comportamento eletroquímico da cafeína e da

vanilina utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro através de CV e voltametria de redissolução adsorptiva de onda quadrada. O eletrólito de suporte escolhido para análise de cafeína foi o tampão fosfato pH 2,5, uma vez que produziu maior resposta em termos de magnitude de corrente para cafeína e melhor repetitividade para ambas as espécies químicas.

Wang e colaboradores⁶¹ trabalharam a determinação simultânea de teofilina e cafeína utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono dopados com nitrogênio e com poly(L-cisteína). As propriedades eletroquímicas da cafeína foram investigadas por meio de CV e DPV. O eletrólito de suporte escolhido para a análise foi uma solução 0,01 mol L⁻¹ tampão fosfato (pH 1,70) que garantiu parâmetros de corrente e potencial ótimos para a análise.

Alpar e colaboradores⁶² utilizaram um eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente (aqui referido como CPT-BDD) e eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado anodicamente (aqui referido como APT-BDD) para a determinação seletiva e simultânea de ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), vanilina e cafeína por meio da voltametria adsorptiva de redissolução de onda quadrada (SW-AdSV, do inglês *Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry*), em amostras de bebidas. O eletrólito de suporte escolhido para a análise foi uma solução de 0,1 mol L⁻¹ HNO₃. A influência do pH na oxidação da cafeína não afeta significativamente o potencial de pico. Por outro lado, a magnitude da corrente de pico obtida para a oxidação deste composto no eletrodo APT-BDD é ligeiramente maior do que no eletrodo CPT-BDD, exceto aquela obtida em solução de HNO₃. No caso do efeito da acidez da solução, a magnitude da corrente de pico diminui com o aumento do pH em ambos os eletrodos APT-BDD e CPT-BDD.

Hernandez-Aldave e colaboradores⁶³ também desenvolveram um trabalho onde utilizou um eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes LbL de Nafion/GNPs para determinação de cafeína por meio da CV e DPV, em amostras de bebidas energéticas. O eletrólito de suporte escolhido para a análise foi uma solução de 0,1 mol L⁻¹ NaCl pH 2,0. O pH foi acidificado usando HCl e melhorou a solubilidade da cafeína e mimetizou o pH natural das bebidas gaseificadas (geralmente entre 2 e 3).

Tadesse e colaboradores⁶⁴ trabalharam com um eletrodo de pasta de carbono modificado com antraquinona para estudar as propriedades do eletrodo modificado frente à oxidação da cafeína. Uma excelente resposta de pico de oxidação e repetitividade dos sinais em soluções de ácido perclórico (HClO₄) 0,1 mol L⁻¹ foi encontrada, o que o classificou como o melhor eletrólito suporte para os sensores. Além disso, um melhor formato do voltamograma e excelente resposta de pico foram obtidos em pH 0,56.

Eisele e colaboradores⁶⁵ utilizaram um eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente para a determinação simultânea de paracetamol, cafeína e orfenadrina empregando a SWV e CV. Uma melhor separação dos picos, uma maior intensidade de corrente para paracetamol e cafeína, bem como uma melhor separação dos potenciais de pico entre cafeína e orfenadrina foram observados com a utilização de 0,5 mol L⁻¹ de H₂SO₄ como eletrólito de suporte.

Tajeu e colaboradores⁶⁶ realizaram a determinação eletroquímica de cafeína em amostras farmacêuticas utilizando um eletrodo de carbono vítreo revestido com atapulgita/nafion, por meio da CV e

DPV. O eletrólito de suporte escolhido foi $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 (pH 1,5) para garantir melhores resultados de detecção e quantificação para o analito empregando o eletrodo em questão.

Thu e colaboradores⁶⁷ realizaram uma quantificação simultânea de ácido ascórbico, acetaminofeno e cafeína utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado por CoFe_2O_4 , por meio de voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial (DP-AdSV, do inglês Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry). O eletrólito de suporte selecionado foi uma solução tampão Britton-Robinson $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4) pois garantiu uma corrente de pico melhor para a análise e quantificação das espécies químicas.

Jesny e colaboradores⁶⁸ estudaram o comportamento voltamétrico simultâneo de xantina, teofilina e cafeína utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme eletropolimerizado de ácido para amino benzeno sulfônico, por meio de SWV. O eletrólito suporte selecionado foi uma solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ tampão fosfato. Para a cafeína a corrente de pico aumentou à medida que se aumentava o pH, porém não houve variação do potencial de oxidação. Parâmetros ótimos para a análise simultânea foram encontrados em pH 7,0.

Detecção e Quantificação de Cafeína Empregando Técnicas Voltamétricas

Algumas informações importantes, além dos dados quantitativos das análises voltamétricas, foram destacadas e apresentadas nas Tabelas 3 a 6. Por meio dessas informações foi possível averiguar a sensibilidade e seletividade das técnicas voltamétricas e sua eficiência na detecção e quantificação simultânea de cafeína em amostras biológicas e não biológicas.

Tabela 3. Limites de detecção (LD) e faixa linear para cafeína e outros analitos em amostras de **bebidas** e os métodos voltamétricos com os respectivos eletrodos de trabalho utilizados nas determinações

Analitos (Ano)	Método Voltamétrico / Eletrodo de Trabalho	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras
CAF ⁶⁹ (2011)	CV e DPV Nafion/GO/GCE	0,4 - 80	0,2	Bebidas à base de cola, chás comerciais e bebidas energéticas
CAF ⁵⁷ (2011)	CV E DPV Nafion–Gr/GCE	40 - 400 0,4 - 40	0,12	Coca-cola, Pepsi, Energéticos, café instantâneo e Café comercial
CAF ⁵⁸ (2012)	CV e SWV poly(AHNSA)/GCE	0,06 - 40	0,137	Extrato de café

AA e CAF⁷⁰ (2013)	SWV MWCNT/GCE	AA: 10 - 500 CAF: 10 - 500	AA: $1,0 \times 10^{-2}$ CAF: $3,52 \times 10^{-3}$	Chá, café, bebida gelada (orvalho da montanha), preparações farmacêuticas e amostras de urina
CAF e CGA⁷¹ (2013)	CV e SW-AdSV BDD	CAF: 4,12 - 28,8 CGA: 5,64 - 147	CAF: 0,551 CGA: 1,26	Bebidas energéticas, café e refrigerante a base de cola
CAF e PAR⁵⁹ (2016)	CV e SWV poly(AHNSA)/GCE	10 - 125	CAF: 0,79 PAR: 0,45	Coca-Cola, Pepsi-Cola e chá
PAR e CAF⁷² (2016)	CV e DPV Bi/Nafion/BDDE	PAR: 0,2 - 500 CAF: 0,005 - 20	PAR: $2,62 \times 10^{-2}$ CAF: $1,14 \times 10^{-3}$	Comprimidos, chás comerciais, bebidas energéticas e bebidas à base de cola
CAF⁷³ (2017)	CV e DPV LGCE	6,0 - 100	0,837	Extratos aquosos de café etíope cultivados em quatro localidades de cultivo de café (Wonbera, Wolega, Finoteselam e Zegie)
CAF⁷⁴ (2017)	CV e DPV (PDDA/MWNT) ₅ /GCE	0,3 - 80	0,05	Chá Oolong

CAF⁷⁵ (2017)	CV e DPV ZnO NPs M/GCE	2 - 100	0,038	Amostras comerciais de chá e café
VAN e CAF⁶⁰ (2017)	CV e SW-AdSV BDD	VAN: 6,6 - 660 CAF: 5,2 - 520	VAN: 1,54 CAF: 0,366	Amostras comerciais de alimentos e bebidas
CAF⁷⁶ (2017)	DPV AuNP-GCPE	25 - 150 200 - 1000	0,96 4,90	Refrigerantes à base de cola
CAF⁷⁷ (2018)	CV e DPV MWCNTs/Au	0,58 - 11,50	0,08	Amostras de bebidas: chás comerciais
TEOF e CAF⁶¹ (2018)	CV, CC e DPV PLCY/N-CNT/GCE	TEOF: 0,10 - 70,0 CAF: 0,40 - 140,0	TEOF: 0,033 CAF: 0,20	Chá verde, comprimidos orais de teofilina de liberação sustentada e amostra de bebida energética
CAF⁷⁸ (2018)	CV e SWV poly(ARS)/SPCE	0,5 - 20	0,05	Amostras de bebidas energéticas, refrigerantes e achocolatados

5-CQA, VAN e CAF⁶² (2018)	CV e SW-AdSV APT-BDD e CPT-BDD	5-CQA: 2,8 - 170 VAN: 3,3 - 330 CAF: 0,52 - 210	5-CQA: 0,40 VAN: 0,38 CAF: 0,15	Amostras de açúcar de baunilha comercialmente disponíveis, café solúvel enriquecido com vanilina (com açúcar e creme) e refrigerante de cola
CAF⁷⁹ (2018)	CV e DPV GCE	28 - 479	20	Coca-Cola, Pepsi-Cola, Kofola, Red Bull
5-CQA, VAN e CAF⁸⁰ (2018)	CV e SW-AdSV GR/GCE	5-CQA: 0,014 - 0,71 VAN: 3,3 - 210 CAF: 2,6 - 100	5-CQA: 0,0044 VAN: 0,50 CAF: 0,30	Amostras de açúcar de baunilha comercialmente disponíveis, café solúvel enriquecido com vanilina (com açúcar e creme) e refrigerante de cola
CAF⁸¹ (2019)	CV e SWV GECE	5 - 150	145 1,3	Três amostras de chás (saquinhos de chá: duas amostras de chá preto e uma de chá verde) e uma amostra de bebida de guaraná com aroma de ginseng
CAF⁶³ (2019)	CV e DPV Nafion/GNPs LbL	20 - 250 50 - 5000	0,032 24	Amostras comerciais de Coca-Cola e bebida energética (Power Energy Shot)

CAF⁸² (2019)	CV e DP-AdSV SPCE/CNFs	0,2 - 1	0,056	Bebida energética e Bebida de cola
CAF e PIRID⁸³ (2019)	CV e DPV Nafion®/GCE	CAF: 63,1 - 600 PIRID: 7,5 - 200	CAF: 18,9 PIRID: 2,2	Bebidas energéticas comerciais: Red Bull, Kong Strong e Semtex
CAF⁸⁴ (2019)	CV e DPV Pt-GR/GCE	5000 - 10000	0,1129	Chá comercial
CAF⁸⁵ (2020)	CV, EIS, CA e DPV NCOMCP	5,0 e 600	0,016	Chá, café, chocolate, bebida de cola e nescafé
VAN e CAF⁸⁶ (2022)	CV e SWV Nafion-EDA-MWCNTs/BDDE	0,4 - 40	VAN: 0,15 CAF: 0,18	Amostras de açúcar de baunilha, bebida energética, café de baunilha e chá gelado disponíveis comercialmente

CAF: Cafeína; **CV:** Voltametria Cíclica; **DPV:** Voltametria de Pulso Diferencial; **Nafion/GO/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nafion e Óxido de Grafeno; **Nafion-Gr/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado por Nafion-Gr; **SWV:** Voltametria de Onda Quadrada; **poly(AHNSA)/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com poly(ácido 4-amino-3-hidroxinaftaleno sulfônico); **AA:** Ácido ascórbico; **MWCNT/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nanotubos de Carbono Multiparede; **CGA:** Ácido Clorogênico; **SW-AdSV:** Voltametria Adsorviva de Redissolução de Onda quadrada; **BDD:** Eletrodo de Diamante Dopado com Boro; **PAR:** Paracetamol; **Bi/Nafion/BDDE:** Eletrodo de Diamante Dopado com Boro e Partículas de Bismuto Não Tóxicas; **LGCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado por Lignina; **(PDDA/MWNT)5/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo com Nafion Modificado com PDDA-MWCNT; **ZnO NPs M/GCE:** Eletrodo de

Carbono Vítreo Modificado com Nanopartículas de Óxido de Zinco; **VAN**: Vanilina; **AuNP-GCPE**: Eletrodo Composto de Nanopartículas de Ouro e Pasta de Carbono Vítreo; **MWCNTs/Au**: Eletrodo de Ouro Modificado com MWCNTs; **TEOF**: Teofilina; **CC**: Cronocoulometria; **PLCY/N-CNT/GCE**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nanotubos de Carbono Dopados com Nitrogênio e com poly(L-cisteína); **poly(ARS)/SPCE**: Eletrodos de Carbono Impressos em Tela Descartáveis Modificados com poly Alizarin Red S; **5-CQA**: ácido 5-O-Cafeoilquínico; **APT-BDD**: Eletrodo de Diamante Dopado com Boro Pré-Tratado Anodicamente; **CPT-BDD**: Eletrodo de Diamante Dopado com Boro Pré-Tratado Catodicamente; **GCE**: Eletrodo de Carbono Vítreo; **GR/GCE**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Grafeno; **GECE**: Eletrodo Composto de Grafite Epóxi; **Nafion/GNPs LbL**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Filmes LbL de Nafion/GNPs; **DP-AdSV**: Voltametria Adsorbtiva de Redissolução de Pulso Diferencial; **SPCE/CNFs**: Eletrodo de Carbono Serigrafado Revestido com Nanofibras de Carbono; **PIRID**: Piridoxina; **Nafion®/GCE**: Eletrodo de Carbono Vítreo Coberto com Uma Fina Camada de Fluoropolímero Sulfonado Nafion®; **Pt-GR/GCE**: Eletrodo Nanohíbrido de Carbono e Vidro Platina-Grafeno; **EIS**: Espectroscopia de Impedância Eletroquímica; **CA**: Cronoamperometria; **NCOMCP**: Sensor de Pasta de Carbono Modificada com Óxido de Nano-Cobalto (II, III); **Nafion-EDA-MWCNTs/BDDE**: Eletrodo de Diamante Dopado com Boro Modificado com Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas Enxertados com Nafion-etilenodiamina

Na Tabela 3 são apresentados artigos desenvolvidos entre o período de 2011-2022 em que foram utilizados métodos voltamétricos para detecção simultânea de cafeína e outras espécies químicas em amostras de bebidas.

A CV foi aplicada em vinte e três dos vinte e cinco trabalhos e forneceu informações qualitativas importantes sobre a termodinâmica dos processos de oxidação/redução de compostos eletroquimicamente ativos, sobre a cinética das reações envolvendo transferência de elétrons e sobre reações químicas acopladas a processos adsorptivos. Por meio da utilização da CV foi possível entender melhor os novos experimentos propostos, bem como a eficiência das modificações realizadas nos eletrodos na detecção e quantificação dos analitos, especialmente da cafeína.

A técnica mais presente nos trabalhos reunidos para esta categoria de amostra foi a DPV, que foi aplicada em quatorze dos vinte e cinco trabalhos, sendo que os limites de detecção para cafeína variaram entre $1,14 \times 10^{-3}$ e $24 \mu\text{mol L}^{-1}$. Nessa técnica, as medidas de corrente e aplicações de potencial e pulsos de potencial são realizadas em intervalos de tempo muito pequenos, isso contribui para uma melhor visualização da corrente faradaica, garantindo uma resposta eletroquímica mais consistente.

Sadoke colaboradores⁷² utilizaram a DPV para detecção simultânea ou separada de paracetamol e cafeína por meio de um eletrodo de diamante dopado com boro e modificado com filme de Nafion e partículas de bismuto (Bi/Nafion/BDDE) em amostras de comprimidos, chás comerciais, bebidas energéticas e bebidas à base de cola. O comportamento eletroquímico da cafeína em Bi/Nafion/BDDE foi investigado por CV, sugerindo que a oxidação da cafeína se mostrou irreversível. A modificação da superfície do eletrodo com bismuto e uma camada de Nafion, possibilitou um aumento de aproximadamente 2,5 vezes na resposta voltamétrica da cafeína em ambos os eletrodos, devido à pré-concentração de cafeína na camada polimérica. A ordem de modificação da superfície com as camadas de metal e polímero também influenciaram as respostas eletroquímicas da cafeína. Foi observado um aumento do sinal do pico de oxidação da cafeína nos eletrodos quando as partículas de bismuto foram depositadas in situ na superfície BDDE coberta por Nafion (Bi/Nafion/BDDE). Essa modificação também contribuiu para menor corrente de fundo e melhor repetitividade do sinal, quando comparada ao eletrodo Bi/Nafion/GCE, onde se utiliza o eletrodo de carbono vítreo como suporte para filmes de Nafion e partículas de bismuto. Foram avaliadas as influências de interferentes nas respostas voltamétricas dos analitos. Os interferentes levados em consideração aqui foram aqueles mais comuns em amostras de fluidos biológicos, amostras farmacêuticas, suplementos alimentares ou bebidas e que poderiam alterar os resultados: Glicose, frutose, sacarina, ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina, vitaminas do grupo B e íons metálicos como Fe^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} . O resultado foi que não houve uma interferência significativa dessas espécies químicas nas correntes de pico de ambos os analitos.

A SWV foi aplicada em seis dos vinte e cinco trabalhos analisados, com limites de detecção que variam entre $3,52 \times 10^{-3}$ e $145 \mu\text{mol L}^{-1}$. Sua sensibilidade é comparável com a das técnicas de pulso diferencial, porém apresenta como vantagem uma maior velocidade de aplicação e aquisição de dados.

Gupta e colaboradores⁷⁰ desenvolveram um trabalho sobre a determinação simultânea de ácido ascórbico e cafeína em amostras de chá, café, bebida gelada (orvalho da montanha), preparações farmacêuticas e amostras de urina, por meio de um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas, utilizando SWV. A modificação de superfície empregada nesse estudo resultou em picos de oxidação mais nítidos, potenciais de pico menores (~ -10 mV e ~ -1103 mV para AA e CAF, respectivamente) e corrente de pico maior para ambas as espécies químicas. A aplicação da técnica de SWV mostrou-se conveniente, mais rápida e precisa para determinação dos analitos. Além disso, os dados obtidos mostram que o eletrodo de carbono vítreo modificado é superior ao eletrodo de carbono vítreo sem modificação.

Furtado e colaboradores⁸¹ também trabalharam com a SWV para detecção de cafeína em amostras de chás e bebida de guaraná com aroma de ginseng, por meio de eletrodos compósito de grafite epóxi (GECE), modificados por diferentes sais de diazônio. A viabilidade dos eletrodos para detecção e quantificação de cafeína foram analisadas por meio da CV. Os resultados mostraram que o melhor sistema eletroquímico foi a modificação com sal de 4-sulfobenzenodiazônio, o modificador mais ácido, em valor de pH de 2,0. Ele apresentou não apenas um aumento na sensibilidade, mas também uma mudança no potencial de oxidação de 1,80 para 1,60 V, melhorando as condições para a ocorrência das reações.

Outra técnica utilizada (cinco dos vinte e cinco trabalhos reunidos) é a AdSV que consiste na adsorção do analito sobre a superfície do material do eletrodo de trabalho, proporcionando melhorias nas respostas analíticas, como a redução dos limites de detecção. Essa deposição pode ser espontânea ou favorecida por meio de modificações químicas na superfície do eletrodo. Em ambos os casos, a acumulação não é baseada em processos faradaicos, mas sim, por meio de ligações covalentes, troca iônica e outras ligações eletrostáticas. Os limites de detecção variaram entre 0,056 e 0,551 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Dentre os trabalhos analisados, Tysczuk-Rotko e colaboradores⁸² trabalharam com um eletrodo de carbono impresso revestido com nanofibras de carbono (SPCE/CNFs), por meio de voltametria adsortiva de redissolução de pulso diferencial (DP-AdSV, do inglês *Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry*) e conseguiu o menor limite de detecção para cafeína (0,056 $\mu\text{mol L}^{-1}$). A possibilidade de aplicação da voltametria adsortiva de redissolução de onda quadrada (SW-AdSV, do inglês *Square Wave Adsorptive Stripping Voltammetry*) foi avaliada e apresentou sinais voltamétricos inferiores. O tempo de acumulação da cafeína no eletrodo também foi avaliado e concluiu-se que a corrente de pico da cafeína aumenta à medida que o tempo de acúmulo aumenta e os maiores valores são registrados para 45 segundos. A corrente de pico da cafeína aumenta com o aumento da amplitude para 100 mV e uma amplitude de 100 mV e uma taxa de varredura de 125 mV s^{-1} foram selecionados como valores ótimos. Com isso, o método se mostrou eficaz na determinação de cafeína.

Em outro estudo analisado, Yardim e colaboradores⁷¹ realizaram a determinação de cafeína e ácido clorogênico utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro pré-tratado anodicamente, por meio da CV e da SW-AdSV e conseguiu-se o maior limite de detecção para cafeína (0,551 $\mu\text{mol L}^{-1}$) para essa

categoria de amostra. O comportamento eletroquímico desses compostos foi estudado por CV, sugerindo que ambos os compostos foram oxidados irreversivelmente. Ao se analisar o efeito da taxa de varredura na resposta voltamétrica da oxidação dos analitos, concluiu-se que as correntes de pico de oxidação aumentaram com um deslocamento positivo no potencial quando a taxa de varredura aumentou. O eletrodo apresentou uma sensibilidade baixa, sendo favorável a sua aplicação no setor industrial.

Tabela 4. Limites de detecção (LD) e faixa linear para cafeína e outros analitos em amostras **farmacêuticas** e os métodos voltamétricos com os respectivos eletrodos de trabalho utilizados nas determinações

Analitos (Ano)	Método Voltamétrico / Eletrodo de Trabalho	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras
APAP, ASA e CAF⁸⁷ (2010)	CV, EIS, CC e DP-AdSV ISSM-CNT-PE	0,291 - 62,7	APAP: 0,0258 ASA: 0,0847 CAF: 0,0883	Formulações farmacêuticas, amostras de urina e soro humano
CAF E AAS⁸⁸ (2012)	CV e DPV BDD	CAF: 1,0 - 1000 AAS: 10 - 1000	CAF: 0,16 AAS: 0,23	Formulações farmacêuticas
CAF⁶⁴ (2013)	CV e SWV AQMCPPE	2 - 800	0,143	Formulações farmacêuticas (comprimidos)
PAR, CAF e ORPH⁶⁵ (2013)	CV e SWV BDDE	PAR: 0,54 - 61 CAF: 0,78 - 35 ORPH: 0,78 - 35	PAR: 0,23 CAF: 0,096 ORPH: 0,084	Formulações farmacêuticas: Comprimidos e cápsulas

PAR, TRA e CAF⁸⁹ (2016)	CV e DPV PNBMGCE	PAR: 0,2 - 16,2 TRA: 1 - 310 CAF: 0,8 - 20	PAR: 0,08 TRA: 0,5 CAF: 0,1	Formas farmacêuticas: Comprimidos de Ultracet e Sinarest
ASA e CAF⁹⁰ (2016)	CV e DPV P4VP–MWCNT/GCE	ASA: 0,04 - 350 CAF: 2,0 - 200	ASA: $4,42 \times 10^{-3}$ CAF: $1,19 \times 10^{-3}$	Amostra farmacêutica: ASA e CF (Sigma-Aldrich, EUA)
CAF⁶⁶ (2018)	CV e DPV AT/Naf/GCE	0,1 - 4,0	0,0457	Formas farmacêuticas: cápsulas (brupanax)
CAF⁹¹ (2019)	CV, SWV e EIS ZMWCNTMCPE/SDS	10 - 100 100 - 500	0,075	Chá preto, café, Nescafé, Pepsi Cola, bebidas energéticas diluídas, comprimidos farmacêuticos e de Panadol
AA, APAP e CAF⁶⁷ (2019)	CV e DPV CoFe ₂ O ₄ /GCE	0,2 - 4,4	AA: 0,313 APAP: 0,267 CAF: 0,226	Amostras farmacêuticas: Acetab Extra, Flucoldstad, Pancelxim Extra, Hapacol Sac. 150 mg Kids, Doliprane,

				vitamina C 500MG/150MG, Eferalgan e Vitamina C, Bebidas: Number One, Sting max gold e Wake-up 247
CAF e PAR⁹² (2019)	CV e DPV GCE-M221-Fe ₃ O ₄	PAR: 50 - 2000 CAF: 50 - 900	PAR: 16 CAF: 23	Analgésicos
CAF⁹³ (2019)	CV, EIS, CA e DPV GORGCPE/SDS	8 - 800	0,153	Chá, café, Nescafé, refrigerante, energético e amostras farmacêuticas (pastilhas de Panadol Extra)
PAR, TRIPT e CAF⁹⁴ (2022)	CV e DPV SnSe/TiO ₂ @GO-GCE	PAR: 0,0089 - 410 TRIPT: 0,0136 - 87,66 CAF: 0,0160 - 355	PAR: 3,0 x 10 ⁻³ TRIPT: 5,3 x 10 ⁻³ CAF: 6,5 x 10 ⁻³	Soro sanguíneo, formulações farmacêuticas e bebidas

APAP: Acetaminofeno; **ASA:** Aspirina; **CAF:** Cafeína; **CV:** Voltametria Cíclica; **EIS:** Espectroscopia de Impedância Eletroquímica; **CC:** Cronocoulometria; **ISSM-CNT-PE:** Eletrodo de Pasta de Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas Modificada por Surfactante In Situ; **AAS:** Ácido Acetilsalicílico; **DPV:** Voltametria de Pulso Diferencial; **BDD:** Eletrodo de Diamante Dopado com Boro; **SWV:** Voltametria de Onda Quadrada; **PAR:** Paracetamol; **ORPH:** Orfenadrina; **BDDE:** Eletrodo de Diamante Dopado com Boro Pré-Tratado Catodicamente; **TRA:** Tramadol; **PNBMGCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado poly(azul do Nilo); **P4VP-MWCNT/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com um Filme Composto de poly(4-vinilpiridina) e Nanotubos de Carbono Multiparede; **AT/Naf/GCE:**

Eletrodo de Carbono Vítreo Revestido com Atapulgita/Nafion; **ZMWCNTMCPE/SDS**: Eletrodo de Pasta de Carbono Modificada com Zeólita Misturada com Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas; **AA**: Ácido Ascórbico; **CoFe₂O₄/GCE**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado por CoFe₂O₄; **GCE-M221-Fe₃O₄**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Membrana MIP e Nanopartículas Fe₃O₄; **GORGCE/SDS**: Sensor de Pasta de Carbono Modificado com Glutathione Reduzida de Óxido de Grafeno; **TRIPT**: Triptofano; **SnSe/TiO₂@GO-GCE**: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocomposto eletroativo ternário de SnSe/TiO₂@GO

Na Tabela 4 são apresentados artigos desenvolvidos entre o período de 2010-2022 em que foram utilizados métodos voltamétricos para detecção simultânea de cafeína e outros analitos em amostras farmacêuticas.

A CV foi aplicada em todos os trabalhos para a aquisição de dados eletroquímicos das espécies químicas e dos eletrodos de trabalho empregados nas análises. Entre os trabalhos reunidos, a DPV foi a técnica mais aplicada para essa categoria de amostras (oito dos doze artigos), sendo que seus limites de detecção variaram entre $1,9 \times 10^{-3}$ e $23 \mu\text{mol L}^{-1}$. Seguido da SWV, que foi aplicada em três dos doze artigos reunidos e apresentou limites de detecção que variaram entre $7,5 \times 10^{-2}$ e $0,143 \mu\text{mol L}^{-1}$ e, por fim, a DP-AdSV aplicada em um dos doze artigos e que apresentou um limite de detecção de $8,3 \times 10^{-2} \mu\text{mol L}^{-1}$.

Sanghavi e colaboradores⁸⁷ realizaram a determinação individual e simultânea de paracetamol, aspirina e cafeína por meio de um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono de paredes múltiplas modificado por surfactante in situ e aplicando CV, EIS, CC e DP-AdSV. Os efeitos dos nanotubos de carbono e dos diferentes surfactantes nos picos de oxidação dos analitos foram investigados e observou-se que, entre todos os surfactantes não iônicos, o TX 100 apresentou a melhor resposta em termos de corrente de pico e que essa resposta era dependente da concentração de TX 100 e da natureza do eletrodo. A aplicação da CV implicou que a reação da cafeína acontece de forma irreversível, controlada e facilmente no eletrodo em questão e que as correntes de pico anódicas das três moléculas variaram linearmente com a velocidade de varredura na faixa de 100 mV s^{-1} para 3500 mV s^{-1} . Com a aplicação da DP-AdSV, observou-se que um aumento no tempo de acumulação (300 segundos) melhorou a sensibilidade da detecção e quantificação para todos os analitos, sendo que a saturação da superfície ocorreu em tempos de acumulação mais elevados.

Ghadimi e colaboradores⁹⁰ realizaram a determinação de aspirina e cafeína por meio de um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme composto de poly(4-vinilpiridina) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas. O comportamento eletroquímico foi investigado aplicando CV, que indicou que a reação do eletrodo foi um típico processo limitante de difusão. O eletrólito de suporte utilizado foi o tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,4), o que garantiu uma melhoria de trinta vezes da corrente de pico anódica para a detecção de aspirina e uma melhoria significativa para determinação de cafeína. A DPV dos analitos na presença de paracetamol mostrou que a aspirina pode ser dosada em amostras biológicas livres da interferência de cafeína e paracetamol. O eletrodo fabricado apresentou boa estabilidade, repetitividade e recuperação em amostras farmacêuticas e biológicas.

Mulyasuryani e colaboradores⁹² utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com membrana MIP e nanopartículas de Fe_3O_4 para detectar paracetamol e cafeína simultaneamente por meio da DPV. A modificação da superfície do eletrodo utilizando a membrana MIP na proporção de mistura 2:2:1 contribuiu para aumentar a sua sensibilidade e aplicabilidade. Esse experimento foi realizado utilizando dois tipos de eletrólitos de suporte, uma solução tampão BR (pH 2) e uma solução tampão PB (pH 2). Sendo que na solução tampão PB, a corrente de pico da cafeína é ligeiramente maior do que na solução BR e o

potencial de pico foi deslocado em uma direção positiva. O aumento do valor do pH demonstrou deslocar o potencial de oxidação para uma direção mais negativa, tanto para o acetaminofeno quanto para a cafeína. Portanto, a utilização de um eletrólito de suporte (solução tampão PB) com pH 2,0 aumentou a eficiência do sensor, promovendo sua aplicabilidade na determinação dos analitos em amostras de analgésicos.

Azab e colaboradores⁹¹ realizaram a detecção de cafeína utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificada com zeólita misturada com nanotubos de carbono de paredes múltiplas, por meio da CV e da SWV. A modificação da superfície do eletrodo garantiu excelentes propriedades eletrocatalíticas, com uma ampla faixa linear e sem interferência. Foi observado, também, que o mecanismo de reação do eletrodo é irreversível e dependente do pH do eletrólito suporte.

Tabela 5. Limites de detecção (LD) e faixa linear para cafeína e outros analitos em amostras **biológicas** e os métodos voltamétricos com os respectivos eletrodos de trabalho utilizados nas determinações

Analitos (Ano)	Método Voltamétrico / Eletrodo de Trabalho	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras
AAS, PAR e CAF ⁹⁵ (2013)	CV e SWV MPGS	1,0 x 10 ⁻⁴ - 0,12	AAS: 9,3 x 10 ⁻⁵ PAR: 5,7 x 10 ⁻⁵ CAF: 6,4 x 10 ⁻⁵	Urina humana
APAP, CAF e AA ⁹⁶ (2015)	CV e DPV CuO–Gr/CPE	0,025 - 5,3	APAP: 0,008 CAF: 0,010 AA: 0,011	Soro sanguíneo, urina e amostras farmacêuticas
APAP, TEOF e CAF ⁹⁷ (2015)	CV e DPV poly(AV3B)/MWCNT-GR/GCE	APAP: 0,2 ~ 100 TEOF: 0,5 ~ 120 CAF: 1,0 ~ 120	APAP: 0,01 TEOF: 0,02 CAF: 0,10	Soro humano enriquecido
PAR, COD e CAF ⁹⁸ (2016)	CV e SWV DLC:VAMWCNT	PAR: 0,997 - 36,7 COD: 0,997 - 36,7 CAF: 9,97 - 91,7	PAR: 0,334 COD: 0,157 CAF: 0,367	Urina e Soro humano
XANT, TEOF e CAF ⁶⁸ (2017)	CV e SWV pPABSA/GCE	XANT: 0,9 - 100 TEOF e CAF: 10 - 100	XANT: 0,35 TEOF: 7,02 CAF: 11,95	Formulações farmacêuticas (comprimidos), chás comerciais, urina e soro sanguíneo
TEOF e CAF ⁹⁹ (2017)	CV e SWV P(LeAsp)/f-MWCNTs/GCE	CAF: 1,0 - 150 TEOF: 0,1 - 50	CAF: 0,28 TEOF: 0,02	Chá verde, soro sanguíneo e formulação farmacêutica de amostras extras de Panadol
COD, APAP e CAF ¹⁰⁰	CV e DPV	APAP:	APAP: 0,051	Soro humano

(2018)	CeO ₂ -SPEs	0,09 - 7,0 16,4 - 1160 COD: 0,09 - 50 120 - 500 CAF: 5 - 286 387 - 916	COD: 0,043 CAF: 2,4	
PAR, TRIPT e CAF¹⁰¹ (2019)	CV e DPV GC-SnS/TiO ₂ @GO	PAR: 9,8 x 10 ⁻³ - 280 TRIPT: 1,33 x 10 ⁻² - 157 CAF: 1,66 x 10 ⁻² - 333	PAR: 7,5 x 10 ⁻³ TRIPT: 7,8 x 10 ⁻³ CAF: 4,4 x 10 ⁻³	Amostra 1: Soro humano Amostra 2: Dolopar, L-triptofano Amostra 3: Dolo-650, L-triptofano e Red Bull
EST e CAF¹⁰² (2019)	CV, SWV, FE-SEM, TEM e EIS AgNPs:ErGO/PG	EST: 0,001 - 175 CAF: 0,001 - 200	EST: 4,6 x 10 ⁻⁵ CAF: 5,4 x 10 ⁻⁴	Amostras de soro humano e urina de cinco mulheres em idade reprodutiva
CAF¹⁰³ (2022)	CV e DPV ZnO/GO-PFA	5 - 155	0,15	Urina

AAS: Ácido Acetilsalicílico; **PAR:** Paracetamol; **CAF:** Cafeína; **CV:** Voltametria Cíclica; **SWV:** Voltametria de Onda Quadrada; **MPGS:** Sensor de Grafite Piroclítico Modificado com poly-1,5-diaminonaftaleno (p-DAN); **APAP:** Acetaminofeno; **AA:** Ácido Ascórbico; **DPV:** Voltametria de Pulso Diferencial; **CuO-Gr/CPE:** Eletrodo Modificado com Nanocomposto Baseado em Nanopartículas de CuO/Nanofolhas de Grafeno; **TEOF:** Teofilina; **poly(AV3B)/MWCNT-GR/GCE:** Eletrodo de Disco de Carbono Vítreo Modificado com poly(Alizarin Violet 3B), Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas e Grafeno; **COD:** Codeína; **DLC:VAMWCNT:** Eletrodo Poroso Modificado com Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas Alinhados Verticalmente e Filmes de Carbono tipo Diamante; **XANT:** Xantina; **pPABSA/GCE:** Eletrodo

de Carbono Vítreo Modificado com um Filme Eletropolimerizado de Ácido Paramino Benzeno Sulfônico; **P(LeAsp)/f-MWCNTs/GCE**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com poly(ácido L-aspartico)/Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas; **CeO₂-SPES**: Eletrodo Impresso em Tela Modificados com Nanopartículas de Óxido de Cério; **TRIPT**: Triptofano; **GC-SnS/TiO₂@GO**: Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado de Compósito SnS/TiO₂@GO; **EST**: Estradiol; **TEM**: Microscopia Eletrônica de Transmissão; **FE-SEM**: Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo; **AgNPs:ErGO/PG**: Biossensor Voltamétrico Sensível Baseado em Nanopartículas de Prata (AgNPs), Óxido de Grafeno Eletroquimicamente Reduzido (ErGO) e Nanocomposto de Grafite Pirolítico Modificado; **ZnO/GO-PFA**: Sensor Eletroquímico Baseado em Nanocompósito de Amina de Fenol Formaldeído Revestido de ZnO/GO

Na Tabela 5 são apresentados artigos desenvolvidos entre o período de 2013-2022 em que foram utilizados métodos voltamétricos para a detecção simultânea de cafeína e outros analitos em amostras biológicas.

A CV foi aplicada em todos os trabalhos para a aquisição de dados eletroquímicos dos compostos e dos eletrodos de trabalho empregados nas análises. A SWV foi aplicada em cinco dos dez artigos reunidos para essa categoria, sendo que os limites de detecção variaram entre $6,4 \times 10^{-5}$ e $11,95 \mu\text{mol L}^{-1}$. Enquanto a DPV foi aplicada nos outros cinco artigos restantes e tiveram seus limites de detecção variando entre $4,4 \times 10^{-3}$ e $2,4 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Goyal e colaboradores⁹⁵ aplicaram um sensor de grafite pirolítico modificado com poly-1,5-diaminonaftaleno (p-DAN) por meio de SWV para determinação simultânea de ácido acetilsalicílico, paracetamol e cafeína em amostras de urina humana. A SWV foi bastante útil para esse tipo de análise por ser mais sensível e apresentar vantagens bem estabelecidas, como discriminação da corrente de fundo e baixo limite de detecção. A eletrooxidação dos analitos ocorreu em picos bem definidos em pH 7,2 e a modificação do eletrodo demonstrou proporcionar correntes de pico significativamente maiores e limites de detecção menores em comparação com o eletrodo não modificado, garantindo sua repetitividade. Verificou-se, também, que as correntes de pico para os três compostos aumentaram linearmente com o aumento de sua concentração na faixa de 0,1–120 n mol L⁻¹.

Murugan e colaboradores¹⁰¹ realizaram determinação de paracetamol, triptofano e cafeína utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com compósito SnS/TiO₂@GO por meio de CV e DPV em 0,1 mol L⁻¹ tampão fosfato como eletrólito suporte. A modificação do eletrodo promoveu alta atividade para a oxidação, com diminuição significativa no sobrepotencial devido à grande superfície, baixo limite de detecção, ampla faixa linear e excelente repetitividade, seletividade e estabilidade. Os potenciais de pico observados foram deslocados para negativo com o aumento do pH, sendo que a resposta máxima foi observada em pH 7,0 do eletrólito suporte. Foi avaliada a interferência de sais inorgânicos como NaCl, acetato de sódio e KCl, e substâncias orgânicas como ácido úrico e cisteína. Ocorreu um leve aumento na corrente de pico da cafeína, mas nenhuma alteração no potencial de oxidação das espécies químicas foi observada independentemente dos sais inorgânicos e substâncias orgânicas. Portanto, os eletrodos são verificados como muito seletivos para a oxidação.

Tabela 6. Limites de detecção (LD) e faixa linear para cafeína e outros analitos em amostras **ambientais** e os métodos voltamétricos com os respectivos eletrodos de trabalho utilizados nas determinações

Analitos (Ano)	Método Voltamétrico / Eletrodo de Trabalho	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amostras
CAF¹⁰⁴ (2017)	CV e DPV BiF/SPCE	1,0 - 20	0,027	Água ambiental sem pré-tratamento
CAF¹⁰⁵ (2017)	CV e DPV ZnO/MWCNT/GCE	0,12 - 25	$9,9 \times 10^{-3}$	Efluentes de águas residuais
PAR, IBUP e CAF¹⁰⁶ (2019)	CV e DPV SPCE, SPCNTE, SPCNFE e SPGPHE	PAR: 1,98 - 33,7 IBUP: 19,3 - 114 CAF: 6,18 - 32,9	PAR: 0,198 IBUP: 2,9 CAF: 0,257	Água da torneira enriquecida e águas residuais hospitalares

CAF: Cafeína; **CV:** Voltametria Cíclica; **DPV:** Voltametria de Pulso Diferencial; **BiF/SPCE:** Eletrodo de Carbono Impresso em Tela de Filme de Bismuto; **ZnO/MWCNT/GCE:** Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas Incorporado com Nanopartículas de Óxido de Zinco; **PAR:** Paracetamol; **IBUP:** Ibuprofeno; **SPCE:** Eletrodo Impresso em Tela de Carbono; **SPCNTE:** Eletrodo Impresso em Tela Modificado com Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla; **SPCNFE:** Eletrodo Impresso em Tela Modificado com Nanofibras de Carbono; **SPGPHE:** Eletrodo Impresso em Tela Modificado com Grafeno

Na Tabela 6 são apresentados artigos desenvolvidos entre o período de 2017-2019 em que foram utilizados métodos voltamétricos para detecção simultânea de cafeína e outros tipos de analitos em amostras ambientais.

A CV, foi aplicada em todos os trabalhos para a aquisição de dados eletroquímicos qualitativos dos compostos e eletrodos de trabalho empregados nas análises, bem como a termodinâmica dos processos de oxidação/redução de compostos eletroquimicamente ativos, cinética de reações envolvendo transferência de elétrons. A DPV foi aplicada em todos os três trabalhos reunidos para essa categoria de amostra, sendo que os limites de detecção variaram entre $9,9 \times 10^{-3}$ e $0,257 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Tysczuk-Rotko e colaboradores¹⁰⁴ aplicaram a CV e a DPV na determinação de cafeína em água sem pré-tratamento utilizando um eletrodo de carbono impresso em tela de filme de bismuto (BiF/SPCE). Para garantir melhores correntes de pico de cafeína, o ácido sulfúrico na concentração de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizado como eletrólito de suporte. A modificação da superfície do eletrodo garantiu melhores picos de oxidação, provavelmente devido ao aumento da área ativa da superfície do eletrodo. Foi avaliada a interferências de íons, sendo que os mais estudados possuem interferência desprezível. Entretanto, a adição de Fe^{3+} e Cu^{2+} na concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ induziu uma diminuição do sinal da cafeína para 77,3% e 86,6%, respectivamente. Além disso, a influência dos surfactantes na corrente de pico de cafeína foi investigada pela adição de Triton X-100, CTAB e SDS à solução estudada na faixa de 0 a $2,0 \text{ mg L}^{-1}$. Como resultado, observou-se que as adições de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Triton X-100 e SDS aumentaram a altura do sinal de redissolução de cafeína para 111,9 e 102,6% do seu valor original, enquanto a adição de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de CTAB diminuiu a altura do sinal de remoção de cafeína para 73,1% do seu valor original. Contudo, o sinal da cafeína foi bem definido, indicando que o uso do método voltamétrico proposto e do sensor BiF/SPCE permitiu a determinação de cafeína sem a necessidade de uma etapa de pré-tratamento da amostra em amostras de água ambiental contendo matéria orgânica.

Muzvidziwa e colaboradores¹⁰⁵ aplicaram a DPV na determinação de cafeína em amostras de efluentes de águas residuais utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas incorporado com nanopartículas de óxido de zinco. As propriedades eletroquímicas do eletrodo foram caracterizadas por CV, demonstrando que a modificação da superfície do eletrodo forneceu a maior corrente de pico anódico, menor resistência à transferência de elétrons e maior área eletroquímica quando comparado ao eletrodo sem modificação. Melhores picos de oxidação foram obtidos em pH 1,0 do eletrólito suporte ($0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HClO}_4$). A aplicação da DPV, demonstrou que a corrente de pico da cafeína aumentou linearmente com o aumento da concentração de cafeína e que baixos limites de detecção e uma simples preparação contribuem para sua repetitividade. Ao se avaliar a influência dos interferentes, observou-se que não ocorreu uma interferência significativa dos interferentes nos resultados da análise.

Conclusão

Técnicas voltamétricas podem ser alternativas para a determinação e quantificação de cafeína, como meio de garantia da segurança biológica. Como a cafeína está presente em concentrações muito baixas nas amostras, técnicas como a DPV e a SWV, apresentaram uma reprodutibilidade/repetitividade muito boa por apresentarem limites de detecção baixos, alta sensibilidade e seletividade. A utilização de eletrólitos de suporte com valores de pH mais ácidos, bem como a modificação da superfície do eletrodo, contribuíram para que as reações de oxidação da cafeína ocorressem mais facilmente e em uma área eletroativa maior do eletrodo e que fosse possível a aplicação desses sensores em análises específicas, com baixos limites de detecção. Além disso, essas modificações reduziram as interferências de outras espécies químicas e aumentaram os sinais voltamétricos, gerando voltamogramas com formatos que favorecem a quantificação. A aplicabilidade dessas técnicas mostrou-se favorável ao seu emprego na detecção e quantificação de cafeína em diferentes amostras.

Agradecimentos

Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB). O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES (Código de Financiamento 001 - Portal Periódicos).

Referências Bibliográficas

1. Nawrot, P.; Jordan, S.; Eastwood, J.; Rotstein, J.; Hugenholtz, A.; Feeley, M.; Effects of caffeine on human health. *Food Additives And Contaminants* **2003**, *20*, 1. [[Crossref](#)]
2. James, J.E.; Critical Review of Dietary Caffeine and Blood Pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosomatic Medicine* **2004**, *66*, 63. [[Crossref](#)]
3. Juan, C.A.; Julio, B.; Clinically Significant Pharmacokinetic Interactions Between Dietary Caffeine and Medications. *Clinical Pharmacokinetics* **2000**, *39*, 127. [[Crossref](#)]
4. Harland, B. F.; Caffeine and nutrition. *Nutrition* **2000**, *16*, 522. [[Crossref](#)]
5. Rasheed, T.; Bilal, M.; Nabeel, F.; Adeel, M.; Iqbal, H. M. N.; Environmentally-related contaminants of high concern: potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environment International* **2019**, *122*, 52. [[Crossref](#)]
6. Taheran, M.; Naghdi, M.; Brar, S. K.; Verma, M.; Surampalli, R. Y.; Emerging contaminants: here today, there tomorrow. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* **2018**, *10*, 122. [[Crossref](#)]
7. Scholz, F.; Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *Chemtexts* **2015**, *1*, 1. [[Crossref](#)]
8. Dewick, P. M.; Em *Alkaloids*; Dewick, P. M.; Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach, 2009, cap. 6.
9. Ashihara, H.; Sano, H.; Crozier, A.; Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 841. [[Crossref](#)]
10. Atik, A.; Harding, R.; Matteo, R. D.; Kondos-Devicic, D.; Cheong, J.; Doyle, L. W.; Tolcos, M.; Caffeine for apnea of prematurity: effects on the developing brain. *Neurotoxicology* **2017**, *58*, 94. [[Crossref](#)]
11. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Em *Purinas*; Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Farmacologia, 2012, cap. 16.
12. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Em *Mediadores Químicos e Sistema Nervoso Autônomo*; Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Farmacologia, 2012, cap. 12.
13. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.. Em *Estimulantes do SNC e psicotomiméticos*; Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Farmacologia, 2012, cap. 47.
14. Aranda, J. V.; Beharry, K. D.; Pharmacokinetics, pharmacodynamics and metabolism of caffeine in newborns. *Seminars In Fetal And Neonatal Medicine*, **2020**, *25*, 101183. [[Crossref](#)]
15. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Em *Transmissão Colinérgica*; Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Farmacologia, 2012, cap. 13.
16. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Em *Transmissão Noradrenérgica*; Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Farmacologia, 2012, cap. 14.

17. Chen, JF.; Choi, DS.; Cunha, R. A.; Striatopallidal adenosine A2A receptor modulation of goal-directed behavior: homeostatic control with cognitive flexibility. *Neuropharmacology* **2023**, 226, 109421. [[Crossref](#)]
18. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Em *Mecanismos de ação dos fármacos: aspectos celulares - excitação, contração e secreção*; Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; Farmacologia, 2012, cap. 4.
19. Smits, P.; Temme, L.; Thien, T.; The cardiovascular interaction between caffeine and nicotine in humans. *Clinical Pharmacology And Therapeutics* **1993**, 54, 194. [[Crossref](#)]
20. Altimari, L. R.; Cyrino, E. S.; Zucas, S. M.; Okano, A. H.; Burini, R. C.; Caffeine: nutritional ergogenic in Sports. *Rev. Bras. Ciên. e Mov.* **2001**, 3, 57. [[Link](#)]
21. Willson, C.; The clinical toxicology of caffeine: a review and case study. *Toxicology Reports* **2018**, 5, 1140. [[Crossref](#)]
22. Massey, L. K.; Wise, K. J.; Impact of gender and age on urinary water and mineral excretion responses to acute caffeine doses. *Nutrition Research* **1992**, 12, 605. [[Crossref](#)]
23. Cavalcante, J. W. S.; Santos Junior, P. R. M.; Menezes, M. G. F.; Marques, H. O.; Cavalcante, L. P.; Pacheco, W. S.; Influência da Cafeína no Comportamento da Pressão Arterial e da Agregação Plaquetária. *Arq Bras Cardiol, Manaus* **2000**, 75, 97. [[Link](#)]
24. López-Cruz, L.; San-Miguel, N.; Bayarri, P.; Baqi, Y.; Müller, C. E.; Salamone, J. D.; Correa, M.; Ethanol and Caffeine Effects on Social Interaction and Recognition in Mice: involvement of adenosine A_{2a} and A₁ receptors. *Frontiers In Behavioral Neuroscience* **2016**, 10, 1. [[Crossref](#)]
25. Hartley, T. R.; Sung, B. H.; Pincomb, G. A.; Whitsett, T. L.; Wilson, M. F.; Lovallo, W. R.; Hypertension Risk Status and Effect of Caffeine on Blood Pressure. *Hypertension* **2000**, 36, 137. [[Crossref](#)]
26. Glover, F. E.; Caudle, W. M.; Giudice, F. D.; Belladelli, F.; Mulloy, E.; Lawal, E.; Eisenberg, M. L.; The association between caffeine intake and testosterone: NHANES 2013-2014. *Nutrition Journal* **2022**, 21, 21. [[Crossref](#)]
27. Schliep, K. C.; Schisterman, E. F.; Wactawski-Wende, J.; Perkins, N. J.; Radin, R. G.; Zarek, S. M.; Mitchell, E. M.; A Sjaarda, L.; Mumford, S. L.; Serum caffeine and paraxanthine concentrations and menstrual cycle function: correlations with beverage intakes and associations with race, reproductive hormones, and anovulation in the biocycle study. *The American Journal Of Clinical Nutrition* **2016**, 104, 155. [[Crossref](#)]
28. Carrillo, J. A.; Benitez, J.; Clinically Significant Pharmacokinetic Interactions Between Dietary Caffeine and Medications. *Clinical Pharmacokinetics* **2000**, 39, 127. [[Crossref](#)]
29. Musgrave, I. F.; Farrington, R. L.; Hoban, C.; Byard, R. W.; Caffeine toxicity in forensic practice: possible effects and under-appreciated sources. *Forensic Science, Medicine, And Pathology* **2016**, 12, 299. [[Crossref](#)]
30. Rossowska, M. J.; Nakamoto, T.; Effects of chronic caffeine feeding on the activities of oxygen free

radical defense enzymes in the growing rat heart and liver. *Experientia* **1994**, *50*, 465. [[Crossref](#)]

31. Laska, E. M.; Sunshine, A.; Zighelboim, I.; Roure, C.; Marrero, I.; Wanderung, J.; Olson, N.; Effect of caffeine on acetaminophen analgesia. *Clinical Pharmacology And Therapeutics* **1983**, *33*, 498. [[Crossref](#)]
32. Jaeschke, H.; McGill, M. R.; Ramachandran, A.; Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews* **2012**, *44*, 88. [[Crossref](#)]
33. Gonçalves, D. F.; Carvalho, N. R.; Leite, M. B.; Courtes, A. A.; Hartmann, D. D.; Stefanello, S. T.; Silva, I. K.; Franco, J. L.; Soares, F. A. A.; Corte, C. L. D.; Caffeine and acetaminophen association: effects on mitochondrial bioenergetics. *Life Sciences* **2018**, *193*, 234. [[Crossref](#)]
34. Ide, A. H.; Cardoso, F. D.; Santos, M. M.; Kramer, R. D.; Azevedo, J. C. R.; Mizukawa, A.; Utilização da Cafeína como Indicador de Contaminação por Esgotos Domésticos na Bacia do Alto Iguaçu. *Rbrh – Revista Brasileira de Recursos Hídricos* **2013**, *18*, 201. [[Link](#)]
35. Bernegossi, A. C.; Ogura, A. P.; Castro, G. B.; Felipe, M. C.; Silva, M. R. L.; Corbi, J. J.; Contaminação Emergente de Cafeína em Ambientes Tropicais: Aspectos Ecotoxicológicos Aplicados à Gestão dos Recursos Hídricos. *Gestão Ambiental nos Trópicos Úmidos: Impactos das Ações Humanas nos Recursos Naturais das Fronteiras Amazônicas* **2021**, 277. [[Crossref](#)]
36. Montagner, C. C.; Vidal, C.; Acayaba, R.; Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Química Nova* **2017**, *40*, 1094. [[Crossref](#)]
37. Astuti, M. P.; Notodarmojo, S.; Priadi, C. R.; Padhye, L. P.; Contaminants of emerging concerns (CECs) in a municipal wastewater treatment plant in Indonesia. *Environmental Science And Pollution Research* **2022**, *30*, 21512. [[Crossref](#)]
38. Montagner, C. C.; Vidal, C.; Sodré, F. F.; Pescara, I. C.; Jardim, W. F.; Em *A cafeína no ambiente*; Canela, M. C.; Jardim, W. F.; Sodr , F. F.; Grassi, M. T.; Cafeína em águas de abastecimento p blico no Brasil. Editora Cubo, Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Anal ticas Avan adas – INCTAA, 2014, cap. 1.
39. Huerta-Fontela, M.; Galceran, M. T.; Ventura, F.; Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant. *Environmental Science & Technology* **2008**, *42*, 6809. [[Crossref](#)]
40. Chen, YH.; Huang, YH.; Wen, CC.; Wang, YH.; Chen, WL.; Chen, LC.; Tsay, HJ.; Movement disorder and neuromuscular change in zebrafish embryos after exposure to caffeine. *Neurotoxicology And Teratology* **2008**, *30*, 440. [[Crossref](#)]
41. Maria, C. A. B.; Moreira, R. F. A.; Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Química Nova* **2007**, *30*, 99. [[Crossref](#)]
42. Miles, J. W.; Englis, D. T.; Analysis of Mixtures of Theobromine and Caffeine by Spectrophotometric

- Method. *Journal Of The American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)* **1954**, 43, 589. [\[Crossref\]](#)
43. Tuomi, T.; Johnsson, T.; Reijula, K.; Analysis of Nicotine, 3-Hydroxycotinine, Cotinine, and Caffeine in Urine of Passive Smokers by HPLC-Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry* **1999**, 45, 2164. [\[Crossref\]](#)
44. Thormann, W.; Minger, A.; Molteni, S.; Caslavská, J.; Gebauer, P.; Determination of substituted purines in body fluids by micellar electrokinetic capillary chromatography with direct sample injection. *Journal Of Chromatography A* **1992**, 593, 275. [\[Crossref\]](#)
45. Levêque, D.; Gallion-Renault, C.; Monteil, H.; Jehl, F.; Capillary electrophoresis for pharmacokinetic studies. *Journal Of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **1997**, 697, 67. [\[Crossref\]](#)
46. Silva, W.; Silva, L. A.; Muñoz, R.; Richter, E.; Determinação Rápida e Simultânea de Propifenazona, Paracetamol e Cafeína Utilizando Análise por Injeção em Batelada com Detecção Amperométrica. *Química Nova* **2017**, 40, 1180. [\[Crossref\]](#)
47. Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; *Principles of Instrumental Analysis*, 7a. ed., Boston: Cengage Learning, 2016.
48. Aleixo, L. M.; Voltametria: conceitos e técnicas. *Revista Chemkeys* **2018**, 3, 1. [\[Crossref\]](#)
49. Silva, J. G.; Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, 2012. [\[Link\]](#)
50. Trovo, R. S.; Dissertação de Doutorado, Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2017. [\[Link\]](#)
51. Tefera, M.; Geto, A.; Tessema, M.; Admassie, S.; Simultaneous determination of caffeine and paracetamol by square wave voltammetry at poly(4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode. *Food Chemistry* **2016**, 210, 156. [\[Crossref\]](#)
52. Hansen, B.; Dryhurst, G.; Electrochemical oxidation of theobromine and caffeine at the pyrolytic graphite electrode. *Journal Of Electroanalytical Chemistry And Interfacial Electrochemistry* **1971**, 30, 407. [\[Crossref\]](#)
53. Braga, O. C.; Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual de Santa Catarina, 2006. [\[Link\]](#)
54. Spătaru, N.; Sarada, B. V.; Tryk, D. A.; Fujishima, A.; Anodic Voltammetry of Xanthine, Theophylline, Theobromine and Caffeine at Conductive Diamond Electrodes and Its Analytical Application. *Electroanalysis* **2002**, 14, 721. [\[Crossref\]](#)
55. Telo, J. P.; Vieira, A. J. S. C.; Mechanism of free radical oxidation of caffeine in aqueous solution. *Journal Of The Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1997**, 1755. [\[Crossref\]](#)
56. Martínez-Huitle, C.A.; Fernandes, N. S.; Ferro, S.; Battisti, A.; Quiroz, M.A.; Fabrication and application of Nafion®-modified boron-doped diamond electrode as sensor for detecting caffeine. *Diamond And Related Materials* **2010**, 19, 1188. [\[Crossref\]](#)
57. Sun, JY.; Huang, KJ.; Wei, SY.; Wu, ZW.; Ren, FP.; A graphene-based electrochemical sensor for sensitive determination of caffeine. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces* **2011**, 84, 421. [\[Crossref\]](#)

58. Amare, M.; Admassie, S.; Polymer modified glassy carbon electrode for the electrochemical determination of caffeine in coffee. *Talanta* **2012**, *93*, 122. [[Crossref](#)]
59. Tefera, M.; Geto, A.; Tessema, M.; Admassie, S.; Simultaneous determination of caffeine and paracetamol by square wave voltammetry at poly(4-amino-3-hydroxynaphthalene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode. *Food Chemistry* **2016**, *210*, 156. [[Crossref](#)]
60. Ali, H. S.; Abdullah, A. A.; Pđnar, P. T.; Yardđm, Y.; řentürk, Z.; Simultaneous voltammetric determination of vanillin and caffeine in food products using an anodically pretreated boron-doped diamond electrode: its comparison with hplc-dad. *Talanta* **2017**, *170*, 384. [[Crossref](#)]
61. Wang, Y.; Ding, Y.; Li, L.; Hu, P.; Nitrogen-doped carbon nanotubes decorated poly (L-Cysteine) as a novel, ultrasensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of theophylline and caffeine. *Talanta* **2018**, *178*, 449. [[Crossref](#)]
62. Alpar, N.; Yardđm, Y.; řentürk, Z.; Selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in foods and beverages by adsorptive stripping voltammetry using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Sensors And Actuators B: Chemical* **2018**, *257*, 398. [[Crossref](#)]
63. Hernandez-Aldave, S.; Tarat, A.; Mcgettrick, J. D.; Bertoncello, P.; Voltammetric Detection of Caffeine in Beverages at Nafion/Graphite Nanoplatelets Layer-by-Layer Films. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 221. [[Crossref](#)]
64. Tadesse, Y.; Tadesse, A.; Saini, R. C.; Pal, R.; Cyclic Voltammetric Investigation of Caffeine at Anthraquinone Modified Carbon Paste Electrode. *International Journal Of Electrochemistry* **2013**, *2013*, 1. [[Crossref](#)]
65. Eisele, A. P. P.; Clausen, D. N.; Tarley, C. R. T.; Dall'antonia, L. H.; Sartori, E. R.; Simultaneous Square-Wave Voltammetric Determination of Paracetamol, Caffeine and Orphenadrine in Pharmaceutical Formulations Using a Cathodically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis* **2013**, *25*, 1734. [[Crossref](#)]
66. Tajeu, K. Y.; Ymele, E.; Zambou jiokeng, S. L.; Tonle, I. K.; Electrochemical Sensor for Caffeine Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with an Attapulgit/nafion Film. *Electroanalysis* **2018**, *31*, 350. [[Crossref](#)]
67. Thu, P. T. K.; Trinh, N. D.; Hoan, N. T. V.; Du, D. X.; Mau, T. X.; Trung, V. H.; Phong, N. H.; Toan, T. T. T.; Khieu, D. Q.; Synthesis of cobalt ferrite and simultaneous determination of ascorbic acid, acetaminophen and caffeine by voltammetric method using cobalt ferrite modified electrode. *Journal Of Materials Science: Materials in Electronics* **2019**, *30*, 17245. [[Crossref](#)]
68. Jesny, S.; Girish kumar, K.; Non-enzymatic Electrochemical Sensor for the Simultaneous Determination of Xanthine, its Methyl Derivatives Theophylline and Caffeine as well as its Metabolite Uric Acid. *Electroanalysis* **2017**, *29*, 1828. [[Crossref](#)]

69. Zhao, F.; Wang, F.; Zhao, W.; Zhou, J.; Liu, Y.; Zou, L.; Ye, B.; Voltammetric sensor for caffeine based on a glassy carbon electrode modified with Nafion and graphene oxide. *Microchimica Acta* **2011**, *174*, 383. [[Crossref](#)]
70. Gupta, V. K.; Jain, A. K.; Shoor, S. K.; Multiwall carbon nanotube modified glassy carbon electrode as voltammetric sensor for the simultaneous determination of ascorbic acid and caffeine. *Electrochimica Acta* **2013**, *93*, 248. [[Crossref](#)].
71. Yardımcı, Y.; Keskin, E.; Şentürk, Z.; Voltammetric determination of mixtures of caffeine and chlorogenic acid in beverage samples using a boron-doped diamond electrode. *Talanta* **2013**, *116*, 1010. [[Crossref](#)]
72. Sadok, I.; Tyszczyk-Rotko, K.; Nosal-Wiercińska, A.; Bismuth particles Nafion covered boron-doped diamond electrode for simultaneous and individual voltammetric assays of paracetamol and caffeine. *Sensors And Actuators B: Chemical* **2016**, *235*, 263. [[Crossref](#)]
73. Amare, M.; Aklog, S.; Electrochemical Determination of Caffeine Content in Ethiopian Coffee Samples Using Lignin Modified Glassy Carbon Electrode. *Journal Of Analytical Methods In Chemistry* **2017**, *2017*, 1. [[Crossref](#)]
74. Zhang, Y.; Electrochemical Determination of Caffeine in Oolong Tea Based on Polyelectrolyte Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotube. *International Journal Of Electrochemical Science* **2017**, 2552. [[Crossref](#)]
75. Jagadish, R.; Yellappa, S.; Mahanthappa, M.; Chandrasekhar, K. B.; Zinc Oxide Nanoparticle-modified Glassy Carbon Electrode as a Highly Sensitive Electrochemical Sensor for the Detection of Caffeine. *Journal Of The Chinese Chemical Society* **2017**, *64*, 813. [[Crossref](#)]
76. Ören, T.; Andık, Ü.; Voltammetric determination of caffeine by using gold nanoparticle-glassy carbon paste composite electrode. *Measurement* **2017**, *106*, 26. [[Crossref](#)]
77. Mukdasai, K.; The Fabrication of in Situ Triton X-100 on Multi-Walled Carbon Nanotubes Modified Gold Electrode for Sensitive Determination of Caffeine. *International Journal Of Electrochemical Science* **2018**, *13*, 58. [[Crossref](#)]
78. Filik, H.; Avan, A. A.; Conducting polymer modified screen-printed carbon electrode coupled with magnetic solid phase microextraction for determination of caffeine. *Food Chemistry* **2018**, *242*, 301. [[Crossref](#)]
79. Redivo, L.; Stredanský, M.; Angelis, E.; Navarini, L.; Resmini, M.; Lvorc, L.; Bare carbon electrodes as simple and efficient sensors for the quantification of caffeine in commercial beverages. *Royal Society Open Science* **2018**, *5*, 172146. [[Crossref](#)]
80. Yiğit, A.; Alpar, N.; Yardımcı, Y.; Çelebi, M.; Şentürk, Z.; A Graphene-based Electrochemical Sensor for the Individual, Selective and Simultaneous Determination of Total Chlorogenic Acids, Vanillin and Caffeine in Food and Beverage Samples. *Electroanalysis* **2018**, *30*, 2011. [[Crossref](#)]

81. Furtado, L. A.; Gonçalves, M. C. O.; Inocêncio, C. V. M.; Pinto, E. M.; Martins, D. L.; Semaan, F. S.; Electrodeposition of 4-Benzenesulfonic Acid onto a Graphite-Epoxy Composite Electrode for the Enhanced Voltammetric Determination of Caffeine in Beverages. *Journal Of Analytical Methods In Chemistry* **2019**, 2019, 1. [[Crossref](#)]
82. Tyszczyk-Rotko, K.; Pietrzak, K.; Sasal, A.; Adsorptive stripping voltammetric method for the determination of caffeine at integrated three-electrode screen-printed sensor with carbon/carbon nanofibers working electrode. *Adsorption* **2019**, 25, 913. [[Crossref](#)]
83. Farag, A. S.; Pravcová, K.; Česlová, L.; Vytřas, K.; Sýs, M.; Simultaneous Determination of Caffeine and Pyridoxine in Energy Drinks using Differential Pulse Voltammetry at Glassy Carbon Electrode Modified with Nafion®. *Electroanalysis* **2019**, 31, 1494. [[Crossref](#)]
84. Qiao, J.; Zhang, L.; Gao, S.; Li, N.; Facile Fabrication of Graphene-Supported Pt Electrochemical Sensor for Determination of Caffeine. *Applied Biochemistry And Biotechnology* **2019**, 190, 529. [[Crossref](#)]
85. Fekry, A. M.; Shehata, M.; Azab, S. M.; Walcarius, A.; Voltammetric detection of caffeine in pharmacological and beverages samples based on simple nano- Co (II, III) oxide modified carbon paste electrode in aqueous and micellar media. *Sensors And Actuators B: Chemical* **2020**, 302, 127172. [[Crossref](#)]
86. Baroogh, B. H.; Avan, A. A.; Filik, H.; Yalçın, S.; Individual and Simultaneous Electrochemical Determination of Vanillin and Caffeine Using Nafion/Ethylenediamine Grafted Multi-walled Carbon Nanotubes Modified Boron-doped Diamond Electrode. *International Journal Of Electrochemical Science* **2022**, 17, 1. [[Crossref](#)]
87. Sanghavi, B. J.; Srivastava, A. K.; Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode. *Electrochimica Acta* **2010**, 55, 8638. [[Crossref](#)]
88. Faria, E. O.; Lopes junior, A. C. V.; Souto, D. E. P.; Leite, F. R. F.; Damos, F. S.; Cássia, S. L. R.; Santos, A. S.; Franco, D. L.; Santos, W. T. P.; Simultaneous Determination of Caffeine and Acetylsalicylic Acid in Pharmaceutical Formulations Using a Boron-Doped Diamond Film Electrode by Differential Pulse Voltammetry. *Electroanalysis* **2012**, 24, 1141. [[Crossref](#)]
89. Chitravathi, S.; Munichandraiah, N.; Voltammetric determination of paracetamol, tramadol and caffeine using poly(Nile blue) modified glassy carbon electrode. *Journal Of Electroanalytical Chemistry* **2016**, 764, 93. [[Crossref](#)]
90. Ghadimi, H.; Tehrani, M. A. R.; Basirun, W. J.; Aziz, N. J. A.; Mohamed, N.; Ghani, S. A.; Electrochemical determination of aspirin and caffeine at MWCNTs-poly-4-vinylpyridine composite modified electrode. *Journal Of The Taiwan Institute Of Chemical Engineers* **2016**, 65, 101. [[Crossref](#)]

91. Azab, S. M.; Shehata, M.; Fekry, A. M.; A novel electrochemical analysis of the legal psychoactive drug caffeine using a zeolite/MWCNT modified carbon paste sensor. *New Journal Of Chemistry* **2019**, *43*, 15359. [[Crossref](#)]
92. Mulyasuryani, A.; Tjahjanto, R.; Andawiyah, R.; Simultaneous Voltammetric Detection of Acetaminophen and Caffeine Base on Cassava Starch—Fe₃O₄ Nanoparticles Modified Glassy Carbon Electrode. *Chemosensors* **2019**, *7*, 49. [[Crossref](#)]
93. Shehata, M.; Azab, S. M.; Fekry, A. M.; May glutathione and graphene oxide enhance the electrochemical detection of caffeine on carbon paste sensor in aqueous and surfactant media for beverages analysis?. *Synthetic Metals* **2019**, *256*, 1. [[Crossref](#)]
94. Eagambaram, M.; Kumar, K.; Design of an Efficient Tin Selenide-Based Ternary Nanocomposite Electrode for Simultaneous Determination of Paracetamol, Tryptophan, and Caffeine. *Acs Omega* **2022**, *7*, 35486. [[Crossref](#)]
95. Goyal, R. N.; Rana, A. R. S.; Chasta, H.; Simultaneous Monitoring of Aspirin, Paracetamol and Caffeine in Human Urine at Poly-1,5-diaminonaphthalene Modified Pyrolytic Graphite Sensor. *Journal Of The Electrochemical Society* **2013**, *160*, 3014. [[Crossref](#)]
96. Khoshhesab, Z. M.; Simultaneous electrochemical determination of acetaminophen, caffeine and ascorbic acid using a new electrochemical sensor based on CuO–graphene nanocomposite. *Rsc Advances* **2015**, *5*, 95140. [[Crossref](#)]
97. Wang, Y.; Wu, T.; Bi, CY.; Simultaneous determination of acetaminophen, theophylline and caffeine using a glassy carbon disk electrode modified with a composite consisting of poly(Alizarin Violet 3B), multiwalled carbon nanotubes and graphene. *Microchimica Acta* **2015**, *183*, 731. [[Crossref](#)]
98. Silva, T. A.; Zanin, H.; Corat, E. J.; Fatibello-Filho, O.; Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol, Codeine and Caffeine on Diamond-like Carbon Porous Electrodes. *Electroanalysis* **2016**, *29*, 907. [[Crossref](#)]
99. Mekassa, B.; Tessema, M.; Chandravanshi, B. S.; Simultaneous determination of caffeine and theophylline using square wave voltammetry at poly(L -aspartic acid)/functionalized multi-walled carbon nanotubes composite modified electrode. *Sensing And Bio-Sensing Research* **2017**, *16*, 46. [[Crossref](#)]
100. Khairy, M.; Mahmoud, B. G.; Banks, C. E.; Simultaneous determination of codeine and its co-formulated drugs acetaminophen and caffeine by utilising cerium oxide nanoparticles modified screen-printed electrodes. *Sensors And Actuators B: Chemical* **2018**, *259*, 142. [[Crossref](#)]
101. Murugan, E.; Kumar, K.; Fabrication of SnS/TiO₂@GO Composite Coated Glassy Carbon Electrode for Concomitant Determination of Paracetamol, Tryptophan, and Caffeine in Pharmaceutical Formulations. *Analytical Chemistry* **2019**, *91*, 5667. [[Crossref](#)]

102. Raj, M.; Goyal, R. N.; Silver nanoparticles and electrochemically reduced graphene oxide nanocomposite based biosensor for determining the effect of caffeine on Estradiol release in women of child-bearing age. *Sensors And Actuators B: Chemical* **2019**, 284, 759. [[Crossref](#)]
103. Madhusudhana, A. M.; Mohana, K. N. S.; Hegde, M. B.; Swamy, N. K.; Shivamurthy, S. A.; Electrochemical sensor based on phenol formaldehyde amine polymer coated ZnO/GO nanocomposite: an innovative nano-framework for the determination of caffeine. *Diamond And Related Materials* **2022**, 130, 109531. [[Crossref](#)]
104. Tyszczyk-Rotko, K.; Szwagierek, A.; Green Electrochemical Sensor for Caffeine Determination in Environmental Water Samples: the bismuth film screen-printed carbon electrode. *Journal Of The Electrochemical Society* **2017**, 164, 342. [[Crossref](#)]
105. Muzvidziwa, T.; Moyo, M.; Okonkwo, J. O.; Shumba, M.; Nharingo, T.; Guyo, U.; Electrodeposition of zinc oxide nanoparticles on multiwalled carbon nanotube-modified electrode for determination of caffeine in wastewater effluent. *International Journal Of Environmental Analytical Chemistry* **2017**, 97, 623. [[Crossref](#)]
106. Serrano, N.; Castilla, Ò.; Ariño, C.; Diaz-Cruz, M.; Díaz-Cruz, J.; Commercial Screen-Printed Electrodes Based on Carbon Nanomaterials for a Fast and Cost-Effective Voltammetric Determination of Paracetamol, Ibuprofen and Caffeine in Water Samples. *Sensors* **2019**, 19, 4039. [[Crossref](#)]