



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA

Diogo Emanuel Felix dos Santos

**NANOPARTÍCULAS DE OURO ESTABILIZADAS NO EXTRATO DE BANANA
PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ÁCIDO CAFEICO**

Florianópolis
2024

Diogo Emanuel Felix dos Santos

**NANOPARTÍCULAS DE OURO ESTABILIZADAS NO EXTRATO DE BANANA
PARA A DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ÁCIDO CAFEICO**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Química Bacharelado do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Iolanda da Cruz Vieira
Coorientador: MSc. Luan Gabriel Baumgarten

Florianópolis

2024

Santos, Diogo Emanuel Felix dos

Nanopartículas de ouro estabilizadas no extrato de banana para a determinação voltamétrica de ácido cafeico / Diogo Emanuel Felix dos Santos ; orientadora, Iolanda da Cruz Vieira, coorientador, Luan Gabriel Baumgarten, 2024. 60 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Química - Bacharelado, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química - Bacharelado. 2. Síntese verde. 3. nanopartículas. 4. extrato da banana. 5. grafeno. I. Vieira, Iolanda da Cruz . II. Baumgarten, Luan Gabriel . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química - Bacharelado. IV. Título.

Diogo Emanuel Felix dos Santos

Nanopartículas de ouro estabilizadas no extrato de banana para a determinação voltamétrica de ácido cafeico

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso Bacharelado em Química

Florianópolis, 21 de Junho de 2024.

Insira neste espaço
a assinatura

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Insira neste espaço
a assinatura

Profa. Iolanda da Cruz Vieira, Dra.

Orientadora

Insira neste espaço
a assinatura

Luan Gabriel Baumgarten, Msc.

Coorientador

Insira neste espaço
a assinatura

Prof. Almir Spinelli, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço
a assinatura

Profa. Michele Stéfani Peters Enders, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelas oportunidades que me foram concedidas durante toda a minha vida acadêmica. A minha família, em especial aos meus pais, Rita e Francisco, e Auxiliadora e Manoel, que sempre me encorajaram a buscar a educação como uma ferramenta de formação de caráter e intelectual, e aos meus irmãos, por todo o apoio e suporte. Amo vocês!

Aos meus amigos Neném, Carla, Lucimara, Jessica, Marcelo, Diogenes, Alexandre e à minha irmã e melhor amiga, Islane Karolina, por sempre me apoiarem e compartilharem dos momentos vividos até aqui! Sou muito grato por ter vocês em minha vida.

À Sirley e sua família, por todo o carinho e acolhimento, além do incentivo constante em meu trajeto acadêmico.

À professora Iolanda, por quem tenho grande admiração, pela orientação, pela amizade, pelos conselhos e por todo o incentivo e confiança em mim para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador Luan, pela paciência, pelos ensinamentos, por acreditar em mim e me encorajar, pelos bons momentos e pela amizade. Você é incrível. Obrigado por tudo!

Ao João e Edinho, por todo apoio, pelos ensinamentos, pela paciência, pelos bons momentos e pela amizade. Vocês são incríveis, sou grato por ter tido a honra de ser coorientado por vocês. Obrigado por tudo, tenho grande carinho por vocês.

Aos amigos do LaBios, Larissa, Thomaz, Marie, Dudu, Nathi, Bruno, Gui, Lucas e Guinther, pelas risadas e por compartilhar tantos momentos durante a realização deste trabalho. Amo vocês.

Aos meus amigos que fiz durante a graduação, a turminha: Amandinha, Vinnie, Nati, Helena, Sthephany, Gui, Victor, Chantal, Yasmim, Gabi, Luísa, João e Paulo. Adorei compartilhar esses anos com vocês. Obrigado pelo apoio fundamental e por todos os momentos de estudo, além da descontração e risadas. Amo vocês!

Aos meus queridos professores que contribuíram e que, além de todos os ensinamentos compartilhados, sempre buscaram incentivar e orientar sobre as possibilidades e os caminhos a seguir.

À Universidade Federal de Santa Catarina e a todos os funcionários que fizeram parte do meu percurso acadêmico. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

“Transportai um punhado de terra todos os dias e fareis uma montanha.”

Confúcio

RESUMO

Ácido cafeico é um composto fenólico encontrado em diversos alimentos de consumo humano, tais como vegetais, frutas, vinhos, chás e café. Estudos têm demonstrado que o consumo desse composto está relacionado a muitos efeitos positivos na saúde humana. Além disso, o ácido cafeico contribui para o sabor e aroma do café. Neste estudo, um novo sensor eletroquímico foi desenvolvido à base do extrato da polpa de banana (*Musa sapientum*). O extrato serviu como agente redutor (polifenóis, polissacarídeos e flavonóides) e estabilizante para a síntese verde de nanopartículas de ouro. Imagens de microscopia eletrônica confirmaram a presença de nanopartículas de ouro com um diâmetro médio de $13,5 \pm 3,6$ nm sobre folhas de grafeno posteriormente adicionadas. O sensor eletroquímico foi desenvolvido depositando o nanocompósito na superfície de um eletrodo de carbono vítreo, que apresentou notável capacidade de resposta ao ácido cafeico. Estudos de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica caracterizaram eletroquimicamente o sensor proposto e seu desempenho em comparação com o eletrodo de carbono vítreo sem modificação. O ácido cafeico apresentou um comportamento eletroquímico reversível, controlado por difusão, registrando picos de oxidação e redução em +0,52 e +0,46 V vs. Ag/AgCl, respectivamente. Sob condições otimizadas, uma curva de calibração foi obtida em solução tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) com faixa linear de $0,05 - 10,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $0,016 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. O sensor foi eficaz na quantificação de ácido cafeico em amostras de café e os resultados foram comparados aos obtidos por espectrometria UV-vis.

Palavras-chave: Síntese verde; extrato da banana; nanopartículas; grafeno.

ABSTRACT

Caffeic acid is a phenolic compound found in various foods consumed by humans, such as vegetables, fruits, wines, teas, and coffee. Studies have shown that the consumption of this compound is associated with many positive health effects. Additionally, caffeic acid contributes to the flavor and aroma of coffee. In this study, a new electrochemical sensor was developed based on banana pulp extract (*Musa sapientum*). The extract served as a reducing agent (polyphenols, polysaccharides, and flavonoids) and stabilizer for the green synthesis of gold nanoparticles. Electron microscopy images confirmed the presence of gold nanoparticles with an average diameter of 13.5 ± 3.6 nm on subsequently added graphene sheets. The electrochemical sensor was developed by depositing the nanocomposite on the surface of a glassy carbon electrode, which showed remarkable response capability to caffeic acid. Cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy studies electrochemically characterized the proposed sensor and its performance compared to the unmodified glassy carbon electrode. Caffeic acid exhibited a reversible, diffusion-controlled electrochemical behavior, recording oxidation and reduction peaks at +0.52 and +0.46 V vs. Ag/AgCl, respectively. Under optimized conditions, a calibration curve was obtained in 0.1 mol L⁻¹ Britton-Robinson buffer (pH 2.0) with a linear range of 0.05 – 10.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and a detection limit of 0.016 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The sensor was effective in quantifying caffeic acid in coffee samples, and the results were compared to those obtained by UV-vis spectrometry.

Keywords: Green synthesis; banana extract; nanoparticles; graphene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do (A) 3,4-dihidro-2-fenil-2H-1-benzopirano (C6-C3-C6) e (B) ácido 2-hidroxibenzoico (C6-C1).	19
Figura 2. Estrutura química do ácido cafeico	19
Figura 3. Representação esquemática da síntese de nanopartículas metálicas a partir do uso de extratos vegetais como agente redutor e estabilizante e dispersante.	22
Figura 4. Estrutura química de alguns alótropos de carbono.	24
Figura 5. Representação das etapas da síntese verde de AuNPs utilizando extrato da polpa da banana.	29
Figura 6. (A) Espectro UV-vis da dispersão de AuNPs sintetizadas com HAuCl ₄ e extrato de banana e (B) Imagem de TEM da dispersão de Gr-AuNP-extB. (C) distribuição do tamanho das AuNPs.	33
Figura 7. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox [Fe(CN) ₆] ^{3-/4-} 1,0 mmol L ⁻¹ e KCl 0,1 mol L ⁻¹ para (a) GCE, (b) GCE modificado com AuNPs e 0,4 mg de grafeno e (c) GCE modificado com AuNPs 0,6 mg em 500 µL AuNPs.	35
Figura 8. Diagrama de Nyquist para diferentes eletrodos em K ₃ [Fe(CN) ₆]/K ₄ [Fe(CN) ₆] 5,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ : (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP-extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE, e (e) Gr-AuNP-extB/GCE. Inserido: modelo do circuito de Randles para os eletrodos, onde: R _s é a resistência da solução; R _{ct} é a resistência à transferência de carga, Z _w é a impedância de Warburg e C _{dl} é a capacitância da dupla camada elétrica.	36
Figura 9. Voltamogramas cíclicos para diferentes eletrodos na presença de AC 100 µmol L ⁻¹ em solução tampão B-R 0,1 mol L ⁻¹ (pH 2,0): (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP- extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE e (e) Gr-AuNP-extB/GCE, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Respostas de corrente utilizando os diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP- extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE e (e) Gr-AuNP-extB/GCE (n=3). Análise de variância um fator (<i>one-way</i> ANOVA) como teste de Tukey (n=3; **p<0,01 e *p<0,001).	37
Figura 10. (A) Voltamogramas cíclicos para AC 100,0 µmol L ⁻¹ empregando o eletrodo modificado Gr-AuNP-extB/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L ⁻¹ em diferentes valores de pH (2,0 a 7,0) ; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) variação de I _{pa} e I _{pc} para AC em função do pH e (C) deslocamento linear do potencial de pico com a variação do pH.	39
Figura 11. (A) Voltamogramas cíclicos para AC 100 µmol L ⁻¹ usando Gr-AuNP-extB/GCE em solução tampão B-R (0,1 mol L ⁻¹ ; pH 2,0) em diferentes velocidades de varredura (10 - 300 mV s ⁻¹). (B) log I vs. log ν	40

Figura 12. Esquema de reação de oxirredução da molécula de ácido cafeico no Gr-AuNP-extB/GCE	41
Figura 13. (A) Voltamogramas de AC $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando Gr-AuNP-extB/GCE, em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) para diferentes técnicas voltamétricas: (a) LSV ($E_{\text{pulso}} = 0,244 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 4,88 \text{ ms}$), (b) DPV ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 100,0 \text{ ms}$) e (c) SWV ($a = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s: 1 \text{ mV}$). Em (B) Gráfico de barras das correntes de pico para as diferentes técnicas avaliadas.....	42
Figura 14. À esquerda, são apresentados os voltamogramas de onda quadrada com a variação dos parâmetros experimentais. À direita, é mostrada a dependência da corrente resultante com a variação da amplitude (A e B), frequência (C e D), e do incremento de potencial (E e F)...	43
Figura 15. (A) Voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de ácido cafeico usando o Gr-AuNP-extB/GCE: (a) 0,05; (b) 0,1; (c) 0,5; (d) 1,0; (e) 2,0; (f) 4,0; (g) 6,0; (h) 8,0; (i) $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0). Em (B) Curva de calibração ($n = 3$).....	45
Figura 16. (A) Estudos de possíveis interferentes para AC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} e PO_4^{3-} $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Estudos de interferentes para AC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de glicose, sacarose, ácido cítrico, ácido ferúlico e cafeína $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$	48
Figura 17. Medidas obtidas por SWV para AC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o sensor Gr-AuNP-extB/GCE no estudo de repetibilidade (A) intra-dia e (B) inter-dia. A linha pontilhada indica a média das medidas de repetibilidade.	48
Figura 18. Respostas de corrente para o estudo de estabilidade de dispersão Gr-AuNP-extB, onde (\downarrow) representa a diminuição da corrente em relação à primeira medida registrada. Condições experimentais: solução tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0), $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AC usando o eletrodo modificado Gr-AuNP-extB/GCE. Condições SWV: $f = 20,0 \text{ Hz}$; $a = 30,0 \text{ mV}$; e $\Delta E_s = 1,0 \text{ mV}$	49
Figura 19. (A) Representação esquemática da preparação das amostras de café e dos ensaios voltamétricos. (B) Voltamogramas de onda quadrada usando o Gr-AuNP-extB/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0): para (a) branco, (b) alíquota de $200 \mu\text{L}$ de café torrado e moído, e adições de (c-d) $100 \mu\text{L}$, e (e) $200 \mu\text{L}$ de solução padrão de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de AC. (C) Curva de calibração de externa para o AC (I) e curva de calibração por adição de padrão (II) para o AC. Parâmetros SWV: $a: 30 \text{ mV}$, $f: 20 \text{ Hz}$, e $\Delta E_s: 1 \text{ mV}$	50

Figura 20. (A) Espectros de absorção molecular para diferentes concentrações de AC: (a) branco, (b) 1,0; (c) 5,0; (d) 10,0; (e) 15,0; (f) 20,0; (g) 25,0; (h) 30,0; (i) 35,0; (j) 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$.
Inserido: Curva de calibração para o AC (n = 3).....53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Síntese mediada por plantas de nanopartículas de ouro (AuNPs) a partir de vários precursores.....	23
Tabela 2. Variação da quantidade de grafeno na otimização do sensor eletroquímico.....	34
Tabela 3. Parâmetros experimentais otimizados da SWV utilizados para a determinação do AC	44
Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos a partir da curva de calibração para o AC empregando o eletrodo modificado.....	46
Tabela 5. Valores de LOD para diferentes eletrodos reportados na literatura.....	47
Tabela 6. Determinação de AC em amostras de café utilizando o eletrodo Gr-AuNP-extB/GCE,	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a – Amplitude de pulso

AC – Ácido Cafeico

AuNP-extB/GCE - Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro estabilizadas no extrato da polpa da banana

AuNPs – Nanopartículas de Ouro

DP – Desvio Padrão

DPV (do inglês, *differential pulse voltammetry*) – Voltametria de Pulso Diferencial

EIS (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*) – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

E_{po} – Potencial de pico de oxidação

E_{pr} – Potencial de pico de redução

extB/GCE - Eletrodo de carbono vítreo modificado com extrato de polpa de banana.

f – Frequência de aplicação de pulso

GCE (do inglês, *glassy carbon electrode*) – Eletrodo de Carbono Vítreo

Gr (do inglês, *graphene*) – Grafeno

Gr-AuNP- extB/GCE– Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro estabilizadas no extrato da polpa da banana e grafeno

I_{pa} - Corrente de pico anódica

I_{pc} - Corrente de pico catódica

LOD (do inglês, *limit of detection*) – Limite de Detecção

LOQ (do inglês, *limit of quantification*) – Limite de Quantificação

LSV (do inglês, *linear sweep voltammetry*) – Voltametria de Varredura Linear

R_{ct} – (do inglês, *resistance to charge transfer*) – Resistência a Transferência de Carga

RSD (do inglês, *relative standard deviation*) – Desvio Padrão Relativo

SWV (do inglês, *square-wave voltammetry*) – Voltametria de Onda Quadrada

TEM (do inglês, *transmission electron microscopy*) – Microscopia Eletrônica de Transmissão

ΔE_s – Incremento de Potencial

v - Velocidade de Varredura

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	ÁCIDO CAFEICO E SUAS IMPLICAÇÕES A SAÚDE HUMANA	18
2.2	NANOMATERIAIS A PARTIR DE UMA PERSPECTIVA VERDE.....	20
2.3	GRAFENO COMO MODIFICADOR DE SUPERFÍCIE DE ELETRODOS	24
3	OBJETIVOS	26
3.1	OBJETIVO GERAL	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	REAGENTES E SOLUÇÕES	27
4.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	27
4.3	PREPARO DO EXTRATO E OBTENÇÃO DA DISPERSÃO DAS AUNP-EXTB....	28
4.4	PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS MODIFICADOS	29
4.5	MEDIDAS ELETROQUÍMICAS	29
4.6	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	30
4.7	MÉTODO COMPARATIVO	30
4.8	SEGURANÇA NO LABORATÓRIO E TRATAMENTO DOS RESÍDUOS	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA DISPERSÃO AUNPS-GR.....	32
5.2	OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DAS DISPERSÕES DE GR-AUNP-EXTB	34
5.3	CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS MODIFICADOS	35
5.4	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO ÁCIDO CAFEICO.....	37
5.5	ESTUDO DO PH DO ELETRÓLITO DE SUPORTE.....	38
5.6	ESTUDO DA VELOCIDADE DE VARREDURA	40
5.7	SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALITICA	41
5.8	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV.....	42
5.9	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O ÁCIDO CAFEICO	45
5.10	SELETIVIDADE, REPETIBILIDADE E ESTABILIDADE	47
5.11	DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO CAFEICO EM AMOSTRAS DE CAFÉ	50
6	CONCLUSÃO	54

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....55

1 INTRODUÇÃO

Alimentos como café, chás, vinhos e frutas, tais como uva e maçã, contêm ácido cafeico em níveis consideráveis. Estudos demonstram que este composto fenólico atua como antioxidante, anticoagulante e anti-inflamatório. Devido à sua baixa toxicidade, pode ser utilizado no tratamento de doenças, como o câncer que afeta cerca de 20 milhões de pessoas por ano [1]. Estudos também revelam que, além de atuar como agente antioxidante, o ácido cafeico auxilia no aumento da eficácia da quimioterapia, promovendo a morte das células cancerígenas [2]. Nesse sentido, a determinação do ácido cafeico nos alimentos é de grande importância, pois ajuda a estimar as quantidades dessa substância em diferentes amostras alimentícias.

O uso das técnicas voltamétricas para determinação de ácido cafeico tem se tornado comumente usadas devido às suas vantagens, como sensibilidade, baixo custo e portabilidade, em relação às técnicas analíticas oficiais que incluem cromatografia acoplada a um detector de arranjo de fotodiodos e eletroforese capilar. Nesse contexto, observa-se um notável crescimento na busca por sensores cada vez mais sensíveis, alcançado devido a modificação da superfície de eletrodos convencionais como eletrodos de carbono vítreo e ouro. Exemplos de materiais utilizados para aprimorar o desempenho desses eletrodos incluem nanotubos de carbono, pontos quânticos, grafeno e nanopartículas metálicas.

As nanopartículas de ouro têm sido utilizadas como modificadores de superfície de eletrodos, devido às suas propriedades condutoras e alta área superficial, contribuindo para um aumento do sinal analítico. Desta maneira, a utilização de extratos vegetais tem sido investigada devido à sua atuação como agente redutor de íons metálicos e estabilizador na formação das nanopartículas, resultando numa menor toxicidade e baixo custo, em relação às sínteses convencionais. Flavonóides, polissacarídeos e polifenóis são exemplos de compostos presentes nos extratos vegetais, que possibilitam a formação das nanopartículas de ouro [3].

Materiais à base de carbono, como o grafeno, também têm sido aplicados em conjunto com as nanopartículas de ouro para a modificação da superfície dos eletrodos. Isso ocorre porque o grafeno possui alta condutividade elétrica, o que também contribui para o aumento do sinal analítico. Para permitir uma maior dispersão do grafeno, extratos de plantas são utilizados na estabilização de compósitos de grafeno, por meio da ação das biomoléculas presentes no extrato.

Neste sentido, o presente trabalho propõe a modificação da superfície de um eletrodo

de carbono vítreo utilizando nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de banana (*Musa sapientum*) e grafeno, visando a determinação de ácido cafeico em amostras de café.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ÁCIDO CAFEICO E SUAS IMPLICAÇÕES A SAÚDE HUMANA

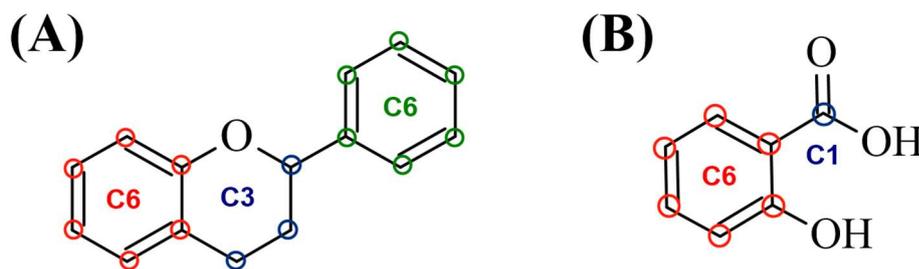
O café é uma das bebidas mais populares do mundo, ocupando a terceira posição entre as mais consumidas, após a água e o chá. Estima-se que diariamente sejam consumidas mais de dois bilhões de xícaras, o que pode estar relacionado ao fato de que tomar café faz parte do hábito de muitas pessoas ou até mesmo serve como uma ferramenta de socialização [4,5].

Dentre as principais espécies de café, estão a *Coffea arabica* e a *Coffea canephora*, que são cultivadas em regiões tropicais e subtropicais. O Brasil, a Colômbia, a Indonésia e o Vietnã são os países que se destacam na produção e exportação de café. Além disso, o café é composto por diversas substâncias químicas, como alcaloides, vitaminas e compostos fenólicos. Estes últimos são uma das classes mais importantes encontradas em sua matriz, apresentando atividade biológica ao atuarem como agentes antioxidantes, o que traz benefícios à saúde humana. Há evidências de que o consumo de café pode reduzir o risco de doenças como Alzheimer, Parkinson, diabetes tipo 2, câncer de fígado e doenças cardíacas [6–8].

Os compostos fenólicos são compostos de ocorrência natural encontrados principalmente em frutas e vegetais. Esses metabólitos secundários das plantas possuem propriedades antioxidantes e ajudam a aumentar a estabilidade oxidativa dos sistemas biológicos [9].

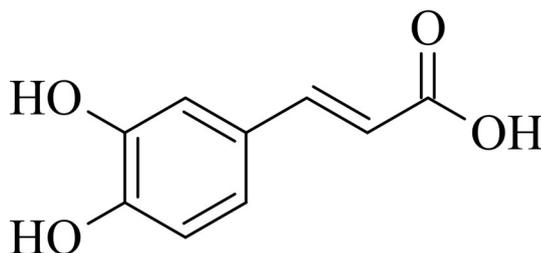
De acordo com Kadar *et al.* (2021)[10] existem mais de 8.000 compostos fenólicos que podem ser classificados em dois principais grupos: flavonoides e não flavonoides. Os flavonoides possuem como estrutura básica três anéis (C6-C3-C6) conforme apresentado na Figura 1A. A variação da sua estrutura central leva à formação de sete subclasses, que são determinadas pelo grau de oxidação do heterociclo principal. Essas subclasses incluem os flavonóis, as flavonas, as isoflavonas, as antocianidinas, as flavanonas, os flavanóis e as chalconas [11]. Os não flavonoides apresentam anéis C6-C1 em sua estrutura básica apresentados na Figura 1B, e dentro dessa categoria, incluem-se os ácidos fenólicos parciais e os taninos hidrolisados como subgrupos de maior interesse [12]. A Figura 1 apresenta a estrutura básica dos flavonóides, representado pelo 3,4-dihidro-2-fenil-2H-1-benzopirano que pertence a subclasse das flavonas e os não flavonoides, representado pelo ácido 2-hidroxibenzoico.

Figura 1. Estrutura química do (A) 3,4-dihidro-2-fenil-2H-1-benzopirano (C6-C3-C6) e (B) ácido 2-hidroxibenzoico (C6-C1).



O ácido cafeico (AC), também conhecido como ácido 3,4-dihidroxicinâmico, é um ácido fenólico importante encontrado em uma variedade de produtos alimentícios, incluindo café, azeite de oliva, leguminosas, frutas e vinho [13]. Sua estrutura química consiste em um anel aromático, uma ligação dupla conjugada à carbonila do grupo ácido e dois grupos hidroxila ligados ao anel, nas posições 3 e 4, são responsáveis pelas propriedades eletroquímicas devido à presença do par redox quinona/hidroquinona [2,14], conforme apresentado na Figura 2.

Figura 2. Estrutura química do ácido cafeico



Estudos científicos destacaram que o AC apresenta inúmeras propriedades químicas e farmacológicas. Estas incluem atividade antibacteriana, propriedades antioxidantes, ação antiaterosclerótica, capacidade de estimulação do sistema imunológico, efeito anti-inflamatório/analgésico, atividade antiviral, proteção cardiovascular e atividade antiproliferativa [15,16]. O grande atrativo deste composto é que, devido à sua ação farmacológica e ao seu potencial terapêutico, combinados com sua baixa toxicidade, o tornam adequado para a realização de estudos clínicos [17].

Segundo Chhikara e Parang (2023)[18], a cada ano, cerca de aproximadamente 20 milhões de pessoas recebem o diagnóstico de câncer. Os tipos de câncer de maior incidência incluem câncer de mama, pulmão, cólon, próstata, linfoma, rim, sangue e cérebro, de acordo com dados estatísticos. Embora ainda não se tenha estabelecido um mecanismo definitivo de atuação dos compostos fenólicos como agentes oxidantes seletivos frente às células cancerígenas, pesquisadores afirmam que o AC pode induzir a apoptose em células

cancerígenas através de uma reação autocatalítica. Iniciando pela oxidação dos catecóis, gerando uma semiquinona capaz de reagir com o oxigênio. Isso leva ao aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Alam *et al.* (2022) e Rajendra Prasad *et al.* (2011)[19,20] ainda enfatizam a ação do ácido cafeico ao induzir a morte de células cancerígenas por meio da quimioterapia, bem como sua baixa toxicidade em comparação com as drogas sintéticas.

As técnicas analíticas mais usuais para quantificação do teor de AC em diferentes matrizes, inclui cromatografia acoplada a um detector de arranjo de fotodiodos [21], eletroforese capilar [22] e métodos eletroanalíticos. Os sensores eletroquímicos têm sido amplamente explorados para a detecção e monitoramento de AC em amostras alimentícias, devido as suas diversas vantagens, incluindo frequência analítica, baixo custo, facilidade de manuseio e possibilidade de realização de análises *in-situ* [23,24].

Diversos estudos vêm aprimorando os sensores com modificações em suas superfícies utilizando diferentes nanomateriais para a determinação de ácido cafeico em diferentes tipos de amostras [25]. Um trabalho realizado por Mostafazadeh *et al.* (2022) aborda o emprego de Nanofitas de grafeno (GNRs) e nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) combinadas com óxido de níquel (NiO) e 1-Etil-3-metilimidazolium acetato como modificadores de um eletrodo de pasta de carbono, onde tal modificação proporcionou uma maior sensibilidade para a determinação de AC [26]. Em outro estudo realizado por DOU *et al.* (2023) um sensor eletroquímico foi construído utilizando nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) modificados com ouro e 2,6-dioctadecilaminopiridina (DODMA) para a detecção de AC, atingindo uma excelente exatidão [27]. Neste contexto, os nanomateriais têm recebido crescente atenção em virtude de suas propriedades únicas e capacidade de aprimorar o desempenho de sensores eletroquímicos.

2.2 NANOMATERIAIS A PARTIR DE UMA PERSPECTIVA VERDE

A nanotecnologia consiste na manipulação de materiais em escala atômica, especialmente entre 1 e 100 nm, utilizando combinações de abordagens físicas, químicas e biológicas. Essa área inovadora está transformando uma ampla gama de tecnologias, instrumentos científicos, dispositivos de consumo e aplicações médicas, proporcionando uma revolução sem precedentes [28,29]. As características dos nanomateriais são determinadas, em grande parte, pelas condições de sua preparação.

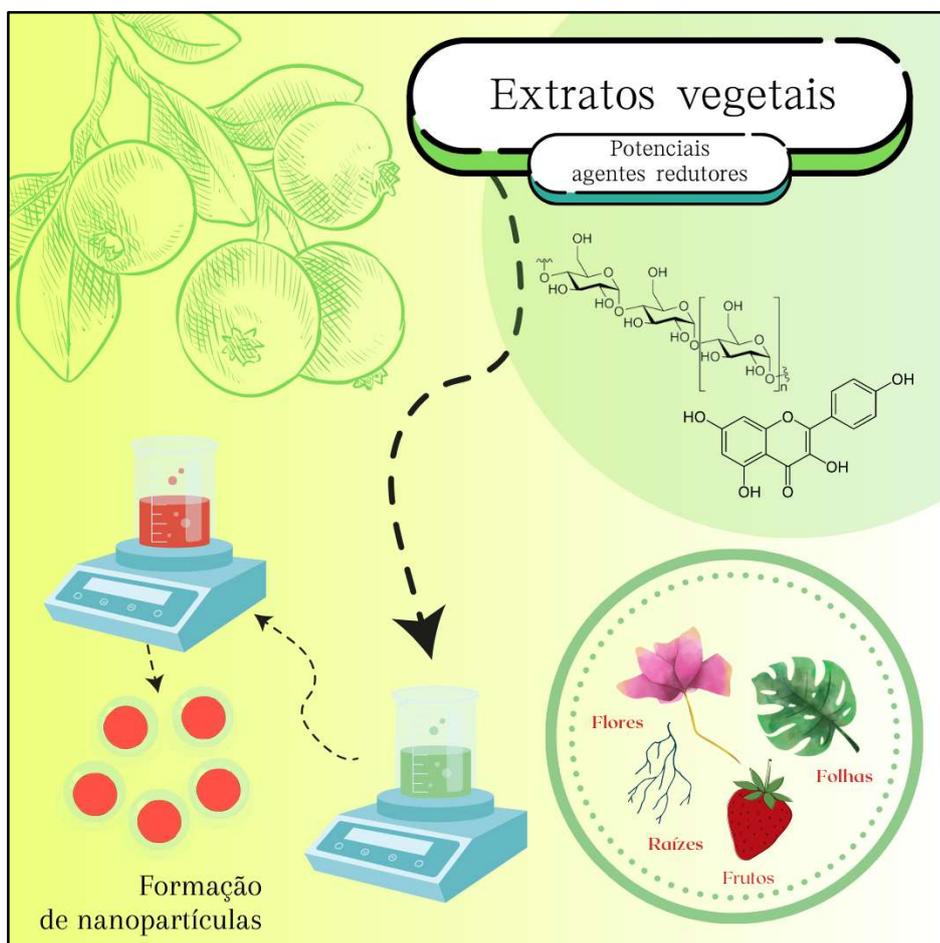
Metais como prata (Ag), alumínio (Al), ouro (Au), zinco (Zn), titânio (Ti), platina (Pt)

e Cobalto (Co) foram empregados na síntese de nanopartículas [30]. A síntese de nanopartículas é realizada por meio de duas abordagens distintas: "top-down" (de cima para baixo) e "bottom-up" (de baixo para cima). Na abordagem "top-down", o objetivo é reduzir o tamanho da estrutura em direção à nanoescala. Isso é alcançado por meio de processos como litografia, ablação a laser, mineração de esferas e pulverização catódica. Por outro lado, na abordagem "bottom-up", as nanoestruturas são construídas a partir de átomos e moléculas menores [31].

Atualmente, estão sendo exploradas opções para substituir reagentes redutores menos prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, com o objetivo de substituir os reagentes empregados nos métodos tradicionais de síntese. Neste sentido, tem-se utilizado extratos vegetais na síntese de nanopartículas metálicas. A redução dos íons metálicos, neste caso, é mediada pelos extratos vegetais e varia de acordo com a combinação única de biomoléculas presentes no ambiente [3,32]. Esses extratos contêm biomoléculas, como proteínas, enzimas e polissacarídeos, além de fitoquímicos, como terpenos, alcalóides e polifenóis, incluindo flavonóides que atuam como agentes redutores, bem como amidas, cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos, que auxiliam na estabilização do metal durante a reação. [33].

As vantagens deste método de síntese incluem a obtenção de produtos com características inertes, biocompatíveis, com baixo custo, rapidez de obtenção, geometria bem definida, grande área superficial e não necessita da utilização de equipamentos sofisticados para a realização da síntese [34,35]. A Figura 3 mostra alguns possíveis compostos presentes nos extratos vegetais, bem como as diferentes fontes vegetais utilizadas na biossíntese de nanopartículas metálicas.

Figura 3. Representação esquemática da síntese de nanopartículas metálicas a partir do uso de extratos vegetais como agente redutor e estabilizante e dispersante.



Fonte: o autor.

Nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido amplamente utilizadas devido às suas diversas propriedades notáveis, podendo ser aplicadas no desenvolvimento de catalisadores, cosméticos, fármacos, terapia antitumoral, sensores, entre outras aplicações. A biossíntese de AuNPs é um método amplamente utilizado devido à utilização de insumos não tóxicos, o que a classifica como uma síntese verde. Um estudo elaborado por YING *et al.* (2022) sugeriu, que as nanopartículas de ouro sintetizadas em extrato vegetal, apresentam uma grande estabilidade, o que a torna ideal para aplicação como catalisador, por exemplo [36].

Na literatura, existem diversos trabalhos que relatam a obtenção de nanopartículas usando a estratégia de síntese verde. A Tabela 1 apresenta alguns dos diferentes extratos vegetais utilizados como precursores na obtenção das AuNPs, bem como suas características estruturais e principais aplicações.

Tabela 1. Síntese mediada por plantas de nanopartículas de ouro (AuNPs) a partir de vários precursores.

Planta	Parte utilizada	Forma da nanopartícula	Tamanho	Aplicação
<i>Hygrophilia spinosa</i>	Planta inteira	Esférica, em forma de bastão, e triangular	68 nm	Atividade anticâncer contra linhas de células cancerosas de mama, ovário e cérebro
<i>Solidago canadensis</i>	Folhas	Esférica	25,9 nm	Propriedades eletroativas
<i>Combretum erythrophyllum</i>	Folhas	Esférica	13,20 nm	Excelente atividade antibacteriana; viabilidade celular excepcional em relação às linhas de células cancerosas.
<i>Parkia biglobosa</i>	Caule	Pentagonais, esféricas e triangulares	1 – 35 nm	Alto potencial antimicrobiano contra bactérias simbióticas
<i>Clitoria ternatea</i>	Flores	Esféricas	15,53 ± 10,12 nm	Propriedades medicinais

Fonte: Adaptado de RANI *et. al.* (2023)[37].

Neste trabalho, o extrato da polpa da banana (*Musa sapientum*) será utilizada como agente redutor e estabilizante para a formação de AuNPs. Na polpa da banana, encontramos três ácidos orgânicos predominantes: ácido málico, ácido cítrico e ácido oxálico, cujas concentrações passam por mudanças significativas ao longo do processo de crescimento e amadurecimento [38]. Além disso, é amplamente reconhecido que a polpa da banana contém diferentes tipos de amido, celulose e fitoquímicos bioativos, incluindo catecolaminas, compostos fenólicos e carotenoides [39]. Tais compostos permitem a redução do íon metálico, indicando que o extrato da banana pode ser uma alternativa na síntese de nanopartículas.

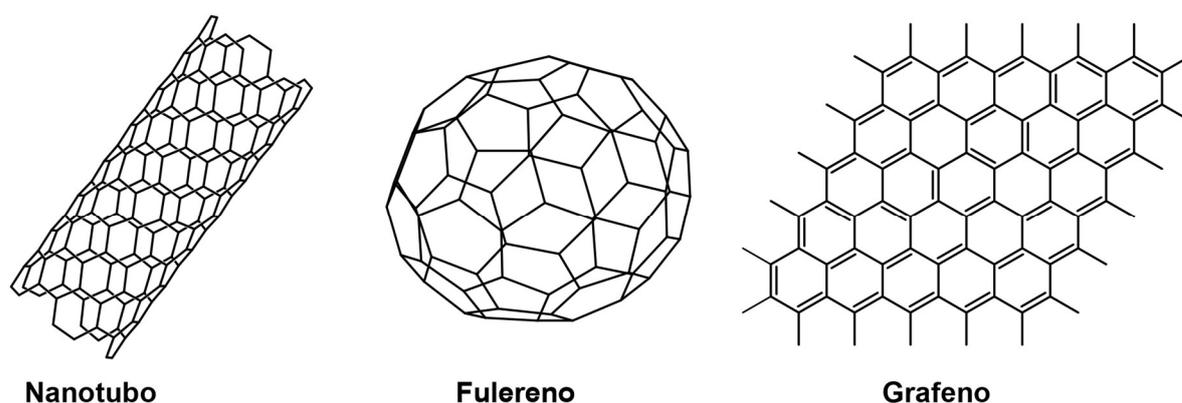
A combinação de materiais carbonáceos, como grafeno, por exemplo, com AuNPs tem sido explorada devido ao efeito sinérgico resultante dessas interações [40]. A incorporação de nanomateriais à base de carbono às AuNPs pode ampliar as propriedades elétricas, térmicas e mecânicas do compósito formado, ao mesmo tempo que oferece uma maior área superficial para reações e interações químicas [41].

2.3 GRAFENO COMO MODIFICADOR DE SUPERFÍCIE DE ELETRODOS

Uma característica fundamental dos materiais utilizados em sensores eletroquímicos é a sua habilidade de detectar analitos em concentrações extremamente baixas, ao mesmo tempo que são seletivos diante da matriz na qual o material está presente. Na busca por essa sensibilidade e seletividade, condutores como óxidos, nitretos de metais de transição, materiais carbonáceos, ftalocianinas metálicas e porfirinas se destacam como escolhas comuns na composição dos materiais utilizados na construção dos sensores [42].

A utilização de nanomateriais de carbono, como o grafeno, tem experimentado um aumento substancial nos últimos anos devido a uma série de pesquisas científicas que visam compreender suas propriedades e explorar suas aplicações tecnológicas. As diferentes estruturas dos materiais carbonáceos conferem propriedades distintas, resultando em uma ampla gama de aplicações. Dentre os materiais carbonáceos, como o diamante, os nanotubos de carbono e o fulerenos, o grafeno (Gr) é caracterizado como uma folha bidimensional de átomos de carbono dispostos em uma rede hexagonal e átomos de carbono ligados com hibridização sp^2 (Figura 4). Esta característica confere a este material, propriedades de grande interesse, tais como grande área superficial, alta condutividade térmica e alta atividade eletrocatalítica. As aplicações desse material, vão desde baterias e células solares, a aplicações eletroanalíticas, atuando como modificadores de eletrodo, maximizando o sinal analítico do sensor [43–45].

Figura 4. Estrutura química de alguns alótropos de carbono.



Devido à hidrofobicidade intrínseca dos átomos de carbono na estrutura hexagonal do Gr, a dispersão desses átomos na fase aquosa é notoriamente difícil [45,46]. Atingir uma dispersão uniforme do Gr apresenta desafios devido à influência das forças de van der Waals e das interações de empilhamento π - π entre suas folhas [47]. Para facilitar uma dispersão mais

eficaz do grafeno, extratos de plantas são empregados na estabilização dos compósitos de Gr. Isso é realizado por meio da atividade das biomoléculas presentes nos extratos [48].

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sensor eletroquímico a partir da modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo utilizando nanopartículas de ouro estabilizadas em extrato de banana (*Musa sapientum*) e grafeno para a determinação de ácido cafeico em amostras de café.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar AuNPs em solução aquosa usando extrato de banana (*Musa sapientum*);
- Caracterizar as dispersões de nanopartículas através da técnica de Espectroscopia de absorção molecular na região do Ultravioleta e Visível (UV-vis) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês *Transmission Electron Microscopy*);
- Caracterizar eletroquimicamente a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *Glassy Carbon Electrode*) modificado através da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês *Electrochemical Impedance Spectroscopy*);
- Estudar o comportamento eletroquímico do ácido cafeico sobre a superfície do eletrodo modificado;
- Otimizar os parâmetros experimentais (pH, eletrólito de suporte, técnica voltamétrica) a fim de obter máxima resposta eletroanalítica para o AC;
- Construir a curva de calibração para o AC com o sensor proposto;
- Determinar os parâmetros de validação do método analítico desenvolvido como faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação e os coeficientes de determinação e de correlação;
- Determinar a concentração de ácido cafeico em amostras de café;
- Avaliar a exatidão e precisão dos dados obtidos pelo eletrodo modificado através de testes de adição e recuperação e pelo método comparativo.

4 METODOLOGIA

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos possuem grau analítico de pureza. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura, obtidas com um sistema Milli-Q (Millipore, EUA) com resistividade de 18,2 MΩ cm. H₂SO₄ (Sigma-Aldrich) e grafeno (2DM) foram utilizados para modificação da superfície do GCE. Uma solução tampão Britton-Robinson (B-R) (H₃BO₃ / CH₃COOH / H₃PO₄) 0,1 mol L⁻¹ foi utilizada como eletrólito de suporte. O ajuste do pH destas soluções foi realizado através da adição de hidróxido de sódio 40% (Lafan) ou ácido clorídrico 3 mol L⁻¹ (Vetec), conforme necessário.

Uma solução aquosa de [Fe(CN)₆]^{3-/4-} foi preparada a partir de ferricianeto de potássio e ferrocianeto de potássio (Sigma-Aldrich), ambos em 5,0 mmol L⁻¹, em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹. A solução estoque de AC (Sigma-Aldrich) foi preparada com concentração de 5,0 mmol L⁻¹ em 10,0 mL em etanol/água (20:80, v/v). As soluções de menores concentrações foram preparadas mediante diluição da solução estoque.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

Todos os reagentes foram pesados em uma balança analítica Shimadzu AUW220D. O extrato da polpa da banana foi submetido à centrifugação em uma centrífuga modelo Centrifuge5424 R. As análises espectrofotométricas das AuNPs foram realizados em um espectrofotômetro Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, EUA) com uma cubeta de quartzo (caminho óptico de 1,0 cm).

A caracterização por TEM foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME – UFSC). As amostras foram preparadas através da deposição das dispersões em um grid de cobre (300 mesh) revestido com carbono.

A caracterização dos eletrodos modificados por espectroscopia de EIS foi realizada em um potenciostato/galvanostato PGSTAT128N (Metrohm Autolab B.V., Holanda). Os espectros de EIS foram obtidos utilizando KCl 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte, contendo K₃[Fe(CN)₆]/K₄[Fe(CN)₆] 5,0 mmol L⁻¹ em circuito aberto, amplitude de 5 mV e a faixa de frequência de 0,1 a 100 000 Hz.

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT101 (Metrohm Autolab B.V., Holanda). Para a realização das análises, foi utilizada uma célula eletroquímica contendo três eletrodos: o eletrodo modificado desenvolvido, como

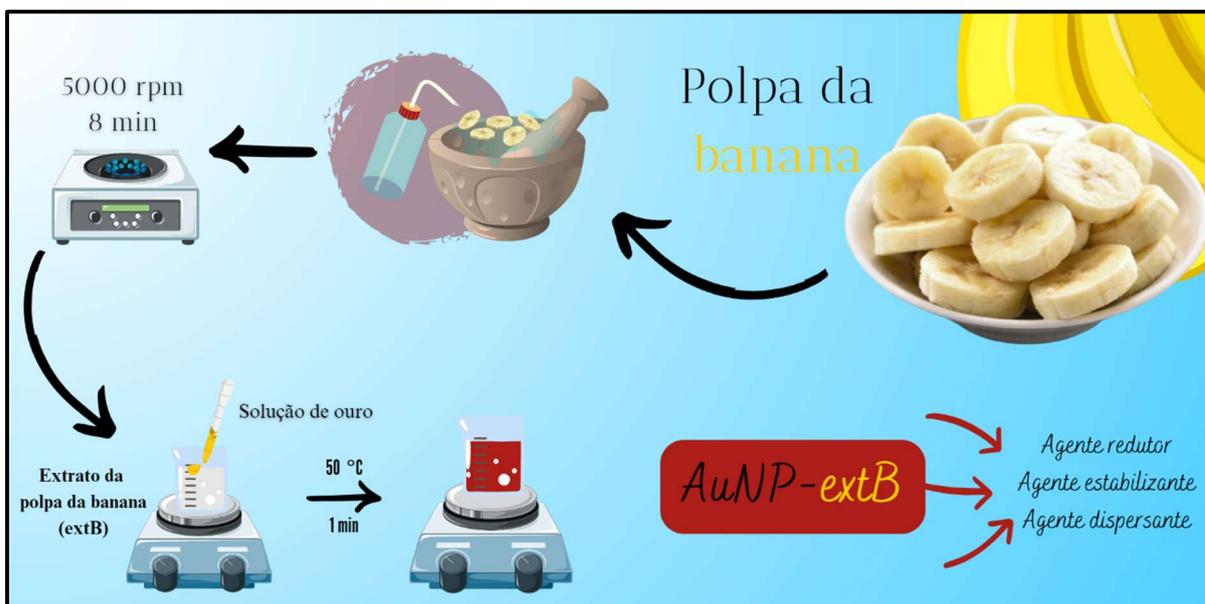
eletrodo de trabalho (área geométrica = 0,031 cm²), um eletrodo de Ag/AgCl (KCl saturado) como eletrodo de referência e uma placa de platina como eletrodo auxiliar.

4.3 PREPARO DO EXTRATO E OBTENÇÃO DA DISPERSÃO DAS AuNP-ExtB

Para a síntese das nanopartículas de ouro (AuNP-extB), foi empregado um extrato de banana e uma solução de H₂AuCl₄ 8,07 mmol L⁻¹. Para o preparo do extrato de banana, a casca foi removida e a polpa da banana foi cortada em pequenos pedaços. Em seguida, 10 g da polpa de banana foram macerados e adicionados a 20 mL de água ultrapura. O extrato resultante foi submetido a uma centrifugação a 5000 rpm por 8 min a 25 °C, sendo então retirado o sobrenadante. A solução de extrato de banana obtida (extB) foi utilizada como agente redutor e estabilizante na síntese das AuNPs, além de também atuar como agente dispersante do Gr.

Para a síntese, 1,0 mL do extB foi diluído em um pequeno volume de água ultrapura em um béquer. Em seguida, 150 µL de solução de H₂AuCl₄ foram adicionados rapidamente à mistura, que foi mantida sob aquecimento a 50 °C e agitação magnética constante por cerca de 20 segundos até o aparecimento da coloração avermelhada, característica de AuNPs (Figura 5).

Figura 5. Representação das etapas da síntese verde de AuNPs utilizando extrato da polpa da banana.



Fonte: o autor.

4.4 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS MODIFICADOS

Primeiramente, o GCE foi cuidadosamente polido em uma suspensão aquosa de alumina, lavado e transferido para um banho ultrassônico por 4 min em água ultrapura. A dispersão de grafeno-nanopartículas de ouro estabilizada no extrato de banana foi preparada a partir de 500 μL de AuNP-extB e 0,4 mg de grafeno (Gr). A mistura foi agitada e colocada em um banho de ultrassom até a completa homogeneização do sistema. A modificação do eletrodo foi realizada pelo método de *drop coating*, através da aplicação de uma alíquota de 2 μL da dispersão das nanopartículas estabilizadas em extrato de banana e grafeno (Gr-AuNP-extB) sobre a superfície do GCE. O sensor Gr-AuNP-extB/GCE foi seco a 45 °C em estufa por 5 min. Para fins de comparação, o GCE limpo e o eletrodo modificado com AuNP-extB (AuNP-extB/GCE) e Gr-extB (Gr-extB/GCE) foram preparados nas mesmas condições experimentais.

4.5 MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

As medidas utilizando técnicas voltamétricas foram realizadas à temperatura ambiente (25 °C) em uma célula eletroquímica contendo 10,0 mL de eletrólito de suporte (solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} ; pH 2). Os voltamogramas foram obtidos após agitação magnética durante 1 minuto. Todas as medidas de potencial foram obtidas vs. Ag/AgCl (KCl saturado). Os

voltamogramas cíclicos foram obtidos em uma faixa de potencial de $-0,3$ a $+1,0$ V, com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . As medidas de voltametria de onda quadrada (SWV) foram realizadas em uma faixa de potencial de $+0,3$ a $+0,7$ V. Os parâmetros da SWV otimizados foram: pulso de amplitude (a) de 30 mV , frequência (f) de $20,0 \text{ Hz}$ e potencial de incremento (ΔE_s) de $1,0 \text{ mV}$.

4.6 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras de café (café torrado e moído, grãos de café, café instantâneo e cápsula de café expresso) para a determinação do AC, foram adquiridas em comércio local de Florianópolis, e ambas foram preparadas de acordo com o procedimento de Wang *et al.* (2004) [49]. A cápsula de café expresso foi aberta para remoção do pó de café. Os grãos de café foram previamente moídos usando uma prensa francesa.

Primeiramente, $2,0 \text{ g}$ de cada amostra foram cuidadosamente pesados e misturados em 20 mL de solução de etanol/água (20:80, v/v). Em seguida, a mistura foi colocada em um banho ultrassônico por 10 min e centrifugada a 4500 rpm por 5 min . O sobrenadante foi coletado, e o resíduo sólido restante foi submetido a uma extração adicional com 20 mL da mesma solução de etanol/água. Os sobrenadantes das duas extrações foram combinados e, posteriormente, o volume foi ajustado para 50 mL usando água ultrapura. $10,0 \text{ mL}$ de solução tampão B-R ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 2) foi adicionada em uma célula eletroquímica, juntamente com uma alíquota da amostra preparada. Os ensaios de determinação de AC nas amostras foram realizados a partir do método de adição de padrão.

4.7 MÉTODO COMPARATIVO

O método comparativo foi realizado utilizando um espectrofotômetro de ultravioleta-visível UV-1800 (Shimadzu, Japão). Os espectros foram registrados na faixa de $260\text{-}400 \text{ nm}$. A aquisição e o processamento dos dados foram realizados usando o software UVProbe. Uma célula de quartzo com um caminho óptico de $1,0 \text{ cm}$ foi utilizada para as medições. A maior absorbância foi registrada em um comprimento de onda de 325 nm tanto para as amostras quanto para as soluções com diferentes concentrações de AC. Para a análise em amostras de café, $500 \mu\text{L}$ da alíquota foi transferida para uma cubeta contendo $2,5 \text{ mL}$ de solução de etanol/água (20:80, v/v).

4.8 SEGURANÇA NO LABORATÓRIO E TRATAMENTO DOS RESÍDUOS

Durante todas as etapas experimentais, foram utilizados os EPIs adequados para garantir a segurança no laboratório (jaleco, calça, sapato fechado, óculos de proteção e luvas). Os reagentes foram manuseados na capela quando necessário. Todos os resíduos gerados são aquosos e apresentam baixa toxicidade devido ao precursor utilizado na síntese das nanopartículas de ouro. No entanto, as nanopartículas de ouro e o grafeno não podem ser descartados diretamente na pia do laboratório. Portanto, eles foram armazenados e, posteriormente, coletados e tratados pelo serviço de tratamento de resíduos da universidade. Os resíduos sólidos gerados foram armazenados no laboratório e coletados pela mesma empresa para o devido tratamento.

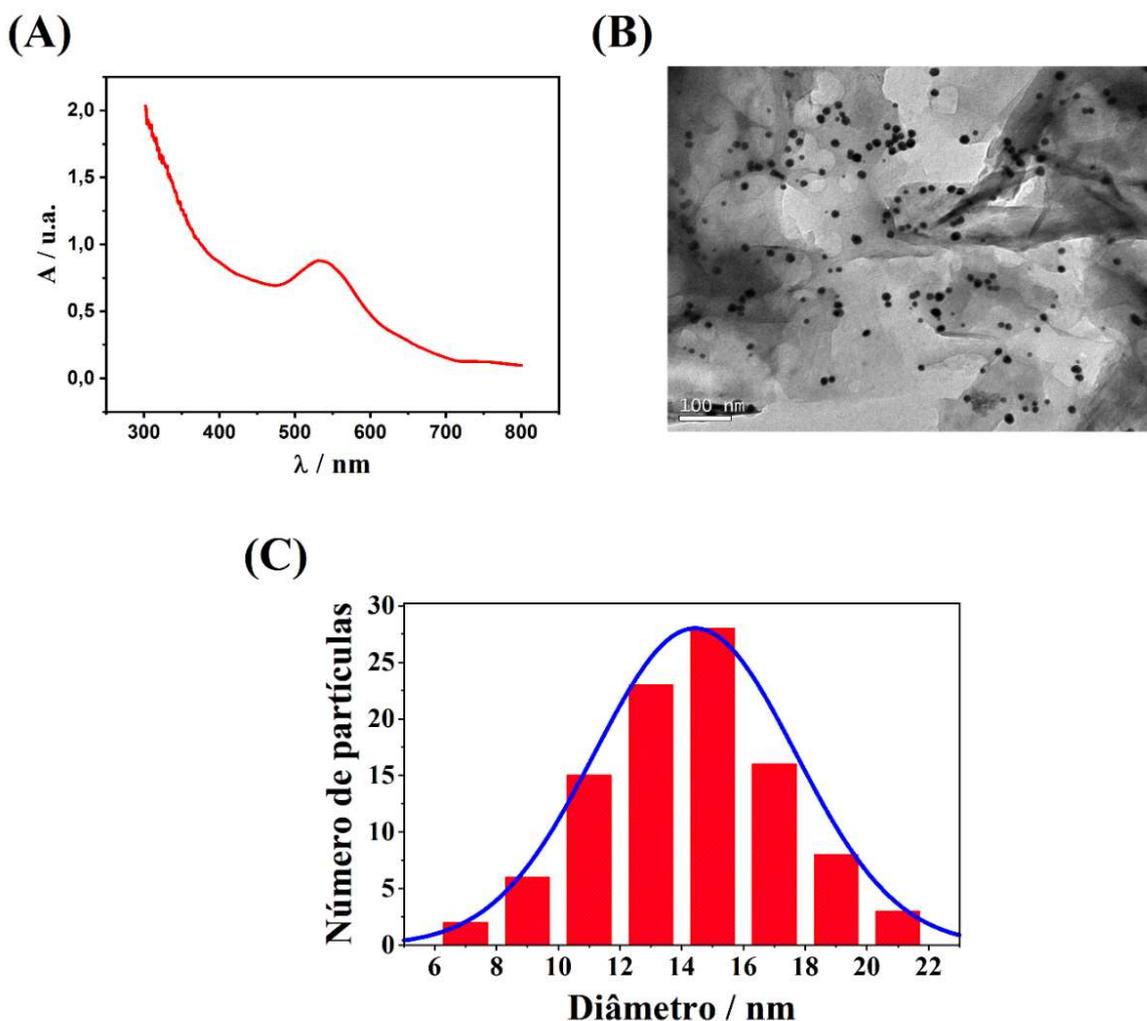
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA DISPERSÃO AuNPs-Gr

As nanopartículas de ouro foram biossintetizadas utilizando extB como agente redutor. A solução passou de incolor para uma coloração vermelha, sendo um dos primeiros indícios de que houve a formação de AuNPs. Os extratos de vegetais são ricos em polifenóis, onde os grupos hidroxilas causam a redução dos íons Au^{3+} a Au^0 [50].

A caracterização das AuNP-extB, foi realizada através das técnicas de espectroscopia UV-Vis e TEM. A Figura 6A apresenta o espectro de absorção UV-vis das AuNPs, onde se demonstra uma banda de absorção em 533 nm, característico de AuNPs. A presença da banda plasmônica do ouro indica a formação de nanopartículas metálicas, resultado da interação da radiação eletromagnética incidente e os elétrons livres na banda de condução do metal [51].

Figura 6. (A) Espectro UV-vis da dispersão de AuNPs sintetizadas com H_{Au}Cl₄ e extrato de banana e (B) Imagem de TEM da dispersão de Gr-AuNP-extB. (C) distribuição do tamanho das AuNPs.



Fonte: O autor.

A Figura 6B mostra a imagem de TEM das nanopartículas sintetizadas. Verifica-se que as nanopartículas têm formato esférico e encontram-se dispersas no grafeno. A Figura 6C apresenta o histograma de distribuição das nanopartículas, onde o tamanho médio das nanopartículas foi de $13,5 \pm 3,6$ nm. Esse tamanho reduzido indica que as AuNPs-extB sintetizadas possuem uma extensa área superficial e, quando combinadas com o grafeno, constituem um material nanoestruturado altamente promissor para ser utilizado como modificador em eletrodos.

5.2 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DAS DISPERSÕES DE Gr-AuNP-extB

Com o objetivo de desenvolver um sensor altamente eficiente para a análise de AC, foram exploradas diferentes otimizações no preparo da dispersão Gr-AuNP-extB. A síntese das AuNPs foi preparado conforme o procedimento descrito por Baumgarten *et al.* (2023) [52]. Foram estudadas diferentes proporções de água/sal precursor/extrato de modo a se obter uma dispersão estável e homogênea. Desta forma, a formação das AuNPs foi avaliada pela mudança de coloração da solução (de incolor para vermelho) e por espectrometria UV-Vis. Observou-se que volumes superiores a 200 μL do sal precursor causaram aglomeração e posterior precipitação das nanopartículas. Além disso, verificou-se o alargamento da banda de absorção, indicando uma distribuição pouco homogênea das AuNPs. Logo, foi selecionado o volume de 150 μL do sal precursor do ouro na síntese das AuNPs, onde se percebeu a formação de uma dispersão estável

Também foram investigadas quantidades diferentes de grafeno (Gr) a fim de otimizar o desempenho do sensor proposto. Foram estudadas duas diferentes quantidades de grafeno adicionadas às nanopartículas, conforme mostrado na Tabela 2.

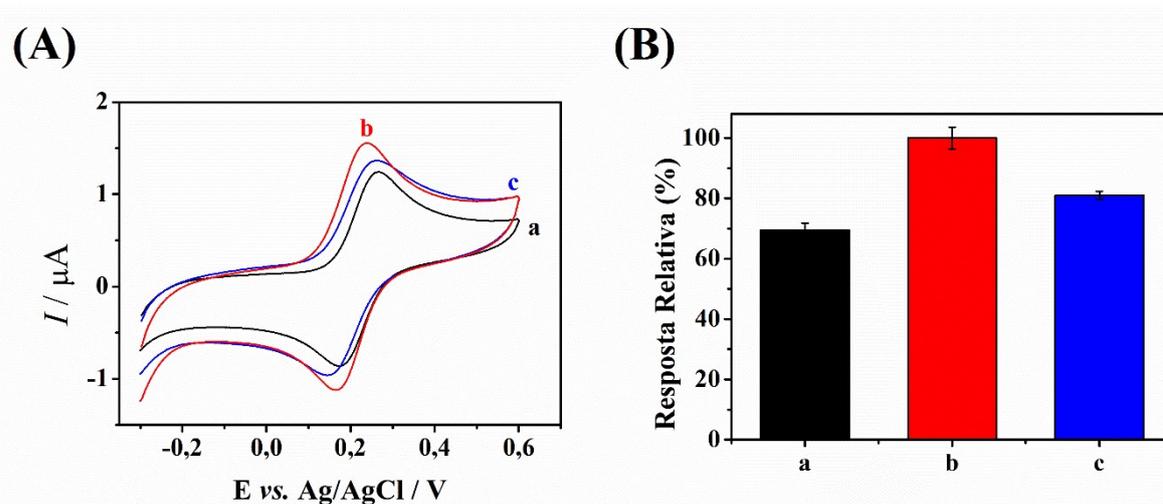
Tabela 2. Variação da quantidade de grafeno na otimização do sensor eletroquímico.

Dispersão Coloidal	I	II
Volume água (mL)	2,25	2,25
Volume extrato (mL)	1,0	1,0
Volume H ₂ AuCl ₄ (mL)	0,15	0,15
Grafeno (mg)	0,4	0,6

Fonte: O autor.

A resposta eletroquímica, de ambas as dispersões, foram avaliadas por voltametria cíclica (CV, do inglês *Cyclic Voltammetry*) utilizando o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 1,0 mmol L^{-1} em solução de KCl 0,1 mol L^{-1} , caracterizada como uma sonda eletroquímica padrão (Figura 7).

Figura 7. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em solução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para (a) GCE, (b) GCE modificado com AuNPs e $0,4 \text{ mg}$ de grafeno e (c) GCE modificado com AuNPs $0,6 \text{ mg}$ em $500 \text{ } \mu\text{L}$ AuNPs.



Fonte: O autor.

A adição de $0,4 \text{ mg}$ de Gr à dispersão provocou um aumento nas intensidades de corrente do sistema redox (curva b), em comparação com o eletrodo modificado apenas com AuNP-extB (curva a). Ao adicionar $0,6 \text{ mg}$ de Gr na dispersão AuNP-extB, resultou num menor sinal de corrente (curva c), provavelmente relacionado a capacidade de dispersão do grafeno pelo extrato da banana. Proporções de Gr superiores a $0,6 \text{ mg}$ foram investigadas, porém, durante os testes, o filme foi lixiviado na célula eletroquímica. Assim, a proporção de $0,4 \text{ mg}$ de Gr no compósito foi selecionada para estudos subsequentes.

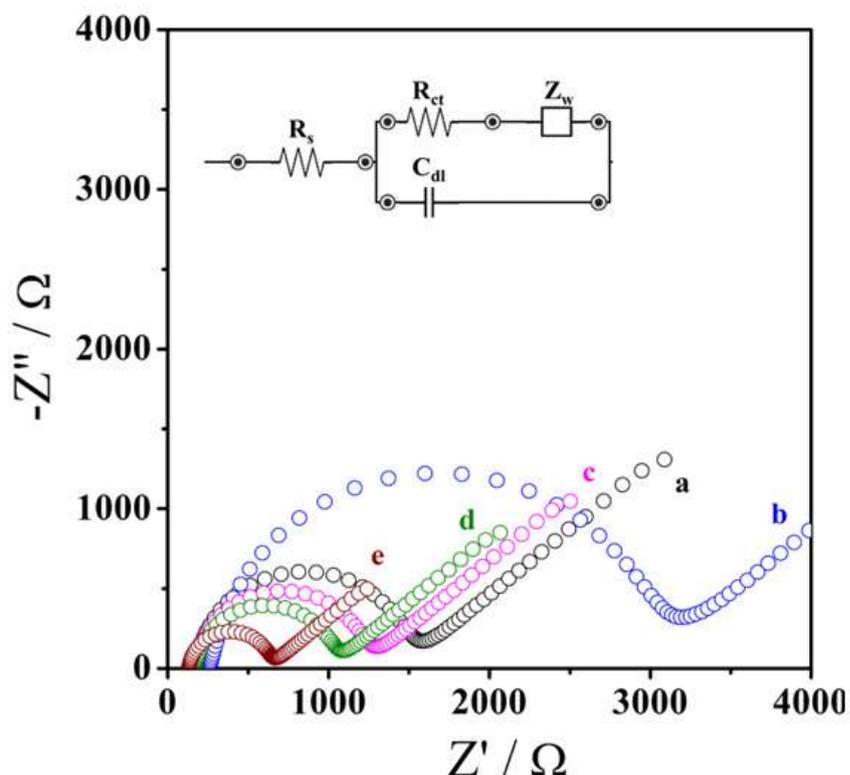
O grafeno apresenta boa condutividade e alta área de superfície, o que proporciona um ótimo desempenho, tornando um material promissor a ser aplicado no desenvolvimento de sensores eletroquímicos [53]. Assim, tem-se que à ação do grafeno combinado as propriedades elétricas das AuNPs, auxiliam na deposição do analito sobre a superfície do eletrodo, proporcionando, assim, um aumento na condutividade do sistema e um ganho de sinal analítico.

5.3 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS MODIFICADOS

Com o objetivo de investigar as propriedades elétricas da interface eletrodo-solução e a resistência a transferência de carga (R_{ct} , do inglês *resistance to charge transfer*) realizaram-se medidas de EIS. Na EIS, o diâmetro do semicírculo fornecido pelos diagramas de Nyquist é equivalente a R_{ct} do par redox sobre a superfície do eletrodo [54]. A Figura 8 apresenta os diagramas de Nyquist ($-Z''$ vs. Z') para (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP-

extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE, e (e) Gr-AuNP-extB/GCE utilizando $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ como espécies redox em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 8. Diagrama de Nyquist para diferentes eletrodos em $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP-extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE, e (e) Gr-AuNP-extB/GCE. Inseto: modelo do circuito de Randles para os eletrodos, onde: R_s é a resistência da solução; R_{ct} é a resistência à transferência de carga, Z_w é a impedância de Warburg e C_{dl} é a capacitância da dupla camada elétrica.



Fonte: O autor.

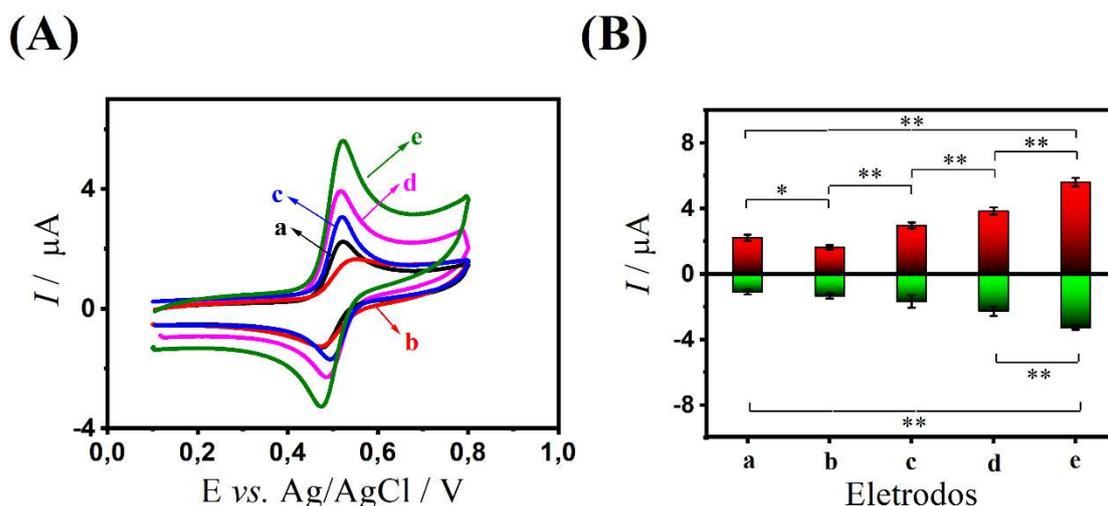
O GCE não modificado (curva a) exibiu um amplo semicírculo com $R_{ct} = 1576 \Omega$, indicando uma notável resistência à transferência de carga. No caso do eletrodo extB/GCE, representado na curva b, observou-se o maior semicírculo com $R_{ct} = 3192 \Omega$, indicando uma maior barreira à transferência de carga, em virtude das características não condutoras do extrato. O eletrodo AuNP-extB/GCE demonstrou uma $R_{ct} = 1297 \Omega$, conforme evidenciado na curva c. A curva d corresponde ao eletrodo Gr-extB/GCE, que apresentou um $R_{ct} = 1087 \Omega$ sendo a menor R_{ct} obtida em relação aos eletrodos anteriores. Por fim, a menor R_{ct} obtida com o eletrodo Gr-AuNP-extB/GCE com $R_{ct} = 668 \Omega$ (curva e), indicando uma menor resistência à transferência de carga, promovida pelas propriedades condutoras do grafeno e das nanopartículas de ouro atuando em conjunto.

Com base nos dados de EIS, é possível observar que o eletrodo modificado com grafeno e as nanopartículas de ouro apresenta uma resistência de carga menor, o que resulta numa maior condutividade e, conseqüentemente, em uma maior sensibilidade quando comparado ao GCE, tornando-o adequado para aplicações eletroanalíticas.

5.4 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO ÁCIDO CAFEICO

Foram realizadas medidas de voltametria cíclica, a fim de verificar o comportamento do AC usando os diferentes eletrodos. A Figura 9 mostra os voltamogramas cíclicos para AC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) para cada um dos eletrodos. Aplicou-se uma variação de potencial de 0,1 a 0,8 V, seguido da varredura reversa de 0,8 a 0,1 V, com $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos para AC em todos os eletrodos testados apresentam picos de oxidação e redução para a espécie, característico para processos reversíveis, de acordo com outros trabalhos recentes reportados na literatura [24].

Figura 9. Voltamogramas cíclicos para diferentes eletrodos na presença de AC $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0): (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP- extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE e (e) Gr-AuNP-extB/GCE, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Respostas de corrente utilizando os diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) extB/GCE, (c) AuNP- extB/GCE, (d) Gr-extB/GCE e (e) Gr-AuNP-extB/GCE (n=3). Análise de variância um fator (*one-way ANOVA*) como teste de Tukey (n=3; **p<0,01 e *p<0,001).



Fonte: O autor.

O filme de extrato de banana sobre a superfície do GCE (curva b) ocasionou uma diminuição nas intensidades de corrente, devido à sua natureza não condutora, em comparação ao GCE não modificado (curva a). Com as modificações utilizando AuNPs (curva c) e Gr (curva d), o aumento das respostas de corrente se deve a uma transferência de elétrons mais

rápida decorrente do caráter condutor e da alta área superficial dos nanomateriais. Por fim, com o eletrodo Gr-AuNP-extB/GCE (curva e), o efeito sinérgico entre as AuNPs e o Gr proporcionou as respostas de corrente mais promissoras.

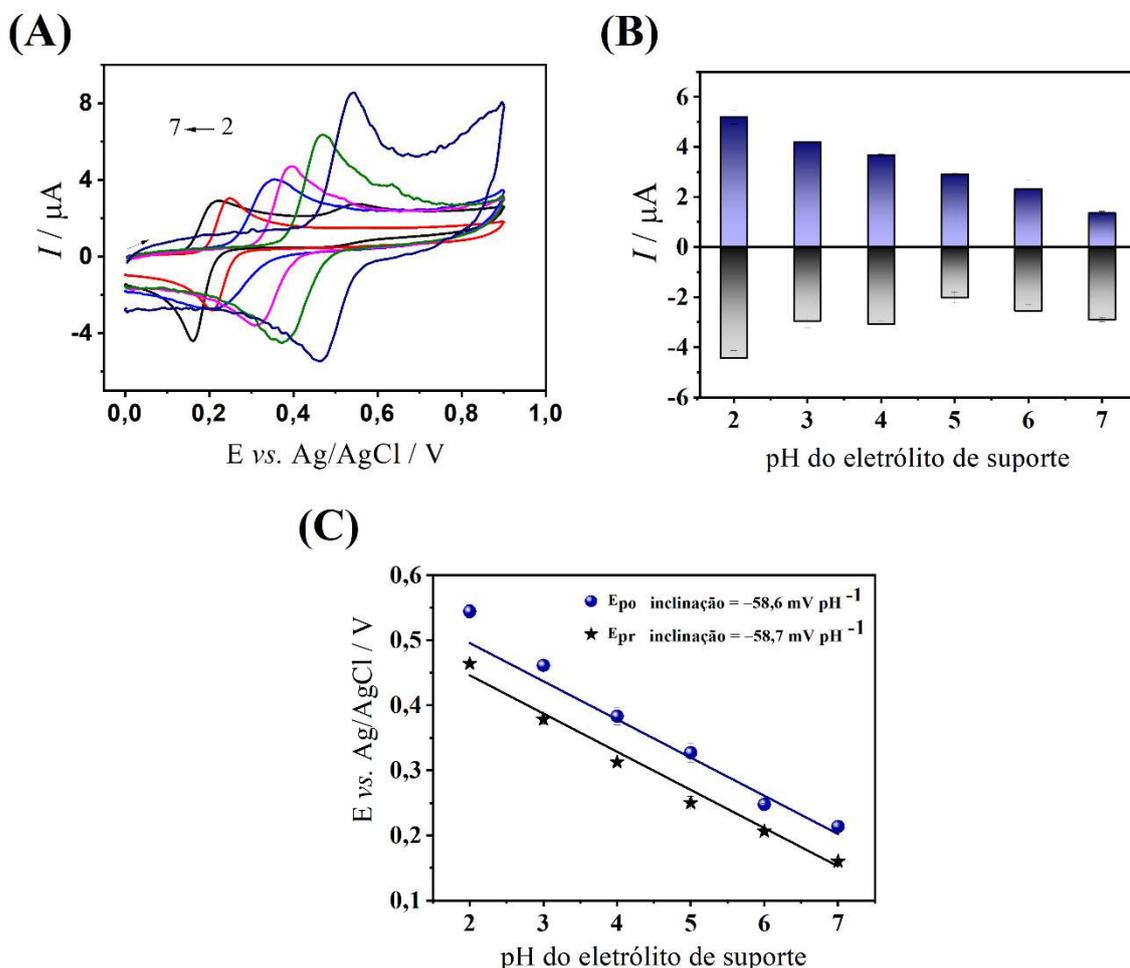
A significância estatística foi avaliada empregando a análise de variância de um fator (*one-way* ANOVA) com o teste de Tukey, adotando valores de $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$ como estatisticamente significativos (Figura 9B). Assim, as etapas de modificação do eletrodo com AuNPs e Gr contribuíram significativamente para um aumento na resposta de corrente anódica (I_{pa}) ($p \leq 0,05$). Já o extB/GCE obteve uma diminuição significativa no I_{pa} ($p \leq 0,01$). Com isso, sugeriu-se que as etapas de modificação com AuNPs e Gr do eletrodo de fato melhoraram as respostas do AC. As médias observadas para as respostas de corrente catódica (I_{pc}) foram significativamente diferentes apenas para o GCE não modificado, Gr-extB/GCE e Gr-AuNP-extB/GCE ($p \leq 0,05$). Isso implica que nem todas as etapas foram significativas para o aumento na resposta de I_{pc} .

5.5 ESTUDO DO pH DO ELETRÓLITO DE SUPORTE

A resposta eletroquímica do AC, bem como a sensibilidade do sensor modificado, pode ser diretamente afetada pelo eletrólito de suporte e pela variação do pH do meio. Esses fatores influenciam a forma como a espécie eletroativa está presente na solução. Inicialmente, as respostas de corrente e potencial de pico foram investigadas no intervalo de pH de 2,0 a 7,0, utilizando soluções tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 10A). A Figura 10B destaca a variação das correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) em função do pH do eletrólito de suporte. Observa-se que os valores de corrente diminuíram gradualmente do pH 2,0 ao pH 7,0. Assim, buscando obter uma máxima resposta de corrente para a determinação do AC, o pH 2,0 foi adotado para as análises subsequentes.

Estudos relacionados à cinética redox do AC, apontam pH mais ácidos como ideal para esta espécie. Neste caso, o AC predomina na sua forma protonada ($pK_a = 4,41$) e a reação de transferência de dois prótons e dois elétrons é reversível, assim como a difusão da espécie eletroativa é favorecida [55].

Figura 10. (A) Voltamogramas cíclicos para AC 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o eletrodo modificado Gr-AuNP-extB/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH (2,0 a 7,0) ; $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Em (B) variação de I_{pa} e I_{pc} para AC em função do pH e (C) deslocamento linear do potencial de pico com a variação do pH.



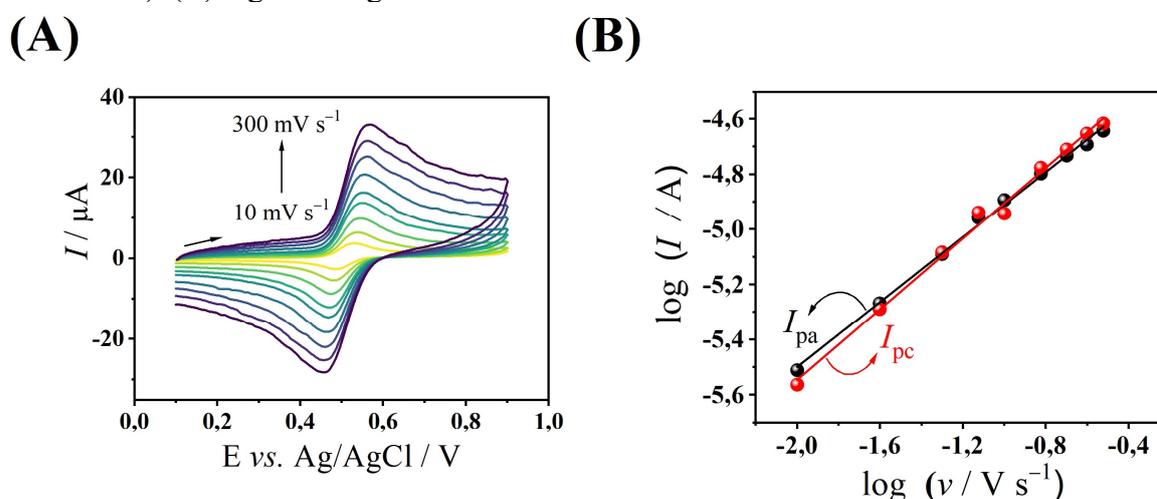
Fonte: O autor.

A relação entre o potencial de pico de oxidação (E_{po}) e redução (E_{pr}) em função do pH é mostrada na Figura 10C. Uma variação linear do E_{po} e E_{pr} , com valores que se deslocam no sentido negativo de potencial com o aumento do valor de pH, indica que há prótons diretamente envolvidos na reação de oxirredução do ácido cafeico. Estas variações obedeceram às seguintes equações: $E_{po}(\text{V}) = -0,0586\text{pH} + 0,613$ ($r = 0,962$) e $E_{pr}(\text{V}) = -0,0587\text{pH} + 0,563$ ($r = 0,991$). As inclinações de $-58,6 \text{ mV pH}^{-1}$ e $-58,7 \text{ mV pH}^{-1}$ foram encontradas, sendo valores próximos ao valor teórico de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$ da equação de Nernst. Isto indica que há o mesmo número de mols de prótons e elétrons transferidos na reação de oxidação e redução do AC sobre a superfície do eletrodo modificado, conforme reportado na literatura [56].

5.6 ESTUDO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

O efeito da velocidade de varredura do AC foi investigado por meio de voltametria cíclica, a fim de estudar a etapa limitante que ocorre na superfície do eletrodo modificado, variando a velocidade de varredura na faixa de 10 a 300 mV s^{-1} (Figura 11A). Observa-se que o aumento da velocidade de varredura é acompanhado por um aumento nas correntes de pico anódico e catódico.

Figura 11. (A) Voltamogramas cíclicos para AC 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando Gr-AuNP-extB/GCE em solução tampão B-R (0,1 mol L^{-1} ; pH 2,0) em diferentes velocidades de varredura (10 - 300 mV s^{-1}). (B) $\log I$ vs. $\log v$.



Fonte: O autor.

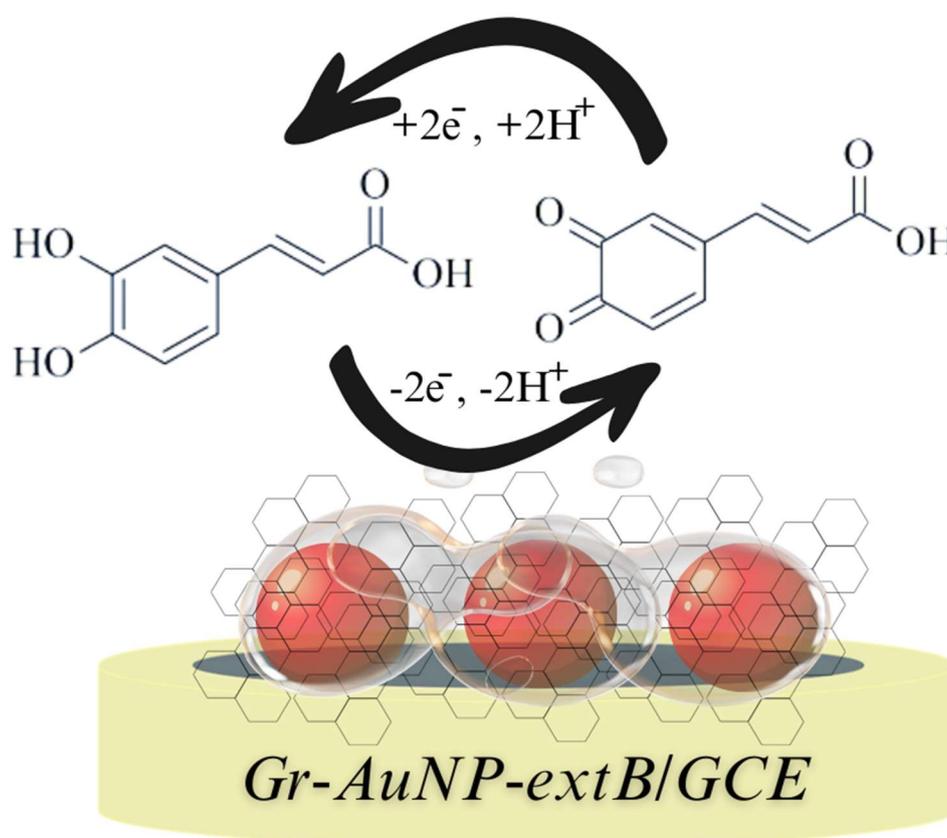
Por sua vez, a Figura 11B ilustra o comportamento linear do gráfico $\log I$ vs. $\log v$, onde obteve-se um coeficiente angular igual à 0,59, para a oxidação e 0,63, para o processo de redução. De acordo com a literatura, uma inclinação igual à 0,5 indica que o processo redox é controlado pelo transporte por difusão [57]. Assim, conclui-se que a etapa limitante do processo da velocidade da reação sobre a superfície do eletrodo foi predominantemente o processo de difusão.

Além disso, foi possível calcular o número de elétrons envolvidos na reação redox do AC. Para sistemas eletroquímicos reversíveis, a voltametria cíclica pode ser realizada para obter uma relação entre a diferença entre o potencial de pico (E_p) e o potencial de meia-onda ($E_{p/2}$) e o número de elétrons da reação eletroquímica [58]:

$$\left| E_p - E_{\frac{p}{2}} \right| = 2,20 \frac{RT}{zF} = \frac{56,5}{z} \text{ mV} \quad (1)$$

A partir da equação acima, concluiu-se que o número de elétrons aparente da reação eletroquímica (z_{app}) para o processo é igual a 2,03. Nos resultados obtidos na Seção 5.5, observou-se também que a reação eletroquímica do AC envolveu o mesmo número de mols de prótons e elétrons. Este resultado corrobora com os dados relatados pela literatura, onde o processo de oxidação do AC para formar o derivado de o-quinona, envolve a transferência de dois prótons e dois elétrons, seguido pela redução subsequente do derivado de o-quinona, também com a transferência de dois prótons e dois elétrons, como ilustrado na Figura 12 [59].

Figura 12. Esquema de reação de oxirredução da molécula de ácido cafeico no Gr-AuNP-extB/GCE



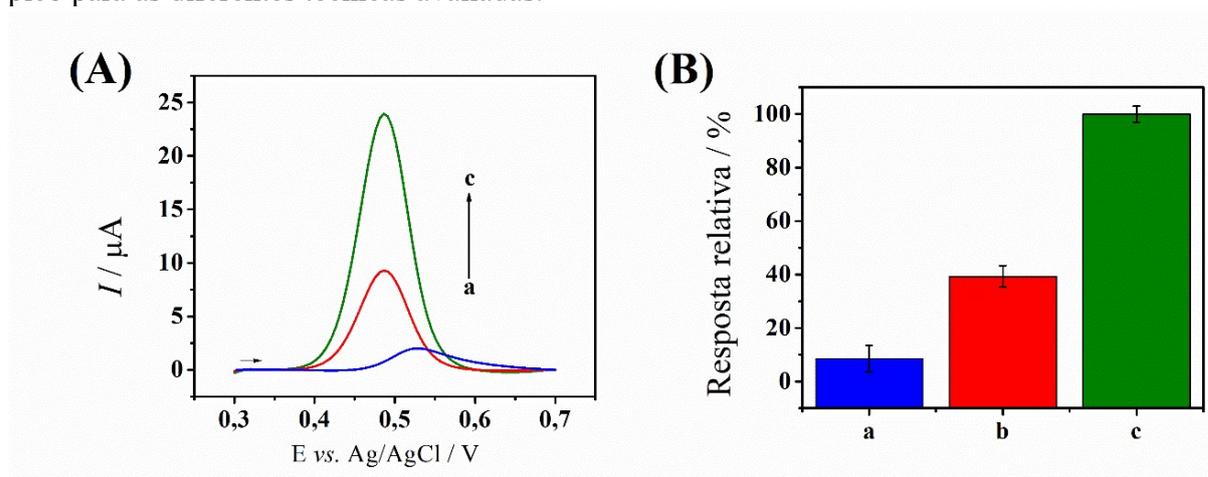
Fonte: O autor.

5.7 SELEÇÃO DA TÉCNICA ELETROANALÍTICA

Com o objetivo de desenvolver uma metodologia sensível para a determinação de AC, foram investigados três diferentes técnicas voltamétricas (Figura 13A). A magnitude do sinal analítico oferecida por cada uma delas foi avaliada (Figura 13B). As técnicas de voltametria de varredura linear (LSV, do inglês, *linear sweep voltammetry*), voltametria de pulso

diferencial (DPV, do inglês, *differential pulse voltammetry*), e SWV foram analisadas. Os parâmetros de cada técnica foram ajustados de modo a se obter a mesma velocidade de varredura durante as medidas ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$).

Figura 13. (A) Voltamogramas de AC $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ usando Gr-AuNP-extB/GCE, em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0) para diferentes técnicas voltamétricas: (a) LSV ($E_{\text{pulso}} = 0,244 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 4,88 \text{ ms}$), (b) DPV ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{pulso}} = 5,0 \text{ mV}$ e $t_{\text{pulso}} = 100,0 \text{ ms}$) e (c) SWV ($a = 50 \text{ mV}$, $f = 50 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s: 1 \text{ mV}$). Em (B) Gráfico de barras das correntes de pico para as diferentes técnicas avaliadas.



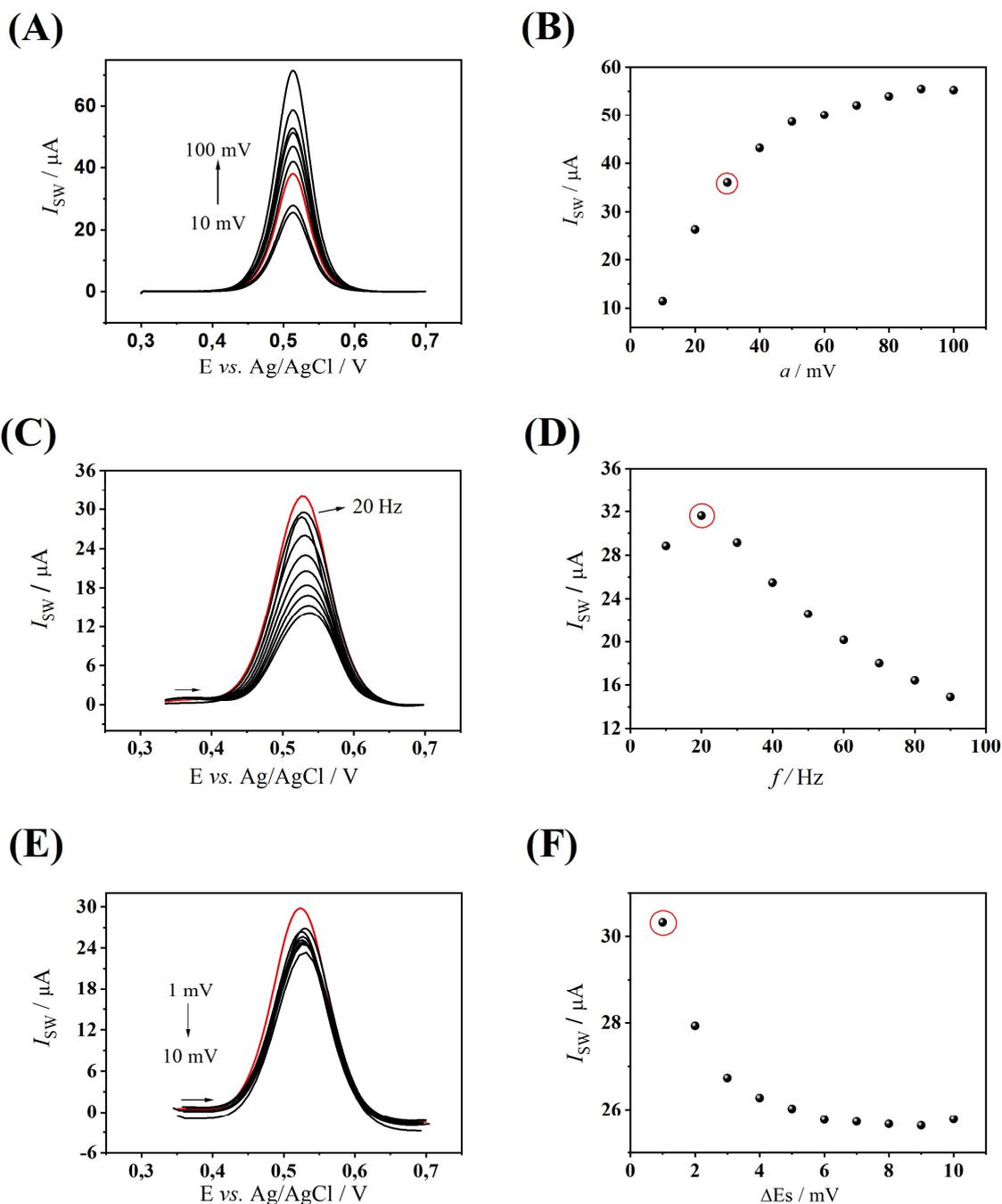
Fonte: O autor.

Verificou-se que a LSV é a técnica que apresenta menor sinal frente ao analito. Quando se utiliza a DPV obtêm-se um sinal analítico de maior intensidade. Entretanto, a SWV apresentou um maior sinal de corrente, devido a diferença das correntes de oxidação e redução, e estas, como possuem sinais opostos, geram uma corrente resultante que favorece sistemas reversíveis. Dessa forma, por apresentar uma maior sensibilidade, selecionou-se a técnica de SWV para os estudos de determinação subsequentes.

5.8 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA SWV

Os parâmetros foram otimizados com o objetivo de encontrar um perfil ideal entre a intensidade de corrente obtida e a resolução dos picos (Figura 14). Essas características são essenciais para o desenvolvimento de uma metodologia com maior sensibilidade e seletividade. Os parâmetros experimentais da SWV foram variados nos seguintes intervalos: amplitude de pulso (a : 10 – 100 mV), frequência de aplicação dos pulsos (f : 10 – 100 Hz) e incremento de potencial (ΔE_s : 1 – 10 mV).

Figura 14. À esquerda, são apresentados os voltamogramas de onda quadrada com a variação dos parâmetros experimentais. À direita, é mostrada a dependência da corrente resultante com a variação da amplitude (A e B), frequência (C e D), e do incremento de potencial (E e F).



Fonte: O autor.

Na SWV, a aplicação dos potenciais é realizada por meio de pulsos de potencial de amplitude a sobre uma escada de potencial de altura ΔEs (incremento de potencial) com uma duração t (período). A frequência de aplicação dos pulsos (f) é o inverso do período ($1/t$). A velocidade de varredura, neste caso, é dada pelo produto da frequência e do incremento de potencial ($v = f\Delta Es$).

O aumento da amplitude resulta em um aumento das intensidades das correntes de pico. No entanto, é importante mencionar que também pode levar a um alargamento dos picos registrados. Então, variou-se a amplitude de pulso (Figura 14A), mantendo os demais parâmetros fixos ($f = 50$ Hz e $\Delta E_s = 5,0$ mV). Selecionou-se a amplitude de pulso de 30,0 mV, devido a maior intensidade de corrente. Como verificado na Figura 14B, a corrente máxima foi obtida em $a = 100$ mV. Apesar disso, a amplitude de pulso foi mantida até 30 mV, sendo este o valor fixado para as análises subsequentes.

As intensidades das correntes de pico também são influenciadas pela frequência, o qual possui uma relação proporcional à velocidade de varredura. Assim, foi realizado um estudo variando a frequência (Figura 14C), mantendo os demais parâmetros fixos ($a = 30,0$ mV e $\Delta E_s = 5,0$ mV). Com base nos resultados obtidos, a frequência de 20 Hz foi selecionada para as análises posteriores, pois apresentou um sinal mais definido (Figura 14D).

O incremento também é um fator crítico que influencia a intensidade e na definição dos picos voltamétricos. Portanto, realizou-se uma variação deste parâmetro (Figura 14E), mantendo os demais parâmetros fixos ($a = 30,0$ mV e $f = 20,0$ Hz). Como verificado na Figura 14F, a corrente máxima foi obtida em $\Delta E_s = 1,0$ mV, sendo este o valor fixado para as análises subsequentes.

Observa-se que o aumento da frequência e do incremento de potencial, causam uma diminuição na intensidade de corrente. Esta tendência pode estar relacionada a cinética lenta de transferência de elétrons do AC, e um aumento na velocidade de varredura compromete acompanhar de maneira efetiva o registro do processo ($v = f\Delta E_s$). Os valores destacados nos gráficos de correlação de corrente e parâmetros da técnica (Figura 14), foram selecionados para os estudos subsequentes e estão mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros experimentais otimizados da SWV utilizados para a determinação do AC

Parâmetro	Faixa de aplicação	Valor Experimental Otimizado
Amplitude	10-100 mV	30 mV
Frequência	10-100 Hz	20 Hz
Incremento de potencial	1-10 mV	1 mV

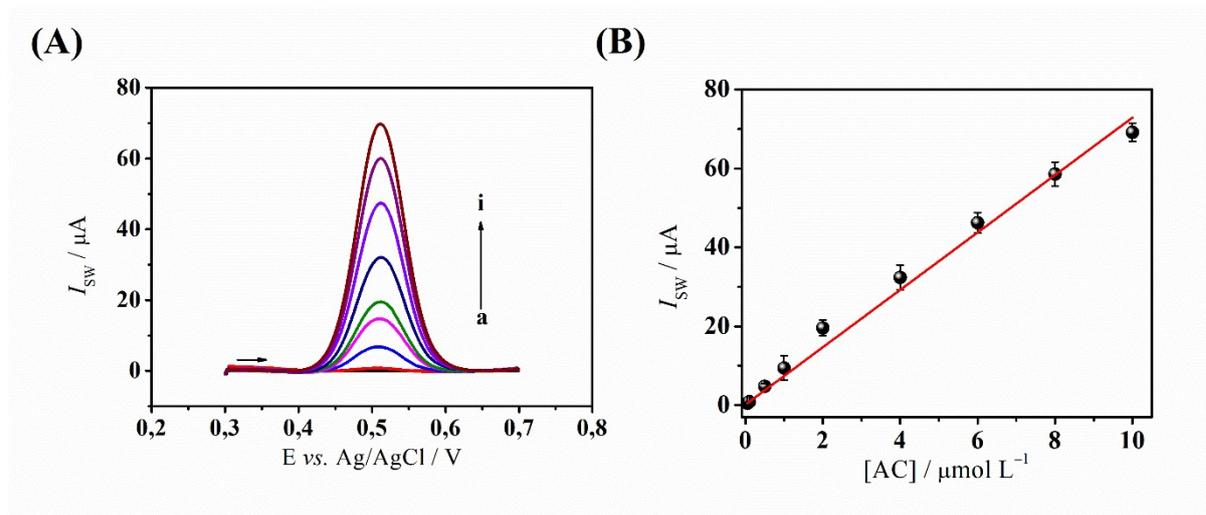
Fonte: O autor.

5.9 CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA O ÁCIDO CAFEICO

Após a otimização das condições experimentais, construiu-se a curva de calibração através da adição de alíquotas da solução padrão de AC em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 2$). A Figura 15A apresenta os voltamogramas de onda quadrada em diferentes concentrações de AC. Observa-se um pico bem definido em $+0,509 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, onde a intensidade da corrente aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração do analito no intervalo de $0,05$ a $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

A curva de calibração exibiu linearidade com um coeficiente de determinação de $0,996$. A equação de regressão linear foi: $I_{\text{SW}}/\mu\text{A} = 7,27[\text{AC}] (\pm 0,23) + 0,174(\pm 0,038)$, onde I_{SW} é a corrente de pico obtida por SWV em μA , e $[\text{AC}]$ é a concentração de AC em $\mu\text{mol L}^{-1}$, apresentada na Figura 15B.

Figura 15. (A) Voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de ácido cafeico usando o Gr-AuNP-extB/GCE: (a) $0,05$; (b) $0,1$; (c) $0,5$; (d) $1,0$; (e) $2,0$; (f) $4,0$; (g) $6,0$; (h) $8,0$; (i) $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} 2,0$). Em (B) Curva de calibração ($n = 3$).



Fonte: O autor.

O limite de detecção (LOD, do inglês, *limit of detection*) e limite de quantificação (LOQ, do inglês, *limit of quantification*) foram calculados utilizando as seguintes expressões [60]:

$$\text{LOD} = \frac{3 \text{ DP}}{a} \quad (2)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ DP}}{a} \quad (3)$$

onde DP é o desvio padrão do coeficiente linear da equação da reta obtida e a é o coeficiente angular da reta. Os valores obtidos foram de $\text{LOD} = 16 \text{ nmol L}^{-1}$ e $\text{LOQ} = 52 \text{ nmol L}^{-1}$. Os parâmetros de mérito do método analítico para a determinação do AC foram extraídos da curva de calibração e são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros analíticos obtidos a partir da curva de calibração para o AC empregando o eletrodo modificado.

Parâmetro Analítico	Valor
Potencial de pico (V)	+0,509
Faixa de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,05 - 10
Coefficiente de determinação (R^2)	0,996
Coefficiente angular ($\mu\text{A L mol}^{-1}$)	7,27
DP do coeficiente angular ($\mu\text{A L mol}^{-1}$)	$\pm 0,23$
Coefficiente linear (μA)	0,174
DP do coeficiente linear (μA)	$\pm 0,038$
Limite de detecção (nmol L^{-1})	16
Limite de quantificação (nmol L^{-1})	52

Fonte: O autor.

A Tabela 5 apresenta alguns trabalhos publicados, afins de comparação dos diferentes materiais nanoestruturados que foram usados na modificação do eletrodo e seus respectivos limites de detecção obtidos para a determinação de AC. Notavelmente, o LOD obtido pelo Gr-AuNP-extB/GCE está entre os mais baixos relatados nesta pesquisa. Ainda assim, o uso de um método de síntese verde no desenvolvimento do material nanocompósito fornece um método mais ecológico e sustentável.

Tabela 5. Valores de LOD para diferentes eletrodos reportados na literatura

Eletrodo	Técnica	LOD (nM)	Referência
NDC/GCE ^a	DPV	2,4	[61]
PtCu/GCE ^b	DPV	35	[62]
Chit-CB/rGO/GCE ^c	DPV	21	[63]
HNTs/F ₃ O ₄ /PGE ^d	DPV	8	[64]
GNR/CoFe ₂ O ₄ @NiO/EMIMAc/CPE ^e	SWV	10	[26]
PdRu/N-SCs/GCE ^f	DPV	190	[24]
<i>f</i> -MWCNTs/ α -NaFeO ₂ /GCE ^g	DPV	2	[56]
Gr-AuNP-extB/GCE	SWV	16	Este Trabalho

^aNDC/GCE – eletrodo de carbono vítreo com carbono dopado com nitrogênio;

^bPtCu/GCE – eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocristais de PtCu;

^cChit-CB/rGO/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com um nanohíbrido protegido com quitosana composto de carbono black e óxido de grafeno reduzido;

^dHNTs/F₃O₄/PGE - Eletrodo de grafite a lápis (PGE) revestido com uma mistura de nanotubos de halloysite (um mineral de argila) e nanopartículas de magnetita (Fe₃O₄); ^eGNR/CoFe₂O₄@NiO/EMIMAc/CPE - eletrodo de pasta de carbono modificado com nanofitas de grafeno, nanopartículas magnéticas de ferrita de cobalto, óxido de níquel e acetato de 1-etil-3-metilimidazólio;

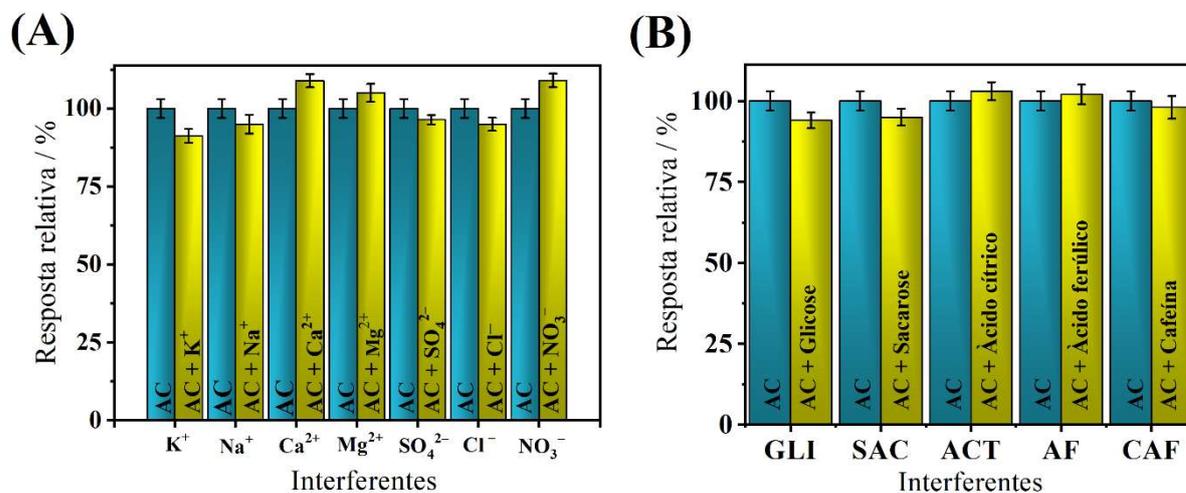
^fPdRu/N-SCs/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas bimetálicas de Pd-Ru decoradas com carbono poroso esponjoso dopado com nitrogênio;

^g*f*-MWCNTs/ α -NaFeO₂/GCE - Eletrodo de carbono vítreo (GCE) modificado com um catalisador ativo à base de carbono/ferro.

5.10 SELETIVIDADE, REPETIBILIDADE E ESTABILIDADE

O sinal analítico de 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AC utilizando Gr-AuNP-extB/GCE foi estudado na presença de íons e uma seleção de compostos orgânicos. Íons incluindo Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻ e PO₄³⁻, juntamente com moléculas orgânicas como glicose (GLI), sacarose (SAC), ácido cítrico (ACT), ácido ferúlico (AF) e cafeína (CAF) foram introduzidos como possíveis compostos interferentes nas proporções de concentração de 1:50 (AC: Interferente) para avaliar o impacto na corrente de pico. O sinal eletroquímico do AC exibiu baixas variações de $\pm 10\%$ na presença dos compostos interferentes (Figura 16).

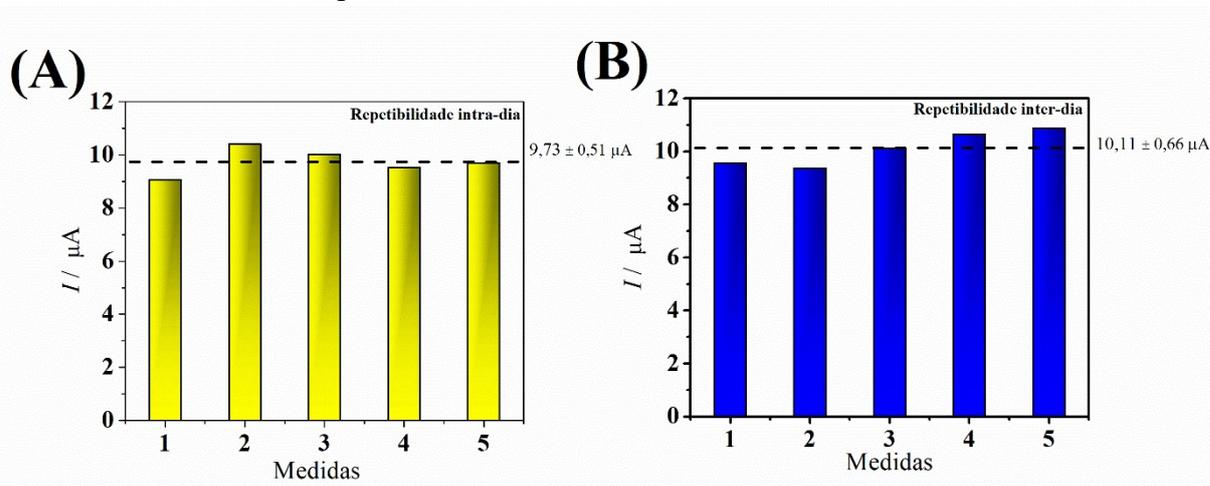
Figura 16. (A) Estudos de possíveis interferentes para AC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} e PO_4^{3-} $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Estudos de interferentes para AC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de glicose, sacarose, ácido cítrico, ácido ferúlico e cafeína $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: O autor.

Para verificar a precisão do sensor desenvolvido, os valores de desvio padrão relativo (RSD, do inglês, *relative standard deviation*) de cinco medições das correntes de pico de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AC foram estimados pela repetibilidade intra-dia e inter-dia (Figura 17). Os valores de RSD foram calculados como 5,23% e 6,50% para intra-dia e inter-dia, respectivamente. Os resultados indicaram que o sensor desenvolvido exibiu precisão satisfatória, pois os valores registrados foram abaixo de $\frac{2}{3}$ do RSD de Horwitz (onde esse valor é calculado como $2^{(1-0,51\log C)}$, com C representando a fração mássica do analito em g g^{-1}) [65].

Figura 17. Medidas obtidas por SWV para AC $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando o sensor Gr-AuNP-extB/GCE no estudo de repetibilidade (A) intra-dia e (B) inter-dia. A linha pontilhada indica a média das medidas de repetibilidade.

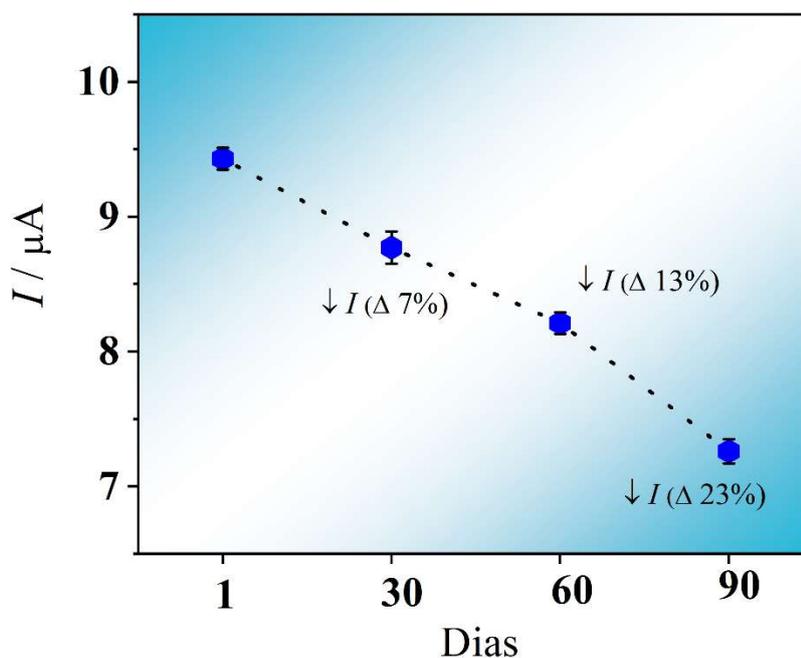


Fonte: O autor.

A estabilidade do filme foi avaliada sem a presença de AC (branco) analisando a corrente registrada na região do pico potencial do AC durante o primeiro ciclo e após realizar 20 ciclos contínuos em solução tampão B-R (pH 2,0). Os resultados obtidos demonstraram que a degradação do filme foi de 9,6%, indicando alta estabilidade do filme ao longo do tempo. Este estudo reforça a capacidade de extratos vegetais de formar filmes estáveis em substratos sólidos.

A estabilidade da dispersão de Gr-AuNP-extB foi investigada ao longo de quatro meses (Figura 18). Os sinais analíticos fornecidos pelo sensor com a mesma dispersão para o AC diminuíram cerca de 7% após dois meses, 13% após três meses e 23% após quatro meses, quando comparados com a primeira resposta de corrente, medidas no primeiro dia em relação ao preparo da dispersão. Este estudo mostrou que a dispersão de Gr-AuNP-extB forneceu dados satisfatórios com até 2 meses de armazenamento, com a resposta do sensor sendo prejudicada após este período. Esta avaliação corrobora outros estudos utilizando extratos de plantas como agentes estabilizadores para nanomateriais, que mostraram estabilidade satisfatória até 2 a 3 meses de armazenamento [66–68]. Assim, a dispersão de Gr-AuNP-extB/GCE foi armazenada a 4° C por até 2 meses e sintetizada novamente após este período.

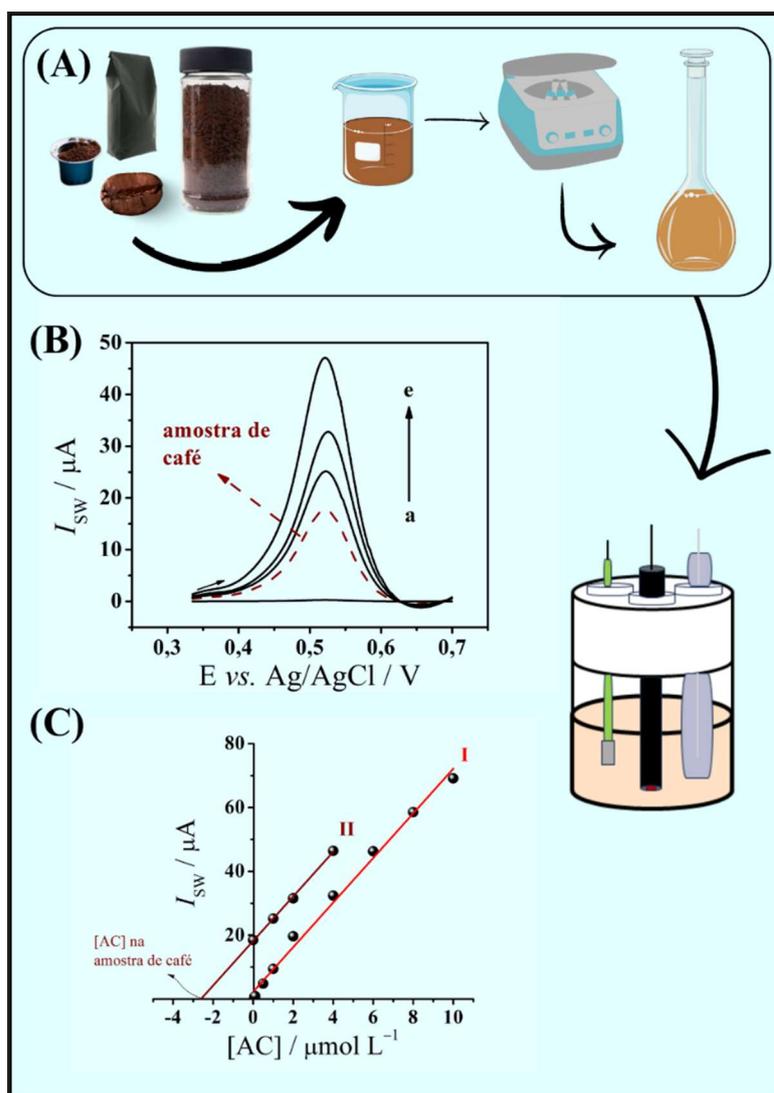
Figura 18. Respostas de corrente para o estudo de estabilidade de dispersão Gr-AuNP-extB, onde (\downarrow) representa a diminuição da corrente em relação à primeira medida registrada. Condições experimentais: solução tampão BR 0,1 mol L⁻¹ (pH 2,0), 1,0 μmol L⁻¹ de AC usando o eletrodo modificado Gr-AuNP-extB/GCE. Condições SWV: $f = 20,0$ Hz; $a = 30,0$ mV; e $\Delta E_s = 1,0$ mV.



5.11 DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO CAFEICO EM AMOSTRAS DE CAFÉ

Para validar o procedimento proposto, foram analisadas amostras de café torrado e moído, grãos de café, café instantâneo e cápsula de café expresso (Figura 19A). O método de adição de padrão foi utilizado, onde diferentes concentrações de AC foram adicionadas às amostras. As correntes de pico foram medidas utilizando as condições voltamétricas de onda quadrada otimizadas (Figura 19B). Os dados foram obtidos em triplicata para ambas as amostras utilizando o eletrodo proposto.

Figura 19. (A) Representação esquemática da preparação das amostras de café e dos ensaios voltamétricos. (B) Voltamogramas de onda quadrada usando o Gr-AuNP-extB/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH 2,0): para (a) branco, (b) alíquota de 200 μL de café torrado e moído, e adições de (c-d) 100 μL, e (e) 200 μL de solução padrão de 0,1 mmol L⁻¹ de AC. (C) Curva de calibração de externa para o AC (I) e curva de calibração por adição de padrão (II) para o AC. Parâmetros SWV: *a*: 30 mV, *f*: 20 Hz, e ΔEs: 1 mV.



As curvas de calibração externa e por adição de padrão exibiram inclinações semelhantes para as quatro amostras (Figura 19C). Assim, fez-se uma comparação das inclinações usando o teste t , assumindo variâncias iguais [69]. Nove graus de liberdade ($n_1 + n_2 - 4$; 95% de confiança) foram usados, onde n_1 e n_2 denotam o número de pontos de cada curva. A inclinação e o desvio padrão dos resíduos ($s_{y/x}$) de ambas as curvas foram usados para determinar os valores de $t_{\text{calculado}}$. Assim, foi determinado que não existia diferença significativa entre as inclinações. Essa conclusão foi baseada na comparação dos valores de $t_{\text{calculado}}$ (entre 0,69 e 1,72 para amostras de café) com o $t_{\text{crítico}}$ (2,26). Portanto, foi inferido que a presença de componentes da matriz do café não influencia na determinação do AC.

Os dados foram obtidos em triplicata para ambas as amostras usando o eletrodo proposto (Tabela 6). Uma alta concentração de AC foi observada em café torrado moído e grãos de café ($0,58 \pm 0,05 \text{ mg g}^{-1}$ e $0,64 \pm 0,04$, respectivamente) em relação ao café instantâneo e cápsulas de café expresso ($0,44 \pm 0,05$ e $0,50 \pm 0,02 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente). Essa diferença também foi relatada por Mills *et al.* (2013) em um estudo que utilizou a técnica de LC-MS para quantificar ácidos clorogênicos totais (CGAs) em amostras de café moído e instantâneo. Este estudo revelou níveis mais baixos de CGAs no café instantâneo, possivelmente devido a um maior grau de processamento dos grãos [70].

Tabela 6. Determinação de AC em amostras de café utilizando o eletrodo Gr-AuNP-extB/GCE,

Amostras	Determinado ^a				Valor de F^b	Valor de t	Adicionado	Encontrado ^a	Recuperado ^d
	SWV		UV-Vis				SWV	SWV	
	$\mu\text{mol L}^{-1}$	mg g^{-1}	$\mu\text{mol L}^{-1}$	mg g^{-1}			$\mu\text{mol L}^{-1}$	%	
Café torrado e moído	2,59 ± 0,22	0,58 ± 0,05	20,3 ± 0,8	0,55 ± 0,02	6,25	0,96	0,50	3,11	103 - 106
							2,00	4,62	99 - 104
Grãos de café moído	2,83 ± 0,19	0,64 ± 0,04	25,5 ± 1,2	0,69 ± 0,03	1,39	1,73	0,50	3,32	96 - 100
							2,00	4,85	100 - 102
Café instantâneo	2,13 ± 0,25	0,44 ± 0,05	15,6 ± 0,9	0,42 ± 0,02	6,25	0,64	0,50	2,63	98 - 101
							2,00	4,14	97 - 104
Cápsula de café expresso	2,39 ± 0,12	0,50 ± 0,02	17,0 ± 1,0	0,46 ± 0,03	2,25	1,92	0,50	2,88	98 - 100
							2,00	4,40	99 - 102

^aMédia de três medições sob as mesmas condições experimentais;

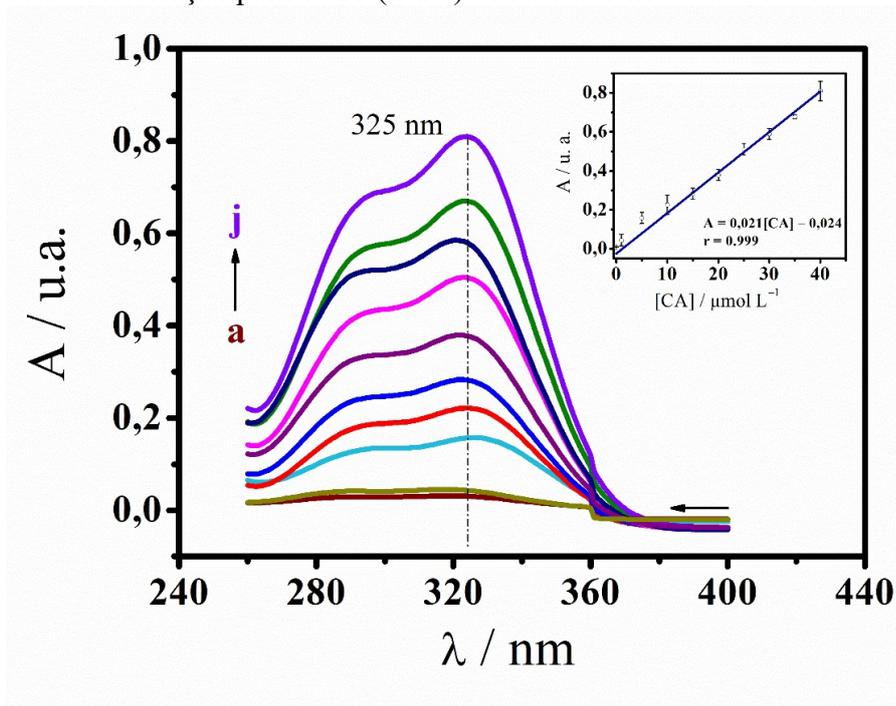
^b $F_{\text{crítico}} = 19,0$ (graus de liberdade = 2);

^c $t_{\text{crítico}} = 2,77$ (graus de liberdade = 4);

^dRecuperação = [(concentração encontrada – concentração determinada) / concentração adicionada] × 100.

Para avaliar a exatidão e precisão das medidas, utilizou-se a espectroscopia UV-vis como método comparativo e compararam-se os resultados obtidos por ambos os métodos. A absorção máxima registrada em 325 nm foi utilizada para construir a curva de calibração, onde se observa que a absorbância é linearmente proporcional ao aumento da concentração de AC (Figura 20).

Figura 20. (A) Espectros de absorção molecular para diferentes concentrações de AC: (a) branco, (b) 1,0; (c) 5,0; (d) 10,0; (e) 15,0; (f) 20,0; (g) 25,0; (h) 30,0; (i) 35,0; (j) 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Inserido: Curva de calibração para o AC ($n = 3$).



Fonte: O autor.

O teste F foi utilizado para comparar a precisão dos resultados obtidos pelos métodos eletroquímico e espectrométrico. Os valores de F calculados para as amostras (conforme a Tabela 6) foram menores que o $F_{\text{crítico}} = 19,2$ (para dois graus de liberdade), sugerindo que não há diferença na precisão dos dados obtidos pelos dois métodos. Em seguida, o teste t foi aplicado para comparar as médias fornecidas pelos métodos. O valor de t tabelado é obtido a partir da tabela da distribuição de Student para $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade e um nível de confiança de 95%. Quando o valor de t calculado é menor que o t crítico, conclui-se que não há diferença significativa entre as médias. Todos os valores calculados foram inferiores ao $t_{\text{crítico}} = 2,31$ (para quatro graus de liberdade), indicando que não houve diferença significativa entre as médias obtidas pelos dois métodos.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, um novo sensor eletroquímico foi desenvolvido através da modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com um filme contendo nanopartículas de ouro, estabilizadas em extrato de banana, e grafeno. Os parâmetros experimentais foram otimizados, conferindo um aumento no sinal analítico, em comparação ao eletrodo não modificado.

O extrato da banana permitiu a formação e estabilização das nanopartículas de ouro com formato esférico e tamanhos médios de 13,5 nm confirmados pelas técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e espectroscopia de absorção molecular na região do UV-vis. Além disso, foi possível obter uma dispersão estável com o grafeno, permitindo a formação de filmes sobre a superfície do eletrodo. Esse compósito nanoestruturado proporcionou uma resposta de corrente aprimorada em relação ao eletrodo não modificado, devido à sua alta condutividade e maior área superficial. O efeito sinérgico entre as nanopartículas de ouro e o grafeno resultou em um aumento de corrente na determinação do analito, devido à menor resistência à transferência de elétrons, facilitando o processo de oxirredução do ácido cafeico. Esses resultados foram confirmados pelas técnicas de espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica.

Vale ressaltar que o sensor apresentou adequada sensibilidade e estabilidade para o ácido cafeico. Além disso, foi demonstrado que não houve uma variação significativa de corrente na presença de possíveis interferentes na determinação voltamétrica do analito. Desta maneira, quatro amostras de café foram analisadas, e em todas, foi confirmada a presença de ácido cafeico. A exatidão do sensor proposto foi avaliada pelo teste de adição e recuperação, obtendo-se resultados na faixa de 96 a 106%. A precisão e a exatidão do sensor proposto também foi avaliada pela espectroscopia UV-Vis como método comparativo. Devidos a facilidade de construção, e características analíticas satisfatórias, conclui-se que este método é uma alternativa viável para quantificar ácido cafeico em amostras de café.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] C. Rolfo, A.F. Cardona, A. Ruiz-Patiño, S. Ariza, L. Zatarain-Barron, L.E. Pino, L. Viola, A. Russo, L. Rojas, L. Ricaurte, O. Arrieta, Atypical Skin Manifestations During Immune Checkpoint Blockage in Coronavirus Disease 2019–Infected Patients With Lung Cancer, *J. Thorac. Oncol.* 15 (2020) 1767–1772.
- [2] N. Pavlíková, Caffeic Acid and Diseases—Mechanisms of Action, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2022) 588.
- [3] S. Jadoun, R. Arif, N.K. Jangid, R.K. Meena, Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review, *Environ. Chem. Lett.* 19 (2021) 355–374.
- [4] C. Porro, A. Cianciulli, M.A. Panaro, A cup of coffee for a brain long life, *Neural Regen. Res.* 19 (2024) 158–159.
- [5] S. Safe, J. Kothari, A. Hailemariam, S. Upadhyay, L.A. Davidson, R.S. Chapkin, Health Benefits of Coffee Consumption for Cancer and Other Diseases and Mechanisms of Action, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 2706.
- [6] E. Erskine, B. Gültekin Subaşı, B. Vahapoglu, E. Capanoglu, Coffee Phenolics and Their Interaction with Other Food Phenolics: Antagonistic and Synergistic Effects, *ACS Omega.* 7 (2022) 1595–1601.
- [7] H. Bosso, S.M. Barbalho, R. de Alvares Goulart, A.M.M.B. Otononi, Green coffee: economic relevance and a systematic review of the effects on human health, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 63 (2023) 394–410.
- [8] Y. Rhee, Y. Choi, J. Park, H.R. Park, K. Kim, Y.H. Kim, Association between coffee consumption and periodontal diseases: a systematic review and meta-analysis, *BMC Oral Health.* 22 (2022) 272.
- [9] A.G. Trifan, I.M. Apetrei, Development of Novel Electrochemical Biosensors Based on Horseradish Peroxidase for the Detection of Caffeic Acid, *Appl. Sci.* 13 (2023) 2526.
- [10] N.N. Muhammad Abdul Kadar, F. Ahmad, S.L. Teoh, M.F. Yahaya, Caffeic Acid on Metabolic Syndrome: A Review, *Molecules.* 26 (2021) 5490.
- [11] N. Shen, T. Wang, Q. Gan, S. Liu, L. Wang, B. Jin, Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity, *Food Chem.* 383 (2022) 132531.
- [12] Y. Zhang, P. Cai, G. Cheng, Y. Zhang, A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity, *Nat. Prod. Commun.* 17 (2022) 1934578X2110697.
- [13] F. Khan, N.I. Bamunuarachchi, N. Tabassum, Y.-M. Kim, Caffeic Acid and Its

- Derivatives: Antimicrobial Drugs toward Microbial Pathogens, *J. Agric. Food Chem.* 69 (2021) 2979–3004.
- [14] M. Kuznowicz, T. Rębiś, A. Jędrzak, G. Nowaczyk, M. Szybowski, T. Jesionowski, Glucose determination using amperometric non-enzymatic sensor based on electroactive poly(caffeic acid)@MWCNT decorated with CuO nanoparticles, *Microchim. Acta.* 189 (2022) 159.
- [15] M. Alam, S. Ahmed, A.M. Elasbali, M. Adnan, S. Alam, M.I. Hassan, V.R. Pasupuleti, Therapeutic Implications of Caffeic Acid in Cancer and Neurological Diseases, *Front. Oncol.* 12 (2022).
- [16] S. Maity, M. Kinra, M. Nampoothiri, D. Arora, K.S.R. Pai, J. Mudgal, Caffeic acid, a dietary polyphenol, as a promising candidate for combination therapy, *Chem. Pap.* 76 (2022) 1271–1283.
- [17] H. Silva, N.M.F. Lopes, Cardiovascular Effects of Caffeic Acid and Its Derivatives: A Comprehensive Review, *Front. Physiol.* 11 (2020) 1–20.
- [18] B.S. Chhikara, K. Parang, Chemical Biology LETTERS Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis, *Chem. Biol. Lett. Chem. Biol. Lett.* 2023 (2023) 1–16. <https://pubs.thesciencein.org/cbl>.
- [19] N. Rajendra Prasad, A. Karthikeyan, S. Karthikeyan, B. Venkata Reddy, Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line, *Mol. Cell. Biochem.* 349 (2011) 11–19.
- [20] M. Alam, G.M. Ashraf, K. Sheikh, A. Khan, S. Ali, M.M. Ansari, M. Adnan, V.R. Pasupuleti, M.I. Hassan, Potential Therapeutic Implications of Caffeic Acid in Cancer Signaling: Past, Present, and Future, *Front. Pharmacol.* 13 (2022).
- [21] F.E. Guaouguau, M.A. Ahl Bebaha, S. Yadlapalli, K. Taghzouti, N.E. Es-Safi, Structural characterization of bioactive compounds in *Cotula cinerea* extracts by ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode array and high-resolution time-of-flight mass spectrometry detectors, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 34 (2020) 1–11.
- [22] S. Yang, Y. Han, K. Wang, Y. Wang, L. Li, N. Li, X. Xu, Simultaneous determination of four phenolic acids in traditional Chinese medicine by capillary electrophoresis-chemiluminescence, *RSC Adv.* 11 (2021) 33996–34003.
- [23] F. Zamarchi, T.R. Silva, J.P. Winiarski, E.R. Santana, I.C. Vieira, Polyethylenimine-Based Electrochemical Sensor for the Determination of Caffeic Acid in Aromatic Herbs, *Chemosensors.* 10 (2022) 357.

- [24] Y. Li, Y. Yang, Y. Huang, J. Li, P. Zhao, J. Fei, Y. Xie, An ultrasensitive dietary caffeic acid electrochemical sensor based on Pd-Ru bimetal catalyst doped nano sponge-like carbon, *Food Chem.* 425 (2023) 136484.
- [25] A.V. Bounegru, C. Apetrei, Voltamperometric Sensors and Biosensors Based on Carbon Nanomaterials Used for Detecting Caffeic Acid—A Review, *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020) 9275.
- [26] R. Mostafazadeh, A. Ghaffarinejad, F. Tajabadi, A caffeic acid electrochemical sensor amplified with GNR/CoFe₂O₄@NiO and 1-Ethyl-3-methylimidazolium acetate; a new perspective for food analysis, *Food Chem. Toxicol.* 167 (2022) 113312.
- [27] L. Dou, H. Han, B. Yang, C. Lin, S. Pan, Q. Li, P. Yan, D. Zhao, X. Chang, J. Li, Rapid determination of quercetin and caffeic acid in honeysuckle tea by high efficiency electrochemical sensor, *J. Food Meas. Charact.* 17 (2023) 5821–5827.
- [28] S.J. Nadaf, N.R. Jadhav, H.S. Naikwadi, P.L. Savekar, I.D. Sapkal, M.M. Kambli, I.A. Desai, Green synthesis of gold and silver nanoparticles: Updates on research, patents, and future prospects, *OpenNano.* 8 (2022) 100076.
- [29] M. Jannathul Firdhouse, P. Lalitha, Biogenic green synthesis of gold nanoparticles and their applications – A review of promising properties, *Inorg. Chem. Commun.* 143 (2022) 109800.
- [30] A.B. Sengul, E. Asmatulu, Toxicity of metal and metal oxide nanoparticles: a review, *Environ. Chem. Lett.* 18 (2020) 1659–1683.
- [31] N. Abid, A.M. Khan, S. Shujait, K. Chaudhary, M. Ikram, M. Imran, J. Haider, M. Khan, Q. Khan, M. Maqbool, Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review, *Adv. Colloid Interface Sci.* 300 (2022) 102597.
- [32] K. Ranhoszek-Soliwoda, E. Tomaszewska, K. Małek, G. Celichowski, P. Orłowski, M. Krzyzowska, J. Grobelny, The synthesis of monodisperse silver nanoparticles with plant extracts, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 177 (2019) 19–24.
- [33] R.H. Taha, Green synthesis of silver and gold nanoparticles and their potential applications as therapeutics in cancer therapy; a review, *Inorg. Chem. Commun.* 143 (2022) 109610.
- [34] I. Hammami, N.M. Alabdallah, A. Al Jomaa, M. Kamoun, Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications, *J. King Saud Univ. - Sci.* 33 (2021) 101560.
- [35] F. Khan, M. Shariq, M. Asif, M.A. Siddiqui, P. Malan, F. Ahmad, Green Nanotechnology: Plant-Mediated Nanoparticle Synthesis and Application,

- Nanomaterials. 12 (2022) 673.
- [36] S. Ying, Z. Guan, P.C. Ofoegbu, P. Clubb, C. Rico, F. He, J. Hong, Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations, *Environ. Technol. Innov.* 26 (2022) 102336.
- [37] N. Rani, P. Singh, S. Kumar, P. Kumar, V. Bhankar, K. Kumar, Plant-mediated synthesis of nanoparticles and their applications: A review, *Mater. Res. Bull.* 163 (2023) 112233.
- [38] A. Etienne, M. Génard, D. Bancel, S. Benoit, C. Bugaud, A model approach revealed the relationship between banana pulp acidity and composition during growth and post harvest ripening, *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 162 (2013) 125–134.
- [39] Y.M. Bashmil, A. Ali, A. BK, F.R. Dunshea, H.A.R. Suleria, Screening and Characterization of Phenolic Compounds from Australian Grown Bananas and Their Antioxidant Capacity, *Antioxidants*. 10 (2021) 1521.
- [40] P. Xie, W. Yuan, X. Liu, Y. Peng, Y. Yin, Y. Li, Z. Wu, Advanced carbon nanomaterials for state-of-the-art flexible supercapacitors, *Energy Storage Mater.* 36 (2021) 56–76.
- [41] L.N. Sacco, S. Vollebregt, Overview of Engineering Carbon Nanomaterials Such As Carbon Nanotubes (CNTs), Carbon Nanofibers (CNFs), Graphene and Nanodiamonds and Other Carbon Allotropes inside Porous Anodic Alumina (PAA) Templates, *Nanomaterials*. 13 (2023) 260.
- [42] F.C. Barreto, K. Martin, Copper Nanoparticles and Reduced Graphene Oxide as an Electrode Modifier for the Development of an Electrochemical Sensing Platform for Chloroquine Phosphate Determination, (2023).
- [43] H. Beitollahi, M. Safaei, S. Tajik, H. Technology, Application of Graphene and Graphene Oxide for modification of electrochemical sensors and biosensors : A review, 10 (2019) 125–140.
- [44] V.B. Patil, S.J. Malode, S.M. Tuwar, N.P. Shetti, Graphene sheet-based electrochemical sensor with cationic surfactant for sensitive detection of atorvastatin, *Sensors Int.* 3 (2022) 100198.
- [45] P.M. Biranje, A.W. Patwardhan, J.B. Joshi, K. Dasgupta, Exfoliated graphene and its derivatives from liquid phase and their role in performance enhancement of epoxy matrix composite, *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* 156 (2022) 106886.
- [46] H. Xu, L. Chen, D.J. McClements, H. Cheng, J. Long, Z. Jin, Development and characterization of active starch-based films incorporating graphene/polydopamine/Cu²⁺ nanocomposite fillers, *Carbohydr. Polym.* 305 (2023) 120498.

- [47] A. Liang, X. Jiang, X. Hong, Y. Jiang, Z. Shao, D. Zhu, Recent Developments Concerning the Dispersion Methods and Mechanisms of Graphene, *Coatings*. 8 (2018) 33.
- [48] B.K. Salunke, B.S. Kim, Facile synthesis of graphene using a biological method, *RSC Adv.* 6 (2016) 17158–17162.
- [49] H. Wang, G.J. Provan, K. Helliwell, Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC, *Food Chem.* 87 (2004) 307–311.
- [50] T. Ahmad, M.A. Bustam, M. Irfan, M. Moniruzzaman, H.M.A. Asghar, S. Bhattacharjee, Mechanistic investigation of phytochemicals involved in green synthesis of gold nanoparticles using aqueous *Elaeis guineensis* leaves extract: Role of phenolic compounds and flavonoids, *Biotechnol. Appl. Biochem.* 66 (2019) 698–708.
- [51] N.G. Khlebtsov, Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from Extinction Spectra, *Anal. Chem.* 80 (2008) 6620–6625.
- [52] L.G. Baumgarten, A.A. Freitas, E.R. Santana, J.P. Winiarski, J.P. Dreyer, I.C. Vieira, Graphene and gold nanoparticle-based bionanocomposite for the voltammetric determination of bisphenol A in (micro)plastics, *Chemosphere*. 334 (2023) 139016.
- [53] V. Bressi, A. Ferlazzo, D. Iannazzo, C. Espro, Graphene Quantum Dots by Eco-Friendly Green Synthesis for Electrochemical Sensing: Recent Advances and Future Perspectives, *Nanomaterials*. 11 (2021) 1120.
- [54] D. L. Ferreira, E. M. Alves, G. R. de Sousa, P. H. B. Ferreira, J. M. A. Figueiredo, N. B. Leite, J. A. Moreto, Electrochemical Impedance Spectroscopy: Basic Principles and Some Applications, *Rev. Virtual Química*. 15 (2023) 436–552.
- [55] C. Giacomelli, K. Ckless, D. Galato, F.S. Miranda, A. Spinelli, Electrochemistry of Caffeic Acid Aqueous Solutions with pH 2.0 to 8.5, *J. Braz. Chem. Soc.* 13 (2002) 332–338.
- [56] R. Nehru, Y.-F. Hsu, S.-F. Wang, Electrochemical determination of caffeic acid in antioxidant beverages samples via a facile synthesis of carbon/iron-based active electrocatalyst, *Anal. Chim. Acta*. 1122 (2020) 76–88.
- [57] R. Hegde, P. Vishwanatha, S. Nandibewoor, Voltammetric Assessment of 8-Oxoguanine at a Nano-Structured Carbon Materials Based Modified Glassy Carbon Electrode, *Brazilian J. Anal. Chem.* (2022).
- [58] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2000.
- [59] A. Bounegru, C. Apetrei, Voltammetric Sensors Based on Nanomaterials for Detection of Caffeic Acid in Food Supplements, *Chemosensors*. 8 (2020) 41.

- [60] G. Mehmet, The Role of and the Place of Method Validation in Drug Analysis Using Electroanalytical Techniques, *Open Anal. Chem. J.* 5 (2011) 1–21.
- [61] N. Karikalan, R. Karthik, S.-M. Chen, H.-A. Chen, A voltammetric determination of caffeic acid in red wines based on the nitrogen doped carbon modified glassy carbon electrode, *Sci. Rep.* 7 (2017) 45924.
- [62] Y. Shi, H. Xu, Z. Gu, C. Wang, Y. Du, Sensitive detection of caffeic acid with trifurcate PtCu nanocrystals modified glassy carbon electrode, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 567 (2019) 27–31.
- [63] K. Pandian, D. Mohana Soundari, P. Rudra Showdri, J. Kalaiyarasi, S.C.B. Gopinath, Voltammetric determination of caffeic acid by using a glassy carbon electrode modified with a chitosan-protected nanohybrid composed of carbon black and reduced graphene oxide, *Microchim. Acta.* 186 (2019) 54.
- [64] A. Urçuk, C. Yıldız, D. Eskiköy Bayraktepe, Z. Yazan, Highly sensitive and disposable electrochemical nano sensor for simultaneous analysis of caffeic acid and uric acid based on halloysite nanotubes and magnetite nanoparticles, *Microchem. J.* 181 (2022) 107695.
- [65] A. Gustavo González, M. Ángeles Herrador, A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles, *TrAC Trends Anal. Chem.* 26 (2007) 227–238.
- [66] S. Raj, S. Chand Mali, R. Trivedi, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Encostemma axillare* (Lam.) leaf extract, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 503 (2018) 2814–2819.
- [67] E.G. Döll, E.R. Santana, J.P. Winiarski, L.G. Baumgarten, I.C. Vieira, Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Peach Extract Incorporated in Graphene for the Electrochemical Determination of Antioxidant Butylated Hydroxyanisole in Food Matrices, *Biosensors.* 13 (2023) 1037.
- [68] S. Mallick, N. Pradhan, Bio-fabrication of silver nanoparticles using *Commelina erecta*, L.: a mechanistic approach on synthesis, optimization, antibacterial, and antioxidant potential, *Bioprocess Biosyst. Eng.* 47 (2024) 495–507.
- [69] J.M. Andrade, M.G. Estévez-Pérez, Statistical comparison of the slopes of two regression lines: A tutorial, *Anal. Chim. Acta.* 838 (2014) 1–12.
- [70] C.E. Mills, M.J. Oruna-Concha, D.S. Mottram, G.R. Gibson, J.P.E. Spencer, The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee, *Food Chem.* 141 (2013) 3335–3340.