

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO
GRANDE DO SUL - *CAMPUS FELIZ*
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

LUCAS JANES DE MELO

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE RECUPERAÇÃO DE CAFÉINA PARA UM CARTUCHO
DE SPE UTILIZANDO COMO RECHEIO UM BIOSORVENTE OBTIDO A PARTIR DE
RESÍDUO DE MALTE

FELIZ
2024

LUCAS JANES DE MELO

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE RECUPERAÇÃO DE CAFEÍNA PARA UM
CARTUCHO DE SPE UTILIZANDO COMO RECHEIO UM BIOSORVENTE OBTIDO A
PARTIR DE RESÍDUO DE MALTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso Superior de Engenharia Química do
Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Rio Grande do Sul, como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dra. Suyanne Angie Lunelli Bachmann

FELIZ

2024

LUCAS JANES DE MELO

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE RECUPERAÇÃO DE CAFEÍNA PARA UM
CARTUCHO DE SPE UTILIZANDO COMO RECHEIO UM BIOSORVENTE
OBTIDO A PARTIR DE RESÍDUO DE MALTE

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de bacharelado em Engenharia Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel(a) em Engenharia Química.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Alessandra Smaniotto

Prof. Dr. Francisco Cunha da Rosa

ORIENTADOR

Prof. Dra. Suyanne Angie Lunelli Bachmann

Feliz, Dezembro de 2024.

“O acaso tem um papel fundamental no
Universo.”

Werner Heisenberg

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas dificuldades que me foram impostas e vencidas e as oportunidades que vieram até mim pelo meu empenho. Deixo um abraço especial aos meus pais e minha namorada que me incentivaram e me mostraram a capacidade que tenho dentro de mim.

Agradeço ao IFRS – Campus Feliz pela oportunidade de estudar na instituição, pelo conhecimento, pelas risadas e os amigos feitos nesse caminho. Um agradecimento a cervejaria Guampa (Feliz – RS) que disponibilizou nossa matéria-prima, ao meu amigo de trabalho de TCC e à minha orientadora que me auxiliou, cobrou, corrigiu e compartilhou seu conhecimento na condução deste estudo. Um agradecimento a UFCSPA pelo material doado ao nosso estudo também. Agradeço também a todos que de alguma forma contribuíram para a pessoa e profissional que sou hoje.

Muito obrigado!

Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	Objetivos	11
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.1	A cafeína como poluente emergente e indicador	12
3.2	Técnicas instrumentais para detecção de cafeína	14
3.3	Preparo da amostra	19
3.4	Extração em fase sólida (SPE)	19
3.4.1	Solventes.....	20
3.4.2	Capacidade máxima de adsorção.....	21
3.5	Materiais e <i>design</i> de cartuchos comerciais.....	23
3.5.1	Resíduo de malte como biossorvente	25
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	Materiais	27
4.1.1	Resíduo de malte	27
4.1.2	Reagentes	27
4.2	Equipamentos	27
4.3	Métodos	28
4.3.1	Obtenção do biossorvente.....	28
4.3.2	Determinação da capacidade máxima de adsorção recheio.....	29
4.3.3	Montagem do cartucho.....	32
4.3.4	Extração em Fase Sólida (SPE).....	33
4.3.5	Detecção de cafeína	34
4.3.6	Coleta e caracterização da amostra real.....	35
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Material biossorvente e capacidade de adsorção	38
5.2	Características físico-químicas da amostra	42
5.3	Detecção da cafeína após SPE	45
6.	CONCLUSÃO	51

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	52
REFERÊNCIAS.....	53

RESUMO

A cafeína é considerada um poluente emergente encontrado em matrizes aquosas em nível de traço ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), sendo considerado um indicador de poluição antrópica devido a sua constante presença na dieta humana, bem como baixa volatilidade e alta solubilidade em água. A quantificação e detecção em matrizes aquosas são obtidas por meio de equipamentos de alta sensibilidade como os cromatógrafos líquidos de alta eficiência (LC). Entretanto, é fundamental que haja a pré-concentração da amostra com técnicas como a extração em fase sólida (SPE). Existem cartuchos para SPE com recheio adsorptivo de sílica funcionalizada com ligantes orgânicos como octil ou fenil, que possuem elevado valor comercial e normalmente são utilizados uma única vez. Nesse sentido, os resíduos agroindustriais surgem como materiais alternativos para a obtenção de adsorventes devido sua alta disponibilidade e potencial adsorptivo. Portanto, esse trabalho propõe avaliar a eficiência de recuperação de cafeína para um cartucho de SPE utilizando como recheio um biossorvente. Para tal, sob ação de vácuo, os cartuchos (10 mL) foram condicionados com 3 mL de metanol com 3% de ácido acético (v/v), 3 mL de acetona com 3% ácido acético (v/v) e 3 mL de água com 5% de metanol (v/v). Após isso, uma solução padrão de $10\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cafeína e uma amostra de água de superfície $4\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ percolaram os cartuchos separadamente. Em seguida, foram pipetados 3 mL de metanol com 3% (v/v) seguido de 3 mL de acetona com 3% ácido acético (v/v). O eluído foi coletado e armazenado em geladeira. O extrato foi reconstituído com água/acetonitrila (95:5) até um volume final de 1 mL analisado por meio de LC-MS. A capacidade de adsorção obtida foi de $40,66\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ e a isoterma pode ser classificada tipo L4 de Giles. As análises físico-químicas realizadas nas amostras do Arroio Dilúvio, como pH, turbidez e oxigênio dissolvido indicaram a classificação Classe I conforme a Resolução CONAMA nº 357. Entretanto, são necessárias análises complementares para classificação correta. Os cartuchos biossorventes apresentaram eficiência ou recuperação de cafeína aproximadamente 38% a partir da amostra padrão de cafeína. Para amostra, o biossorvente teve recuperação superior a 41% em relação ao cartucho comercial. Apesar de maior eficiência, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os cartuchos. Estudos futuros podem verificar a aplicação em escala industrial e o desempenho em diferentes pHs e temperaturas de adsorção.

Palavras-chave: extração em fase sólida; biossorvente; resíduo de malte; cafeína, matrizes aquosas.

ABSTRACT

Caffeine is considered an emerging pollutant found in aqueous matrices at trace levels ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ and $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). It serves as an indicator of anthropogenic pollution due to its constant presence in the human diet, low volatility, and high water solubility. Quantification and detection in aqueous matrices are achieved through high-sensitivity equipment such as high-performance liquid chromatographs (LC). However, sample pre-concentration using techniques like solid-phase extraction (SPE) is essential. SPE cartridges with adsorptive fillings made of silica functionalized with organic ligands such as octyl or phenyl are commercially valuable and typically used only once. In this context, agro-industrial residues emerge as alternative materials for obtaining adsorbents due to their high availability and adsorptive potential. Thus, this study proposes evaluating the recovery efficiency of caffeine using an SPE cartridge filled with a biosorbent. Under vacuum, the cartridges (10 mL) were conditioned with 3 mL of methanol with 3% acetic acid (v/v), 3 mL of acetone with 3% acetic acid (v/v), and 3 mL of water with 5% methanol (v/v). Subsequently, a standard solution of $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ caffeine and a surface water sample of $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ were passed through the cartridges separately. Next, 3 mL of methanol with 3% acetic acid (v/v) followed by 3 mL of acetone with 3% acetic acid (v/v) were pipetted. The eluate was collected and stored under refrigeration. The extract was reconstituted with water/acetonitrile (95:5) to a final volume of 1 mL and submitted for LC-MS analysis. The adsorption capacity obtained was $40.66 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, and the isotherm could be classified as type L4 according to Giles' classification. Physicochemical analyses of samples from Arroio Dilúvio, such as pH, turbidity, and dissolved oxygen, indicated a Class I classification according to CONAMA Resolution No. 357. However, additional analyses are necessary for proper classification. The biosorbent cartridges demonstrated a caffeine recovery efficiency of approximately 38% from the standard caffeine solution. For the surface water sample, the biosorbent achieved a recovery efficiency over 41% compared to the commercial cartridge. Despite the higher efficiency, there was no significant difference ($p > 0.05$) between the cartridges. Future studies may explore industrial-scale applications and performance under different adsorption pH levels and temperatures.

Keywords: Solid-phase extraction, biosorbent, malt residue, caffeine, aqueous matrices.

1. INTRODUÇÃO

A cafeína pode ser classificada como um contaminante emergente, visto que é detectada em níveis de traço ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) em diversas matrizes aquosas, tais como: efluentes, afluentes e marítimas. Trata-se de uma das mais representativas substâncias farmacologicamente ativas dentro da classe dos poluentes emergentes devido seu alto consumo global em diversos produtos, como: bebidas energéticas e fármacos antigripais (Lara, 2015; Revelle *et al.*, 2012; Maria; Moreira, 2006).

Embora a cafeína em níveis de traço não ofereça risco considerável à saúde de seres humanos, ela serve como um importante indicador de poluição antrópica; ressalta-se, no entanto, que seres aquáticos podem sofrer danos neurotóxicos mesmo em baixas concentrações (Vieira, Soares e Freitas, 2022; Anastopoulos *et al.*, 2020; Bouhcaïn, 2022). Sendo assim, algumas relevantes características dessa molécula preconizam-na a essa categoria como, por exemplo: baixa volatilidade e alta solubilidade em água ($15 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) (Alhassen, Dyer ;Thompson, 2023.; Li, Helm e Metcalfe, 2009; Cantwell, 2016). Em outros termos, infere-se que a presença de cafeína em matrizes aquosas indica a existência de outros poluentes emergentes conexos à dieta humana, tais como: antibióticos, diuréticos e drogas psicoativas (Mondal *et al.*, 2018).

Desta forma, a detecção de cafeína é de suma importância para apontar a possível incidência de outros poluentes emergentes nas matrizes aquosas. Por exemplo, a utilização de uma técnica de quantificação como a espectrometria UV-Vis não seria tão adequada uma vez que outras substâncias podem absorver no mesmo comprimento de onda da cafeína (273 nm) acarretando em medidas incorretas (Bachmann, 2022).

Desta forma, faz-se necessário recorrer a técnicas de maior seletividade como a cromatografia líquida de alta eficiência (LC). Entretanto, nestes casos, é indispensável a utilização de técnicas para a preparação da amostra a fim de a pré concentrá-la devido à baixa concentração de analito (cafeína). Nesse sentido, a extração em fase sólida (SPE) é um dos métodos mais utilizados atualmente para concentrar amostras a nível de traço, removendo também os interferentes por mérito da eluição por solventes (Poole; Poole, 2012).

Comercialmente, a SPE utiliza-se de cartuchos em corpo cilíndrico de polipropileno (PP), sendo os recheios adsorptivos comuns constituídos por sílica ligados à grupos orgânicos como octadecil, octil e fenil (Badawy, 2022). Esses

cartuchos são caros e normalmente são utilizados uma única vez. Nesse contexto, é imperativo a busca por materiais alternativos e mais sustentáveis para os recheios (biossorventes). Esses podem ser obtidos por meio de técnicas simples e de baixo custo com insumos agroindustriais, uma vez que são produzidos em grandes volumes, apresentam fácil processamento e potencial adsorptivo (Sousa, 2018).

Nesse sentido, o resíduo de malte mostra potencial para ser utilizado como recheio em cartuchos de extração, uma vez que possui sítios ativos compatíveis para remoção de cafeína (Bachmann *et al.*, 2023). Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência de recuperação de cafeína para um cartucho de SPE utilizando como recheio um biossorvente obtido a partir de resíduo de malte.

2. Objetivos

Portanto, esse trabalho propõe avaliar a eficiência de recuperação de cafeína para um cartucho de SPE utilizando como recheio um biossorventes obtido a partir do resíduo de malte.

Além disso, os objetivos específicos deste trabalho são:

- (a) Obter um biossorvente proveniente de resíduo de malte para utilizar como recheio do cartucho;
- (b) Determinar a capacidade máxima de adsorção do biossorvente;
- (c) Comparar a eficiência do cartucho com recheio de biossorventes com um cartucho comercial.

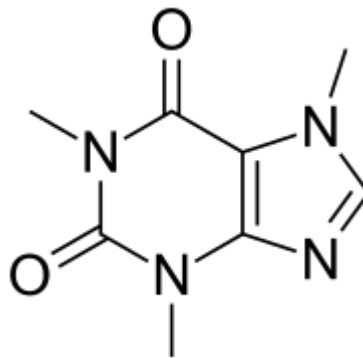
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentado um panorama da cafeína como substância química, indicador e poluente emergente. Além disso, serão debatidas as principais técnicas para detecção de cafeína, bem como a extração em fase sólida e as características principais do bioissorvente oriundo de resíduo de malte.

3.1 A cafeína como poluente emergente e indicador

A cafeína é uma base orgânica cristalina da família das purinas que pode ser classificada como um alcaloide com massa molecular de 194 g.mol^{-1} conforme a Figura 1 (Edwards; Kulikov; Neale, 2015; Revelle *et al.*, 2012).

Figura 1 - Fórmula estrutural da cafeína (1,3,7-trimetilxantina).



Fonte: Adaptado de Burdan (2015).

Ela é amplamente utilizada como aditivo alimentar podendo ser utilizada em bebidas energéticas, refrigerantes, balas e chocolates (Cappeletti, 2015; Nehlig, 2018). Ademais, devido a sua capacidade de causar melhora de humor e estado físico, ela pode ser utilizada como aditivo em fármacos (Lara, 2015; Revelle *et al.*, 2012; Maria; Moreira, 2006). Naturalmente, ela é encontrada em mais de 60 tipos de plantas, tais como: chás, erva-mate (*Ilex paraguariensis*), sementes de guaraná (*Paullinia cupana*), cacau e noz-de-cola (Burdan, 2015; Revelle *et al.*, 2012).

Devido ao seu contínuo consumo na dieta humana, a cafeína é um excelente indicador de poluição antrópica, sobretudo, de compostos farmacologicamente ativos (Li, *et al.* 2018; Dafouz, 2018). Em outras palavras, a presença de cafeína em matrizes aquosas infere a presença de outras substâncias biologicamente ativas inclusive com maior potencial tóxico. Além disso, algumas outras características promovem a

cafeína como importante marcador de poluição antrópica como, alta solubilidade em água ($15 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), baixo coeficiente octanol-água ($\log k_{ow} = -0,07$) e baixa volatilidade (Alhassen, Dyer ;Thompson, 2023.; Li, Helm e Metcalfe, 2009; Cantwell, 2016).

De acordo com a Anvisa (2018), a dose limite segura de cafeína é de $400 \text{ mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ para adultos saudáveis. Sendo assim, deduz-se que a cafeína como poluente emergente para seres humanos tem baixo potencial tóxico, contudo para seres aquáticos a toxicidade pode ser elevada mesmo a nível de traço. Estudos indicam que a cafeína pode causar nos seres aquáticos: efeitos neurotóxicos, danos à saúde celular, estresse oxidativo, bem como alteração nos processos de reprodução (Vieira, Soares e Freitas, 2022; Anastopoulos *et al.*, 2020; Bouhcain, 2022).

Ainda, diversos estudos têm mostrado a presença da cafeína em ambientes marinhos e costeiros, o que aumenta a preocupação em relação a vida selvagem desses locais (Vieira, 2022). É importante ressaltar que a contaminação da cafeína é global uma vez que já foi detectada em todos os continentes sejam em diferentes etapas do ciclo da água como esgotos domésticos, águas tratadas (potável), lagos, águas subterrâneas e água da chuva (Li *et al.*, 2019). A presença de cafeína em matrizes aquosas ocorre devido ao lançamento de esgoto não tratado e a eficiência limitada (Li *et al.* 2019; Zhu; Cheng; Li, 2013 e Li *et al.*, 2020).

Apesar dos possíveis efeitos tóxicos em seres aquáticos e indicação de outros poluentes mais perigosos, a Organização Mundial da Saúde, em sua publicação “Diretrizes para Qualidade da Água Potável” de 2017, ainda não definiu os limites máximos de detecção de cafeína. No Brasil, a legislação atualmente em vigor, isto é, a Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021, também não contempla limites para cafeína e outros poluentes emergentes. Em contraste com as regulamentações citadas, a Austrália foi pioneira em definir um limite de detecção de $350 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ em suas diretrizes para potabilidade da água (Diretrizes Australianas para Reciclagem de Água, 2022). Vale ressaltar que no norte da Austrália (*Darwin Harbour*) foi detectada a maior concentração de cafeína em águas marítimas, isto é, $11 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Dafouz *et al.*, 2018).

O surgimento de novos requisitos legais associado aos riscos ambientais decorrentes da presença da cafeína em ambientes aquáticos, tem impulsionado o avanço de métodos de determinação analítica. A detecção dos poluentes emergentes em geral requer métodos analíticos muito sensíveis e seletivos para a detecção a nível de traço, como: LC-MS (Montagner *et al.*, 2008, Martín-Pozo *et al.*, 2019).

Comumente, as amostras ambientais incluem diversos interferentes em concentrações até mais altas que o analito de interesse (Montagner *et al.*, 2008). Ou seja, a etapa de pré-concentração da amostra facilitar sua detecção e quantificação. Sendo assim, a SPE é uma das principais técnicas para esse fim devido a sua simplicidade, em relação à extração líquido-líquido (LLE) e microextração em fase sólida (SPME).

3.2 Técnicas instrumentais para detecção de cafeína

Uma técnica bastante utilizada devido a sua simplicidade e disponibilidade é a espectrometria de absorção molecular UV-Vis (Alves *et al.*, 2010). Sendo uma técnica em que os íons ou moléculas absorvem fótons no comprimento de absorção específico, sendo excitados para níveis mais energéticos. Sendo assim, a quantidade de analito é proporcional à quantidade de radiação eletromagnética absorvida (Gomes, 2018).

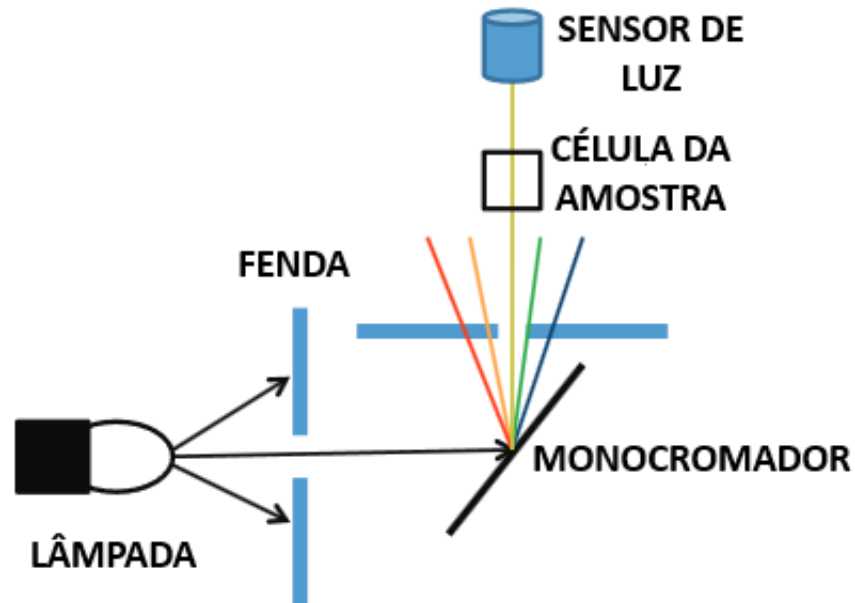
É indicada para pequenas moléculas orgânicas e inorgânicas, e de baixo custo operacional, entretanto, como qualquer técnica possui algumas imitações. Em condições a nível de traço, é necessário utilizar cubetas com maior caminho óptico que demandam maior quantidade de amostra (Galo; Colombo, 2009). Além disso, em amostras de água reais, outras substâncias podem absorver luz no mesmo comprimento de onda da cafeína e interferir na quantificação dela (Bachmann, 2022).

Assim, como citado anteriormente, para a identificação de poluentes emergentes, como é o caso da cafeína, pode ser necessário recorrer a técnicas analíticas de alta seletividade, eficiência e baixos limites de detecção como as técnicas cromatográficas (Simomukay *et al.*, 2022). A LC é a técnica instrumental de separação mais utilizada devido seletividade e aplicabilidade a diversos componentes orgânicos (Skoog; Holer; Nieman, 2002). Basicamente, o equipamento é composto pela(s) bomba(s), injetor, coluna(s), detector e dispositivo de tratamento de dados (Lundanes, Reubsaet; Greibrokk, 2014).

Diversos tipos de detectores podem ser utilizados (Lundanes, Reubsaet; Greibrokk, 2014). Vale ressaltar que o detector desempenha um papel crucial para a LC já que monitora o fluxo da fase móvel em algum ponto da coluna (Vogel, 2017). Os principais detectores são: ultravioleta (UV) e/ou luz visível (UV-VIS), detector de arranjo de diodo (DAD) e detector por Espectroscopia de Massa (MS).

A LC com detecção ultravioleta (UV) e/ou luz visível (UV-VIS) consiste em uma emissão luminosa que se dispersa em diferentes tipos de comprimento de onda por meio de um monocromador (Lundanes, Reubsaet; Greibrokk, 2014). Ou seja, somente comprimentos de onda selecionados perpassam pela amostra conforme a Figura 2.

Figura 2 – Sistemática do detector UV ou UV-Vis.

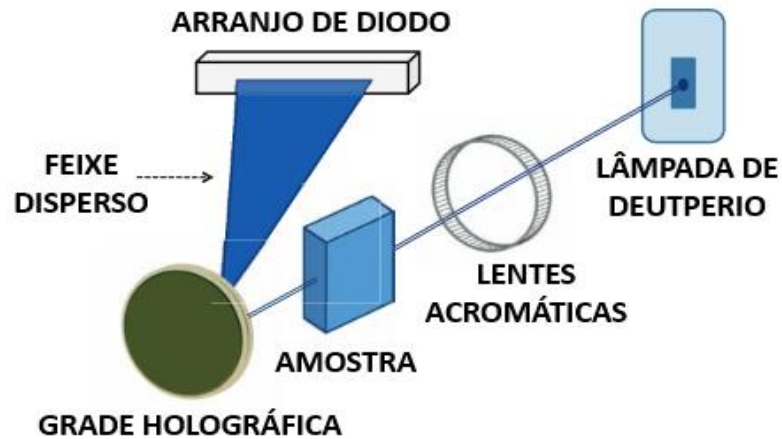


Fonte: Adaptado de (Lundanes, Reubsaet; Greibrokk, 2014).

O mecanismo de funcionamento do detector UV e UV-Vis é muito similar, no entanto alguns detectores têm limitações apenas para UV o que compreende os comprimentos de 190 a 400 nm (Skoog; Holer; Nieman, 2002). Essa técnica tem seletividade por substâncias cromóforas como compostos aromáticos, alcenos e fenólicos com limite de detecção de 0,1 a 1,0 ng·L⁻¹(Lundanes, Reubsaet; Greibrokk, 2014).

Por outro lado, a técnica de LC com detector de arranjo de diodo consiste na passagem de uma luz branca pela amostra que é espalhada em diferentes comprimentos de onda por uma grade holográfica sendo medida no plano focal por diversos fotodiodos conforme a Figura 3 (Lundanes, Reubsaet; Greibrokk, 2014).

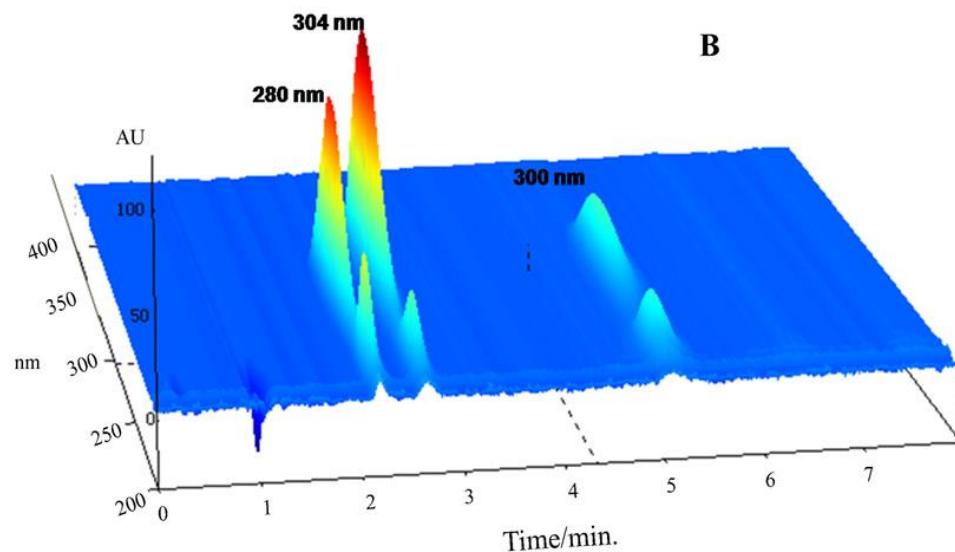
Figura 3 – Sistemática do detector UV ou UV-Vis.



Fonte: Adaptado de (Lundanes, Reubsaet e Greibrokk, 2014).

Além disso, a amostra pode ser quantificada já que um gráfico tridimensional pode ser plotado com a absorbância como função do comprimento de onda e tempo como na Figura 4 (Skoog, Holer; Nieman, 2002). A luz branca pode ser obtida a partir de uma lâmpada de deutério ou tungstênio, sendo que a primeira pode ser a partir de 190 nm até o espectro visível (400 – 700 nm) e a segunda em comprimentos de onda até 950 nm (Lundanes, Reubsaet e Greibrokk, 2014).

Figura 4 – Cromatograma da separação de três guanilhidrazonas por HPLC acoplado com DAD.



Fonte: Brito *et al.*, 2017.

A LC também pode trabalhar com a detecção por espectroscopia de massa que pode ser utilizada desde que a substância em interesse seja transferida para fase gasosa e ionizada (Lundanes, Reubsaet e Greibrokk, 2014). Sendo assim, a separação dos íons ocorre devido a razão massa/carga, logo é possível detectar e quantificar substâncias a nível de traços, principalmente em matrizes biológicas (Segalin, 2015). Dessa forma, o Quadro 1, traz algumas vantagens e desvantagens sobre as técnicas comentadas.

Conforme vislumbrado, os poluentes emergentes dependem de técnicas com alta seletividade. As técnicas que utilizam como analito substâncias cromóforas podem ter sua sensibilidade significativamente afetada pela escolha do solvente devido a absorção eletromagnética principalmente em baixos comprimentos de onda (Swartz, 2012).

Além disso, a espectrometria de massa depende de um detector por impacto de íons. Esse detector necessita desse impacto para que seja gerado o sinal elétrico. Como esse detector em si não é seletivo, o íon que chega deve ser previamente separado em um separador de massas, tais como quadrupolo, tempo de voo, octapolo, etc. Então, a resolução desses equipamentos depende muito desses separadores. Por isso, um HPLC-MS com qTOF (Quadro 1), por exemplo, é considerado de alta resolução, pois ele conta com dois separadores de massa em série, o quadrupolo e o TOF. Para este trabalho, foi utilizada a técnica de LC-MS, uma vez que atende aos requisitos exigidos propostos para o trabalho por se tratar de um detector universal com altas resoluções.

Quadro 1 – Comparação entre detectores de LC.

Nome da técnica	Sigla	Vantagens	Desvantagens
Cromatografia líquida de alta eficiência por detecção de luz ultravioleta e visível	LC-UV/Vis	Técnica de baixo custo, versátil e robusta para compostos cromóforos. (BACHHAV, 2023).	As interferências presentes no solvente ou matriz podem absorver luz no comprimento de onda do analito prejudicando a detecção (SUPELCO, 2021).
Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodo	LC-DAD	Registro da absorvância de vários comprimentos de onda simultaneamente com mínima perda de sensibilidade em compostos cromóforos (SKOOG, 2002).	Relativamente mais caro que a LC – UV/Vis.
Cromatografia líquida de alta eficiência por espectrometria de massas	LC-MS	Além de ser um detector universal, apresenta alta robustez, automatização e performance (ALI, 2023).	Quando operado em altas resoluções se perde sensibilidade. Além disso, possui elevado custo de manutenção e operação (LANÇAS, 2013).
Cromatografia líquida de alta eficiência por espectrometria de massas por análise de voo	LC-MS-qTOF	A obtenção dos espectros não se baseia em fendas ou varreduras de campos elétricos ou magnéticos, isto é, há maior rapidez na obtenção do espectro (CARDOSO, PONTES e de SOUZA, 2001).	Baixa resolução e precisão para massas acima de 500.000 Da. Ademais, exige eletrônica altamente sofisticada (LANÇAS, 2013).

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.1 Preparo da amostra

Embora as técnicas instrumentais atuais sejam altamente sofisticadas, o preparo é uma etapa crucial para a realização das análises cromatográficas (Hiram; Iris, 2019). Uma matriz ambiental pode conter diversos interferentes que prejudicam a identificação e quantificação da espécie alvo (Hiram; Iris, 2019; Borges; Pereira; Mano, 2018). No caso do metanol, solvente utilizado para eluição da cafeína, a absorção se dá em 260 nm, isto é, próxima à da cafeína de 275 nm (Bitencourt *et al.*, 2012).

Dessa forma, a preparação da amostra geralmente visa a concentrar os analitos diminuindo interferências (Hiram e Iris, 2019). Como citado anteriormente, a cafeína está presente a nível de traço, portanto é necessária uma etapa de concentração deste analito para remoção máxima dos interferentes e obtenção de resultados concisos (Borges, Pereira e Mano, 2018).

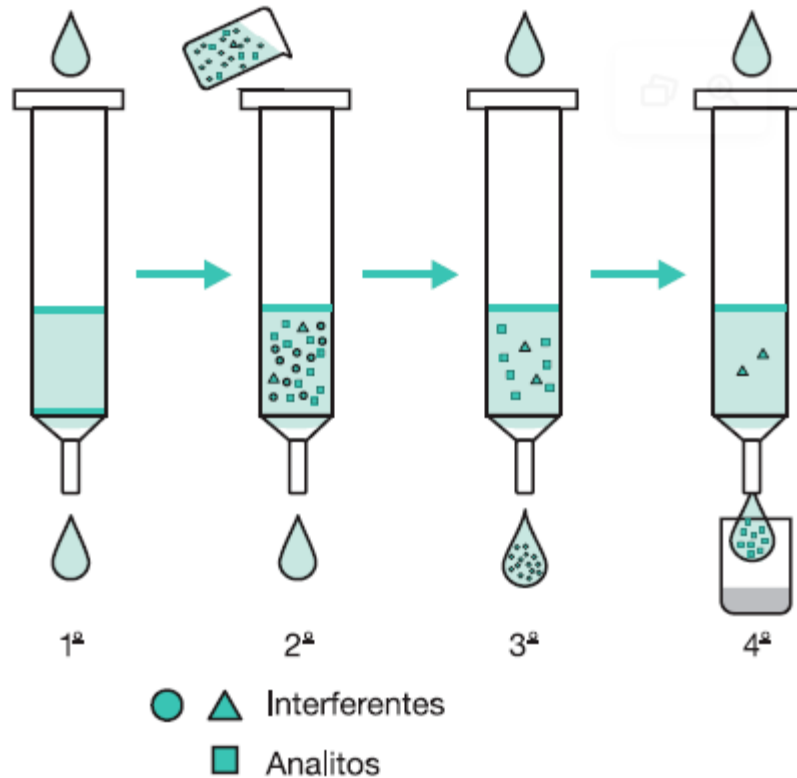
3.2.2 Extração em fase sólida (SPE)

A extração em fase sólida é uma das técnicas mais utilizadas para pré-concentrar e isolar analitos presentes em fluidos, líquidos ou gases (Poole; Poole, 2012 e Montagner *et al.*, 2008). O material adsorvido tem mais afinidade pelo adsorvente (fase sólida) que pela fase móvel (Vogel; Hiram, 2010).

Entretanto, a SPE apresenta uma importante vantagem em relação à ELL já que utiliza volumes menores de solventes (Montagner *et al.*, 2008). Além disso, é uma técnica de fácil automação e com diversidade de adsorventes disponíveis (ASHRA *et al.*, 2024). Essa técnica foi produzida comercialmente, respectivamente, em 1970 e 1978 em cartuchos descartáveis (Jardim, 2015).

A ideia principal da SPE é concentrar os analitos que podem estar em quantidades de traços, isto é, $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, o que permite analisar amostras farmacêuticas, ambientais e de alimentos (Jardim, 2015) e normalmente é realizada em algumas etapas conforme a Figura 5.

Figura 5 – Etapas da SPE.



Fonte: JARDIM, 2015.

A primeira etapa trata-se do condicionamento ou ativação do recheio por meio de solvente adequado garantindo condições físico-químicas propícias para a adsorção dos analitos. Em seguida, na etapa de extração, a amostra percola o recheio com pressão positiva ou negativa em vazão fixada; nesta etapa, portanto, os analitos e algumas interferências são retidos (Vidal *et al.*, 2014; Jardim, 2015).

Após isso, o recheio é lavado com solvente apropriado para a retirada de interferentes. Por fim, tem-se a etapa de eluição em que os analitos são recuperados do recheio com o auxílio de solvente específico. Esses devem ser armazenados corretamente para posterior análise (Vidal *et al.*, 2014; Jardim, 2015).

3.2.3 Solventes

O processo de dessorção pelo solvente é uma das etapas mais relevantes da SPE, já que o solvente adequado é capaz de eluir seletivamente os analitos (Raisglid; Burke, 1999). Além disso, a escolha inadequada do solvente acarreta na inativação da fase extratora, bem como a perda da recuperação dos analitos (Albuquerque,

2019). Sendo vital a afinidade entre o analito e o solvente para eluição eficiente, conforme o Quadro 2 (Raisglid, 1997).

Quadro 2 – Afinidade do solvente em relação à polaridade das moléculas.

Polaridade da molécula	Afinidade do solvente
Polar	Água > metanol > hexano
Apolar	Hexano > metanol > água
Interação múltipla	Água/metanol

Fonte: Adaptado de (RAISGLID e BURKE, 1999).

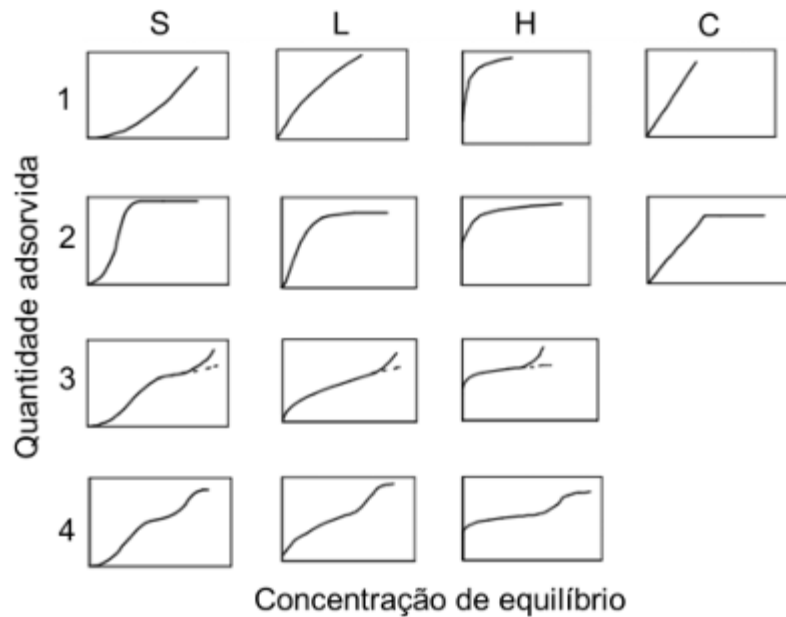
É importante ressaltar que a cafeína é uma molécula polar, no entanto ela apresenta solubilidade maior em alguns solventes orgânicos. Por exemplo, a solubilidade é treze vezes maior em clorofórmio do que em água para a cafeína a 17 °C (Bianchi, 2000). No entanto, esse solvente tem elevada toxicidade gerando sintomas como náusea, vômito e icterícia, ocasionando comprometimento dos rins e fígado se inalado cronicamente (CETESB, 2012). Por isso, comumente, são utilizados solventes como metanol, acetona e ácido acético.

3.2.4 Capacidade máxima de adsorção

Conforme Jan e Kim (2019), a capacidade de adsorção refere-se à quantidade de adsorção de um adsorvente, sendo assim é uma métrica de performance do material. É determinado a partir de isotermas relacionando a concentração inicial do analito com a quantidade adsorvida por grama de adsorvente ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Para sistemas aquosos, conforme a classificação de Giles *et al.* (1960), existem quatro classes e subclasses, curvas tipo S (Sigmoidal) (i), L (tipo Langmuir) (ii), H (alta afinidade) (iii) e C (partição constante) (iv) conforme a Figura 6.

Figura 6 – Classes e subclasses conforme Giles *et al.* (1974).



Fonte: Adaptado de Giles e Smith, 1974.

Conforme Giles *et al.* (1960), a curva tipo S ocorre na prática quando a molécula do soluto é monofuncional (cadeia carbônica > 5C) e tem moderada interação intermolecular fazendo com que ele se acumule em disposição vertical na camada adsorvida. O tipo L apresenta um comportamento no qual os sítios ativos do adsorvente preenchidos e à medida em que isso ocorre a capacidade de adsorção diminui até atingir um platô.

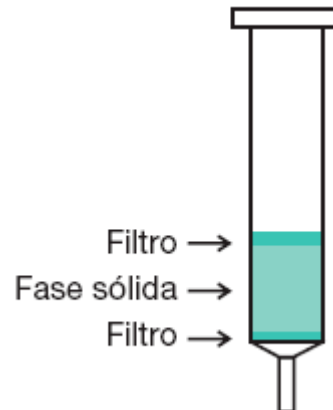
A curva do tipo H é um caso especial da curva tipo L em que o soluto está tão diluído e tem tanta afinidade com o adsorvente que é completamente adsorvido sem quantidade mensurável restante. As curvas lineares do tipo C são dadas pela partição do soluto entre a solução e o substrato até que se atinja a máxima adsorção possível podendo atingir uma posição horizontal de platô.

Além disso, conforme Bachmann (2022), o subgrupo 2 indica a saturação da superfície na qual o adsorvato tem mais afinidade pelo solvente do que pelas moléculas adsorvidas, subgrupo três representa ponto de inflexão. Ainda, o subgrupo quatro indica a formação de camadas múltiplas de adsorvato adsorvido.

3.3 Materiais e *design* de cartuchos comerciais

A maioria dos cartuchos utilizados atualmente são descartáveis apresentando configuração de seringa ou disco com volumes variáveis conforme a Figura 7 (Jardim, 2015; Badawy, 2022).

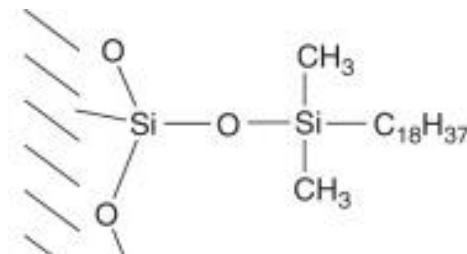
Figura 7 – Representação de um cartucho em formato de seringa.



Fonte: Jardim, 2015.

O recheio (fase sólida) é constituído por material adsorvente que necessita ter afinidade com o analito, por isso existem vários exemplos de adsorventes no mercado, sendo os mais comuns grupos orgânicos ligados a sílica, tais como: octadecil (C18), octil (C8), etil (C2) fenil (R-C₆H₅) e amino (-NH₂) (Sousa, 2018). Dessa forma, a Figura 8 elucida alguns grupos de sílica.

Figura 8 – Grupo orgânico (C18) ligados à estrutura de sílica.






Fonte: Nagy e Vékey (2008).

A fase sólida (recheio adsorvente) é usualmente suportada por dois filtros. Geralmente, a estrutura da seringa é composta de polipropileno de alta densidade. Os filtros podem ser de polipropileno e aço inoxidável para partículas de 40 a 60 μm e de politetrafluoroetileno para 20 μm (Jardim, Bawda). Comumente, para cartuchos em

formato de seringa, o volume varia de 1 a 6 mL com massa de adsorvente de 50 a 500 mg (Jardim, 2015). Entretanto, esses parâmetros podem variar conforme o fabricante e a demanda, dessa forma, o Quadro 3 traz alguns modelos comerciais.

Quadro 3 – Modelos comerciais de cartuchos para SPE.

Fabricante	Modelo	Volume (mL)	Fase sólida	Modelo principal
ThermoFischer Scientific	Dionex™ SoIEx™	1, 3 e 6	Sílica funcionalizada com octadecil.	
Phenomenex	Strata	1,3, 6,12 até 150	Sílica funcionalizada com octadecil ou octacil ou fenil.	
Applied Separations	Spe-ed SPE	1, 2, 3, 6 e 12	Sílica funcionalizada com octadecil ou octil ou dietilamino.	

Fonte: Elaborado pelo autor.

É possível verificar que existem diversos recheios para o cartucho, sendo que esses não se limitam apenas ao Quadro 2. Os fabricantes acima não apresentam cartuchos com recheio biossorvente. Sendo assim, existe uma lacuna a ser explorada para a utilização de materiais alternativos para o recheio.

Resumidamente, biossorventes são materiais granulados de origem vegetal ou animal com capacidade de sorção podendo ser oriundos de resíduos agroindustriais (Vaghetti, 2009). Tratam-se de materiais alternativos com bons rendimentos, economicamente viáveis e ambientalmente amigáveis uma vez que

provêm de subprodutos como a casca de arroz (Vaghetti, 2009) e de pinhão (Rangabhashiyam; Selvaraju, 2013).

Estudos tem demonstrado o potencial de bioissorventes para remoção de cafeína de matrizes aquosas. Em Almeida *et al.* (2021), houve a remoção de 60% de uma solução aquosa de cafeína utilizando um bioissorvente obtido por meio de semente de açaí. Já no trabalho de Salam *et al.* (2023), a cafeína foi removida em cerca de 63% de uma matriz aquosa com utilizando um adsorvente proveniente da casca de groselha processada. Portanto, esses resultados indicam o potencial da utilização de bioissorventes para aplicação em SPE.

3.3.1 Resíduo de malte como bioissorvente

O Rio Grande do Sul possui 335 microcervejarias sendo o segundo maior estado com estabelecimentos registrados por unidades da federação (anúário da Cerveja, 2023). É importante destacar que o resíduo de malte representa cerca de 85% do total de resíduos sólidos gerados no processo de produção de cerveja estimando-se um total de 2.800.000 de toneladas de resíduos no Brasil por ano (Bachmann, 2023).

Um destino comum para esse resíduo é a alimentação animal devido ao seu alto teor de fibras, proteínas e baixo valor agregado (Mello *et al.*, 2013; Tizziani, 2021). Entretanto, trata-se de um subproduto que possui custos envolvidos no seu transporte; o que pode se tornar um empecilho na destinação adequada pelas empresas (Tizziani, 2021). Dessa forma, é interessante encontrar novas formas de destino para esse material.

A composição do resíduo de malte pode variar conforme cultivo e a produção cervejeira. No entanto, conforme Massardi, Massini e Silva, (2020) pode-se citar que aproximadamente ele é composto por celulose (15,99%), hemicelulose (29,92%), lignina (20,80%), proteínas (21,16%), extrativas (8,33%) e cinzas (3,76). Os grupos funcionais associados ao resíduo de malte são diversos e essenciais para adsorção como, por exemplo, aminas, hidróxis, carboxílicos, amidas, -CH₂ e C=C (Jagielto *et al.*, 2022). Alguns estudos demonstram o potencial que o resíduo de malte como bioissorvente conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Bagaço de malte como bioissorvente.

Adsorvente	Poluente	Concentração inicial, mg·L ⁻¹	Quantidade de adsorvente, mg·L ⁻¹	Eficiência de remoção, %
Bagaço de malte seco	Laranja solimax TGL 182%	50	2,8	>95
Bagaço de malte seco	Pb ²⁺	100	5	91,2
Bagaço de malte seco	Azul reativo BF-5 G	350	14	84,4
Bagaço de malte seco	Azul de metileno	50	1	10
Bagaço de malte lavado e seco	Íons de Fe e Mn	0,048 – 2,120 (Fe) e 0,01 – 0,39 (Mn)	2	87 (Fe) e 71 (Mn)
Bagaço de malte seco	Amarelo reativo	75	6	>90

Fonte: Traduzido e adaptado de Bachmann e Féris (2021).

É possível verificar que tanto moléculas orgânicas e íons metálicos (inorgânicos) são capazes de serem adsorvidos pelo bagaço de malte. Os fatores que influenciam a eficácia de adsorção podem ser diversos, tais como: pH do meio, natureza e quantidade de adsorvente, temperatura e tempo de contato, o que explica as eficiências de remoção variarem de 10 a 95% (Abegunde, 2020).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A obtenção do bioissorventes, os ensaios de adsorção e os testes de extração em fase sólida (SPE) foram realizados nos laboratórios de Engenharia Química, de Materiais, de Caracterização e de Química e Meio Ambiente do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) – Campus Feliz. A determinação da cafeína após SPE foi realizada Central Analítica da UFCSPA utilizando o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência acoplado à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), constituído por um cromatógrafo líquido modelo Nexera UFLC e um espectrômetro de massas triplo quadrupolo LCMS-8045 (Shimadzu, Japão).

4.1 Materiais

Os materiais e equipamentos utilizados para o preparo do bioissorvente, a preparação do cartucho e das soluções para condicionamento e eluição estão presentes nessa seção.

4.1.1 Resíduo de malte

O resíduo de malte utilizado para a obtenção do bioissorvente foi doado pela microcervejaria Guampa localizada na cidade de Feliz – RS.

4.1.2 Reagentes

Para as soluções de cafeína, foram utilizadas água destilada e cafeína ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich). Os solventes utilizados para condicionamento e eluição eram todos de grau PA, sendo metanol (Vetec), acetona (Neon) e ácido acético (CRQ). Para os ensaios físico-químicos, foram utilizados solução de ácido sulfúrico (0,02 N) e alaranjado de metila.

4.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para a obtenção do adsorvente foram:

- Balança analítica (Shimadzu do Brasil, modelo AY220);
- Agitador de bancada (Lucadema, modelo Luca-222);
- Estufa com circulação forçada (Lucadema, modelo Luca-80/60);
- Mufla (Junges, modelo 24010);
- Liquidificador industrial (Vithory, modelo TR008);

- Espectrofotômetro de absorção molecular UV-VIS (Nova, modelo 6100UV);
- Peneiras (100 mesh e 30 mesh);
- Cartucho SPE C-18 (Applied Separations, modelo C18/18%);
- Filtros de papel quantitativo (porosidade 2 µm) (Unifil, modelo 504012);
- Bomba de vácuo (Primatec, modelo 131);
- Microscópio ótico (Tucsen, modelo ISH1000);
- Medidor de oxigênio dissolvido (Instrutherm, MO-900)
- Condutímetro (Lucadema, Luca-150);
- pHmetro (Lucadema, Luca-210);
- Turbidímetro (Del Lab, DLJ-TE);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado com espectrometria de massas (Shimadzu, 8045). (LC-MS).

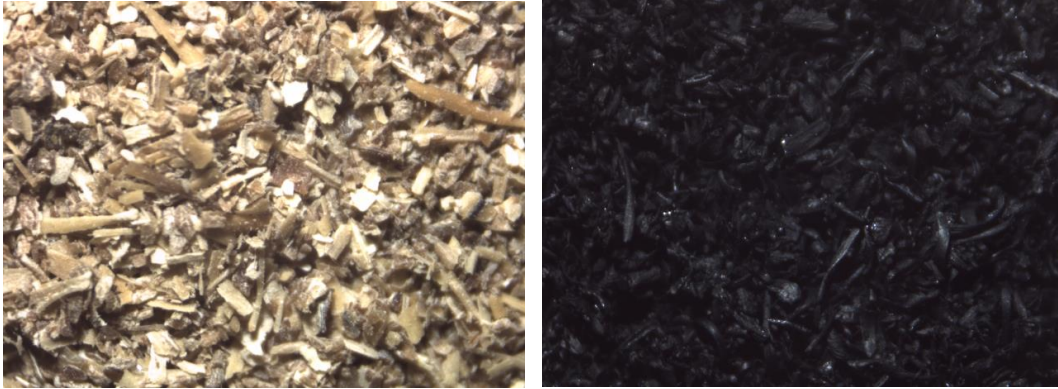
4.3 Métodos

Nesta seção, são apresentados os procedimentos para obtenção do bioissorvente, montagem do cartucho, condicionamento e eluição do analito e reconstituição para análise em LC-MS.

4.3.1 Obtenção do bioissorvente

O tratamento para o resíduo de malte seguiu conforme a metodologia de Bachmann (2022). Sendo assim, ele foi lavado em água abundante até que o sobrenadante obtido estivesse clarificado. Após isso, esse foi seco a 105 °C por 48 h em estufa com circulação forçada. Depois, passou pelo moinho de facas, foi peneirado e agrupado entre tamanho de partículas de aproximadamente 0,15 mm (100 *mesh*) e 0,60 mm (30 *mesh*). Após, o resíduo de malte foi carbonizado em forno mufla a 350 °C por 60 minutos e colocado para resfriar em dessecador por 15 minutos e foi homogeneizado em pote hermético. Na Figura 9, é possível verificar o resíduo de malte seco e carbonizado no microscópio ótico. Vale ressaltar que os parâmetros de tempo e temperatura foram determinados através de experimentos prévios.

Figura 9 – Biossorvente. (a) seco e (b) carbonizado.

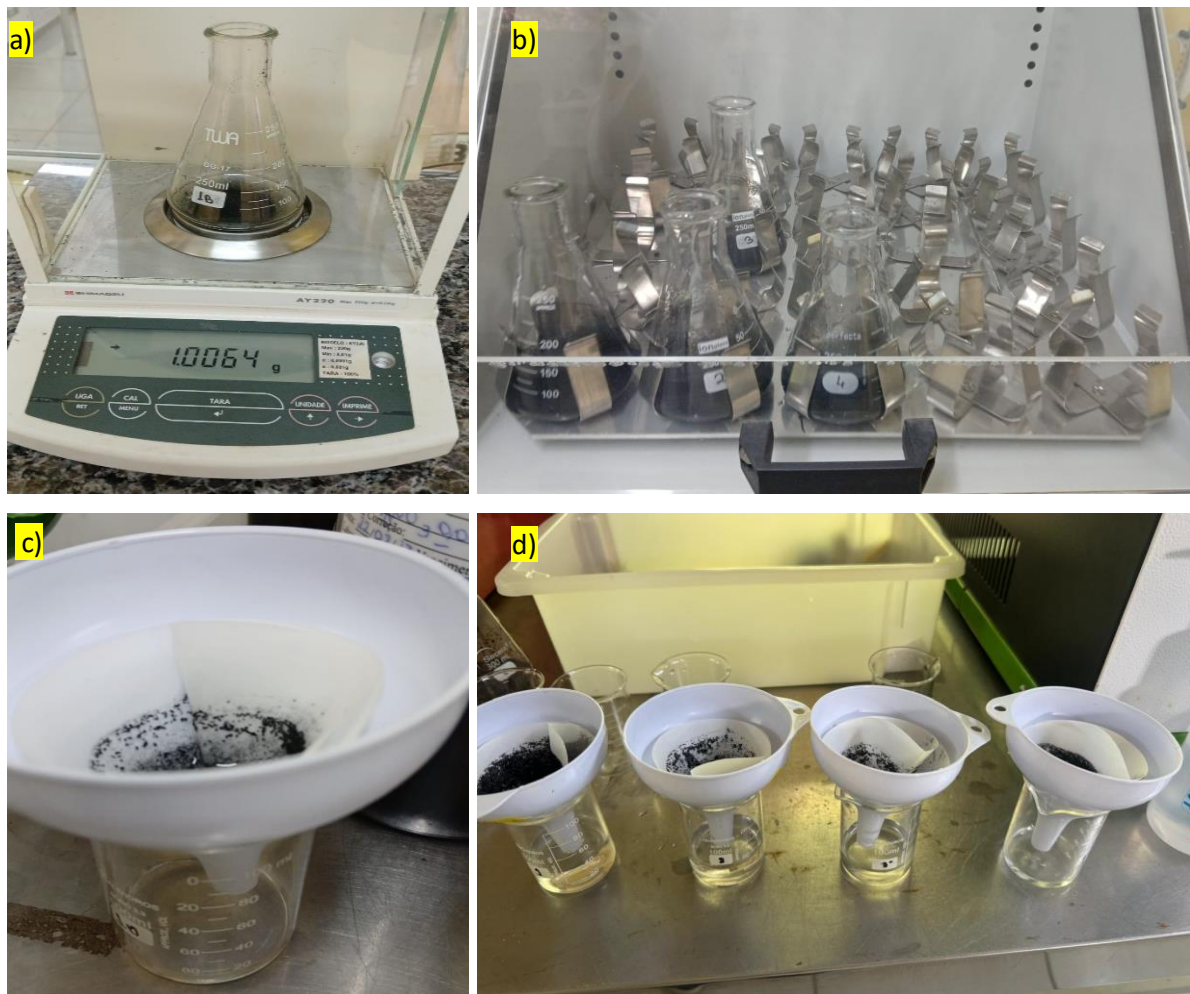


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.2 Determinação da capacidade máxima de adsorção recheio

Conforme a metodologia de Bachmann (2022), foi utilizado 1 g (um grama) de adsorvente para cada 100 mL de solução de cafeína com concentrações variando entre 0 e 800 mg·L⁻¹, em temperatura de 25 °C (± 2 °C) e agitação de 180 RPM por 120 minutos sendo realizado em duplicata. Após isso, as amostras foram filtradas e separadas conforme a Figura 10. É importante ressaltar que o tempo determinado (120 minutos) foi baseado nos estudos de tempo de equilíbrio de Bachmann (2022).

Figura 10. (a) Pesagem do biossorbente, (b) solução de cafeína em ensaio de adsorção, (c) filtragem e (d) separação dos líquidos filtrados.



Fonte: Elaborado pelo autor.

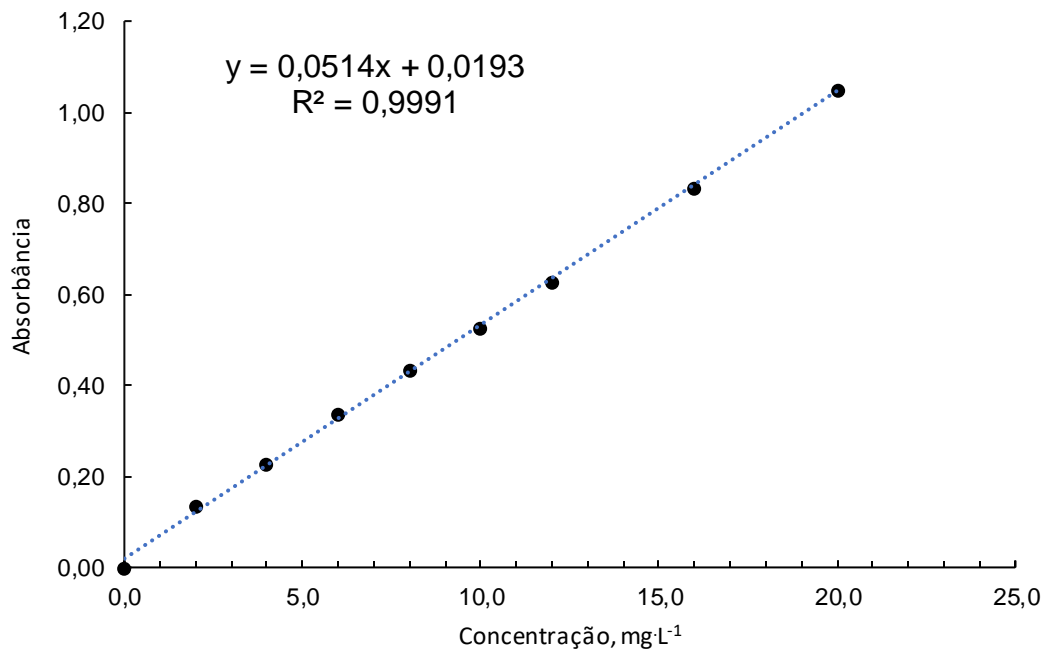
Para a medição da absorvância, após o processo acima, as amostras foram colocadas em cubetas e analisadas no espectrofotômetro. Dessa forma, conforme Skoog, Holer e Nieman (2002), a concentração da cafeína pode ser obtida pela Lei de Beer, uma vez que a absorvância é diretamente proporcional à concentração e ao comprimento do caminho óptico conforme a equação (1).

$$A = \epsilon bc \quad (1)$$

Na qual, A é a absorvância (adimensional), ϵ é a absorvidade molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), b é o comprimento óptico (cm) e c é a concentração em $mol \cdot L^{-1}$. Anteriormente ao processo citado, foi construída uma curva de calibração a fim de identificar a

concentração real das soluções citadas conforme a Figura 11. O comprimento de onda utilizado foi de 273 nm (comprimento de onda de máxima absorção da cafeína) e as a absorbância das amostras medidas com auxílio de cubetas de quartzo.

Figura 11 – Curva de calibração obtida para cafeína.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir dos dados obtidos pela etapa anterior, foi possível calcular quantidade de cafeína adsorvida por massa de adsorvente por meio da equação (2).

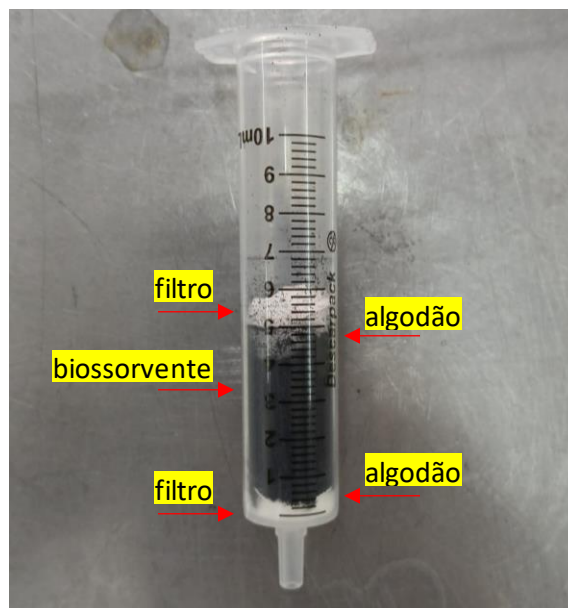
$$q_{120} = \frac{(C_0 - C_{120}) V}{w} \quad (2)$$

Onde q_{120} é a quantidade de cafeína adsorvida por grama do adsorvente no tempo de 120 minutos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$); C_0 e C_{120} são as concentrações de cafeína no início e no tempo 120 minutos ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), V é o volume da solução de cafeína (L) e w é a massa de adsorvente (g).

4.3.3 Montagem do cartucho

O cartucho teve como base um cilindro de seringa em corpo de polipropileno de 10 mL. As camadas do meio filtrante foram compostas de filtro quantitativo e algodão para evitar que as partículas do bioissorvente se dispersassem pelo cartucho conforme a Figura 12.

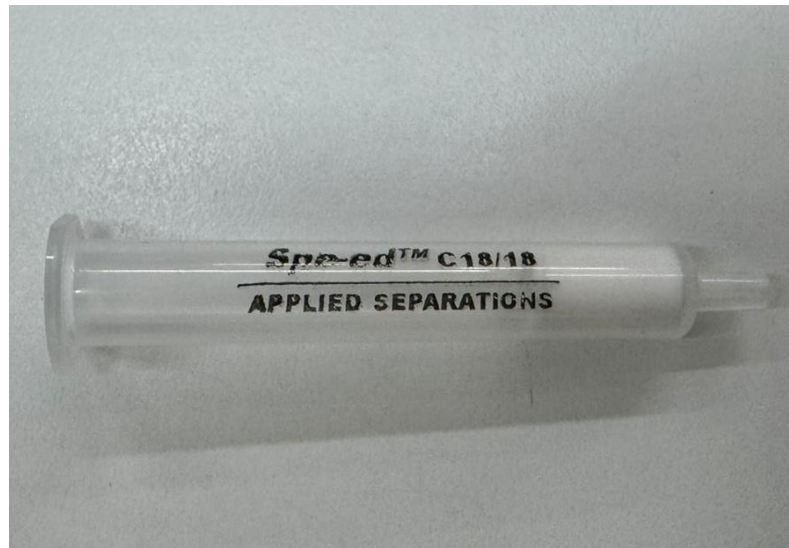
Figura 12. Montagem do cartucho com recheio bioissorvente.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O cartucho comercial foi doado pela UFCSPA (Universidade Federal de Ciências de Saúde de Porto Alegre) e tinha 3 mL de volume conforme a Figura 13. A fase estacionária era C18 (octadecil) e a quantidade adsorvente de 500 mg tendo o recheio o diâmetro médio de poro de 6 nm.

Figura 13 – Cartucho comercial C18 da Applied Separations.



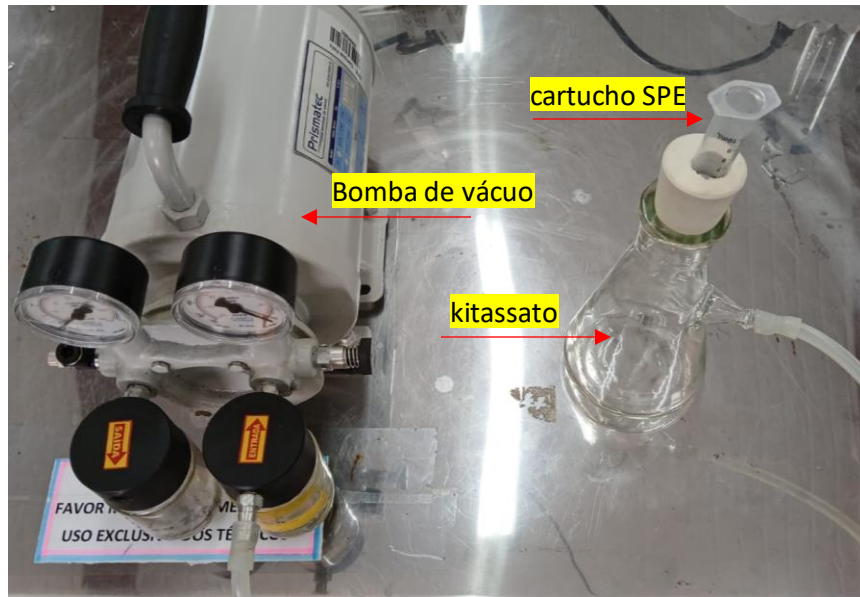
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.4 Extração em Fase Sólida (SPE)

A extração em fase sólido foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Arsand (2019). Para tanto, os cartuchos foram condicionados com 3 mL de metanol com 3% de ácido acético (v/v), 3 mL de acetona com 3% ácido acético (v/v) e 3 mL de água com 5% de metanol (v/v), respectivamente, em um kitassato sob ação de vácuo (15 mmHg). Após isso, foram percoladas cerca de 200 mL de amostra através do cartucho. Depois, manteve-se o vácuo por 5 minutos para secá-lo antes de iniciar a eluição.

Em seguida, foram pipetados 3 mL de metanol com 3% de ácido acético (v/v), seguido de 3 mL de acetona com 3% de ácido acético (v/v). O eluído foi coletado em frascos e armazenado em geladeira à 5 °C até o momento da análise. Externamente a instituição, as amostras foram evaporadas em atmosfera de nitrogênio e em seguida extrato foi reconstituído com solução de acetonitrila:água (5:95) até um volume final de 1 mL. O sistema para extração em fase sólida sob vácuo está representado na Figura 14.

Figura 14. Sistema para SPE.



Fonte: Elaborado pelo autor.

É importante destacar que foram utilizadas duas amostras: uma solução padrão de cafeína com concentração aproximada de $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e uma amostra real de água superficial de concentração desconhecida. As extrações foram realizadas em triplicada com o cartucho de biossorvente para cada amostra e em duplicata utilizando um cartucho comercial SPE C-18 (Applied Separations). Após a obtenção dos dados a eficiência do cartucho pode ser calculado conforme a equação (3):

$$\varepsilon = \frac{C_f}{C_i} * 100 \quad (3)$$

Na qual, C_f é a concentração recuperada após a análise cromatográfica ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) e C_i é a concentração inicial da amostra ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) e ε apresenta a eficiência ou recuperação do analito em relação ao cartucho.

4.3.5 Detecção de cafeína

A separação cromatográfica foi conduzida utilizando uma coluna de LC Shim-pack Velox SP-C18 (Shimadzu, Japão) como um tamanho de partícula de $2,7 \mu\text{m}$, porosidade de 90 \AA , dimensões de $50 \times 2,1 \text{ mm}$, mantida a uma temperatura constante de $60 \text{ }^\circ\text{C}$. O fluxo da fase móvel foi ajustado para $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando água ultrapura (componente A) e acetonitrila (componente B), ambas suplementadas com

ácido fórmico a 0,1% (v/v). A separação foi realizada em gradiente, iniciando com 90% da fase móvel B, estabilizando-se em 4,0 minutos, e retornando para 50%, mantendo-se constante até o término da análise em 10 minutos. A aquisição de dados foi realizada por ionização por electrospray (ESI), no modo positivo, com parâmetros otimizados: temperatura do bloco aquecedor a 400 °C; voltagem do capilar a 1,5 kV; fluxo do gás nebulizador (N₂) a 1,6 L·min⁻¹; temperatura da linha de dessolvatação a 526 °C; fluxo do gás de secagem (N₂) a 10 L·min⁻¹; e pressão do gás de colisão induzida por dissociação (Ar) ajustada para 230 kPa. As análises foram realizadas no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), utilizando íons precursores e fragmentos característicos para identificação e quantificação. Para a cafeína, foram utilizados m/z 195 [M+H]⁺ como íon precursor, com fragmentos m/z 138 e m/z 42. A seleção dessas transições MRM garantiu alta sensibilidade e especificidade, permitindo uma identificação e quantificação confiáveis nas amostras analisadas.

4.3.6 Coleta e caracterização da amostra real

A amostra real foi coletada no Arroio Dilúvio localizado em Porto Alegre no Rio Grande do Sul nas coordenadas 30°02'50"S 51°13'57"O como mostra a Figura 15.

Figura 15 – Localização para coleta da amostra.



Fonte: Google Earth (2024).

Mais especificamente, ela foi coletada a 2 metros da margem e 30 cm de profundidade (Figura 16) conforme recomendação do Guia de Coleta da Agência Nacional de Águas (2011).

Figura 16 – Coleta da amostra.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Posteriormente, foi filtrada para retirada de sólidos grosseiros e refrigeradas a 5 °C para as demais determinações analíticas. A escolha desse arroio para amostragem deve-se ao fato da elevada probabilidade em encontrar cafeína, uma vez que há lançamento indevido de esgotos não tratados, ao longo de uma área densamente urbanizada do município de Porto Alegre. Além disso, estudos anteriores já demonstraram concentrações de cafeína superiores a 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ nas proximidades locais (BACHMANN, 2022).

Em relação a caracterização físico-química da amostra, foram realizadas as seguintes análises, de acordo com as recomendações do manual prático de análises de água conforme o Guia de Coleta da Agência Nacional de Águas (2011) e também, de acordo com a capacidade laboratorial.

- Oxigênio dissolvido (OD);
- Potencial hidrogeniônico (pH);
- Condutividade (CE);
- Turbidez da amostra (NTU);
- Matéria orgânica (MO) (a 254 e 436 nm);
- Alcalinidade total (AT) ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$).

O oxigênio dissolvido, pH, condutividade e turbidez foram medidos diretamente de uma alíquota retirada da amostra. Além disso, a matéria orgânica (a 254 nm e 436 nm) foi medida em espectrofotômetro de absorção molecular UV-VIS e a alcalinidade

total foi realizada em triplicata por meio de titulação volumétrica com indicador alaranjado de metil e ácido sulfúrico (0,02 N) (FUNASA, 2013).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados referentes ao material bioissorvente, capacidade de adsorção, extração em fase sólida, características físico-químicas das amostras reais.

5.1 Material bioissorvente e capacidade de adsorção

O bioissorvente obtido pode ser verificado conforme a Figura 17. Vale ressaltar que à medida que o bioissorvente foi sendo carbonizado, ele foi homogeneizado devido a uma limitação de capacidade do forno mufla. Sendo assim, o processo de queima foi realizado algumas vezes com capacidade de quatro cadinhos por batelada (6 g por cadinho).

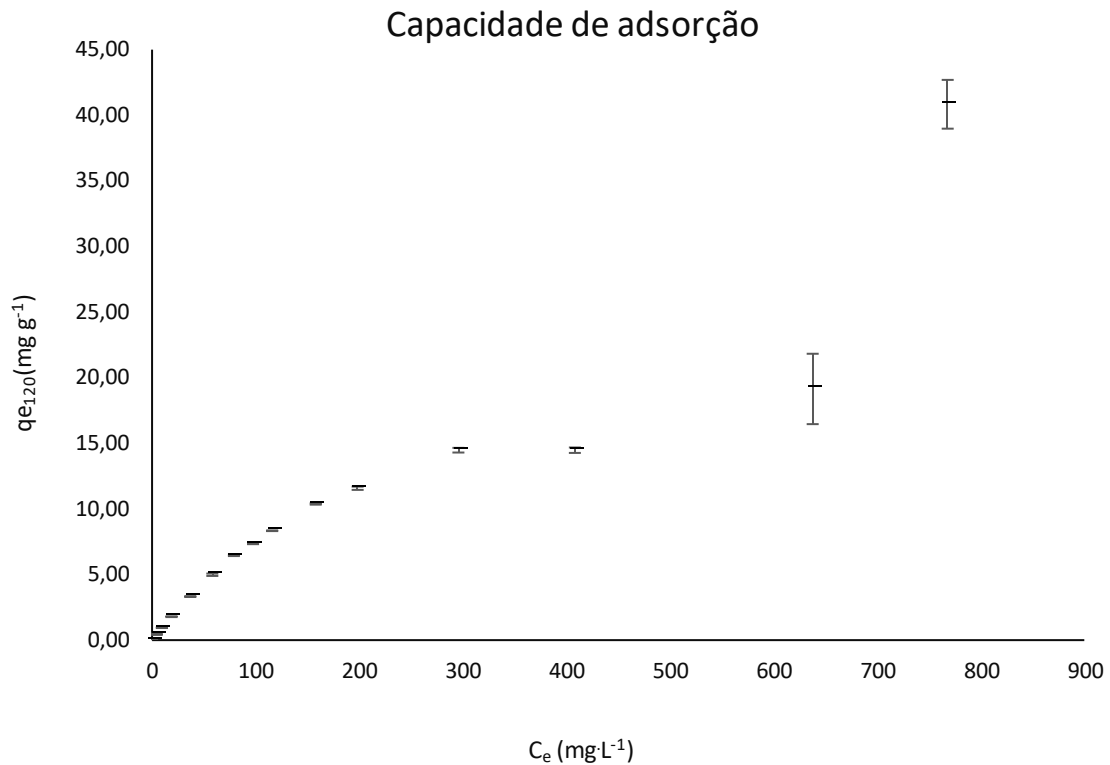
Figura 17 – Material bioissorvente.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Além disso, a partir dos dados obtidos e por meio da equação (1) e da duplicata realizada foi possível obter a capacidade de adsorção do material conforme a Figura 18.

Figura 18 – Gráfico de capacidade de adsorção do bioissorvente à 25 °C para $C_0=10$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $[\text{sólido}] = 10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, tempo de contato de 120 min, agitação de 180 rpm.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O gráfico acima é muito importante para determinar a quantidade de material adsorvente necessária para preencher o cartucho porque sem esse parâmetro a quantidade de material adsorvente poderia ter sido insuficiente. De acordo com a Figura 18, a capacidade adsorptiva do material é de $40,66 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ e trazendo a ideia de quanto maior a quantidade de bioissorvente maior a quantidade adsorvida devido à maior oferta de sítios ativos. É importante ressaltar que não foi definida a capacidade máxima de adsorção, pois conforme os estudos de Bachmann (2022), esperava-se que esse seria atingindo a concentração de cafeína de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Com os dados obtidos, optou-se por recheiar o cartucho com 1 g de bioissorvente a fim de garantir a máxima adsorção da cafeína, bem como facilitar a construção do cartucho.

Relacionando com as isotermas de Giles *et al.* (1960), o comportamento da curva pode ser classificado tipo L3, já que aparentemente houve o esgotamento dos sítios ativos em $14,30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. No entanto, trata-se de um falso platô, isto é, a partir desse ponto há a formação de uma segunda camada na qual se adsorveu mais cafeína.

Além disso, faz-se interessante a comparação com outros materiais bioSORVENTES a fim de verificar as capacidades adsorptivas em relação a cafeína. Dessa forma, a Tabela 2 traz alguns dados para análise.

Tabela 2 – Capacidade de adsorção de diferentes bioSORVENTES para cafeína.

Material	Capacidade de adsorção, mg.g ⁻¹	pH	Tempo de contato, horas	Volume dos poros, cm ³ .g ⁻¹	Área superficial, m ² .g ⁻¹
Resíduo de colza	243,9 (30 °C)	5	2,0	0,57	1165
Cascas de coco	197,33 (23 °C)	3	2,0	0,49	1045
Cascas de pistache	12,95 (25 °C)	7	48	0,099	387
Este trabalho	44,66 (25 °C)	Natural da solução (≈7)	2,0	0,067*	271*

*valores obtidos previamente.

Fonte: Adaptado de Bachmann, Calvete e Féris (2020).

É possível verificar uma diversidade de bioSORVENTES que podem ser utilizados para cafeína inclusive de outras fontes vegetais. Evidentemente, há resultados diferentes de capacidades adsorptivas dependem do meio como pH, temperatura e tempo de contato. No entanto, as propriedades intrínsecas de cada material são importantes no processo de adsorção dependendo do volume dos poros e área de superfície que facilitam o encontro dos sítios ativos com os adsorvatos e grupos funcionais que atraem ou repelem a ligação adsorvente e adsorvato (Kalpaklı e Fakio, 2022).

Por exemplo, o resíduo de colza e as cascas de coco apresentam capacidades adsorptivas superiores ao estudado nesse trabalho. Entretanto, foi notado que pHs menores favoreceram a adsorção da cafeína, porque a carga superficial do adsorvente e o grau de ionização das moléculas do adsorvato são afetadas por esse parâmetro. Dependendo do pH, o adsorvente pode ser carregado positivamente (pH

ácido) ou negativamente (pH alcalino) em relação ao pH de carga zero do material (Kalpaklı e Fakio, 2022). Conforme Bachmann (2023), o pH no qual a carga líquida superficial é zero, (pH_{pcz}) isto é, em que a superfície possui balanço igual de cargas positivas e negativas para resíduo de malte carbonizado é de $7,19 \pm 0,08$. No entanto, quando o pH da solução fica abaixo desse do pH_{pcz}, o adsorvente torna-se carregado positivamente sendo mais atrativo para molécula de cafeína que é atraída ao adsorvente devido a ligação de hidrogênio com o N-heterocíclico (Kalpaklı e Fakio, 2022).

Apesar do pH da solução do resíduo de colza carbonizado ser maior do que as de cascas de coco, o volume dos poros e a área superficial maiores tendem aumentar a quantidade sítios ativos favorecendo o processo de adsorção e aumento a capacidade do adsorvente. Ainda, o tempo de contato é um parâmetro muito importante já que define a taxa de adsorção tendendo a ser mais rápida nos primeiros minutos de ensaio devido a grande oferta de sítios ativos (Bachmann, Calvete e Féris, 2020). No entanto, ele deve ser adequado para garantir que a concentração de equilíbrio seja atingida, isto é, que a capacidade de adsorção seja máxima dada uma concentração de equilíbrio.

É interessante verificar que para cascas de pistache, o tempo de contato foi maior do que nos outros estudos tendo inclusive maior área superficial e volume de poros do que no presente estudo. No entanto, o pH_{pcz} desse material é de 4,57 sendo desfavorecida adsorção na superfície pelas cargas negativas em sua superfície (Román *et al.*, 2018).

A temperatura também afeta os processos de adsorção, no entanto a literatura reporta que em estudos o aumento dela afeta positivamente a capacidade de adsorção do material e, em outros, negativamente (Kalpaklı e Fakio, 2022). Ou seja, a adsorção pode ser endotérmica ou exotérmica e a relação com a temperatura vai depender do tipo de interação.

5.2 Características físico-químicas da amostra

Os dados obtidos a partir das análises da amostra do Arroio Dilúvio foram comparados com outros trabalhos e também com a Resolução Conama N° 357 que apresenta algumas classificações de água doce (Tabela 3).

Tabela 3 – Classes para a água doce (a Resolução Conama N° 357).

Classe	pH	Turbidez, NTU	Oxigênio dissolvido, mg·L ⁻¹
I	6-9	≤ 40	≥ 6
II	6-9	≤ 100	≥ 5
III	6-9	≤ 100	≥ 4
IV	6-9	-	> 2

Fonte: Elaborado pelo autor.

As comparações podem ser verificadas na Tabela 4. Além disso, foram incluídos na tabela alguns trabalhos com coordenadas próximas à coleta para comparação dos dados obtidos.

Tabela 4 – Caracterização físico-química da amostra coleta.

Parâmetros	Amostra – Arroio Dilúvio (Autor)	Amostra – Arroio Dilúvio (Santos, 2019)	Amostra – Encontro Arroio e Guaíba (Andrade, 2017)	Resolução Conama Nº 357 – Classe 1
pH	7,22	5,53	7,27	6 - 9
Condutividade $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	283,9	386	450	**
Turbidez, NTU	6,87	*	7,90	≤ 40
OD, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	6,00	*	2,85	$\geq 6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
MO a 254/436 nm	10,44	*	*	**
Alcalinidade total, $\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$	$89,5 \pm 1,07$	*	*	**
Coordenadas	30°02'50"S 51°13'57"O	30° 02'50.73"S 51°13'57.28"O	30°02'45.84"S 51°14'02.85"O	**

* valores não reportados. **valores não especificados pela legislação.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Conforme os dados acima, é possível verificar que os parâmetros de pH estão dentro do estabelecido pela resolução CONAMA n° 357 entre 6 e 9. Além disso, apresenta proximidade com o trabalho de Andrade (2017) e apresenta-se ligeiramente maior do que os estudos de Santos (2019). No entanto, essa diferença pode ser explicada já que o pH pode sofrer alterações de diversas fontes como a introdução efluentes domésticos e industriais (Bittencourt e Paula, 2014).

Já a condutividade elétrica da água é proporcional à concentração iônica de ferro, manganês, sódio, potássio, cálcio e cloreto. A condutividade é comumente menor que $100 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ podendo chegar até $1000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ para águas altamente poluídas (Libânio, 2016). É perceptível que no trabalho de Andrade (2017) a condutividade atinge $450 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, sendo menor a medida nesse trabalho. Entretanto, vale ressaltar que o arroio está sujeito a evaporação e a sazonalidade das chuvas o que pode explicar esse valor.

O oxigênio dissolvido é um indicador de organismos aquáticos aeróbios e sua solubilidade depende da temperatura e altitude (Schorr, 2022). A quantidade de OD depende do balanço entre a quantidade produzida pelo corpo hídrico por organismos fotossintéticos e processo de aeração natural ou artificial e a consumida por bactérias para decompor a matéria orgânica (Bittencourt e Paula, 2014). Conforme a resolução CONAMA n° 357, este parâmetro está adequado.

A turbidez (NTU) indica sólidos em suspensão, tais como: areia, argila, algas e detritos (Bittencourt e Paula, 2014). A medida realizada ficou próxima a do trabalho de Andrade (2017), no entanto ligeiramente maior indicando maior quantidade de suspensão no arroio se comparado a esse trabalho.

A razão entre as absorvâncias entre os comprimentos de onda de 254 nm e 436 nm é importante para indicar de o tipo de matéria orgânica dissolvida numa relação terrestre/autóctone. O pico de 436 nm pode ser utilizado como indicador de biomassa oriunda de algas, uma vez que a α -clorofila tem um pico de absorção (400 nm) na cor azul (Battin, 1998). A razão obtida indica quantidade maior de agentes terrestres, isto é, folhas, galhos e a presença de ação antropogênica podem estar associado a esse valor e serve como histórico das transformações da matéria orgânica presentes em ambientes aquáticos (Monteiro *et al.*, 2018). A resolução CONAMA n° 357 não estabelece limite para esse parâmetro, porém existem parâmetros presentes na lei como a demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Conforme Silva (2022), esse é um parâmetro que indica a poluição das águas, uma vez que quanto maior a quantidade de matéria orgânica dissolvida, maior é o consumo de O_2 por microrganismos sendo prejudicial para seres anaeróbios. Entretanto, na impossibilidade de realizar a análise de DBO, optou-se por avaliar a razão 252 nm/436 nm.

Além disso, a alcalinidade total está relacionada aos ânions (HCO_3^{-1} , CO_3^{2-} e OH^{-1}) e as alterações em relação a esse parâmetro são diversas como despejo de

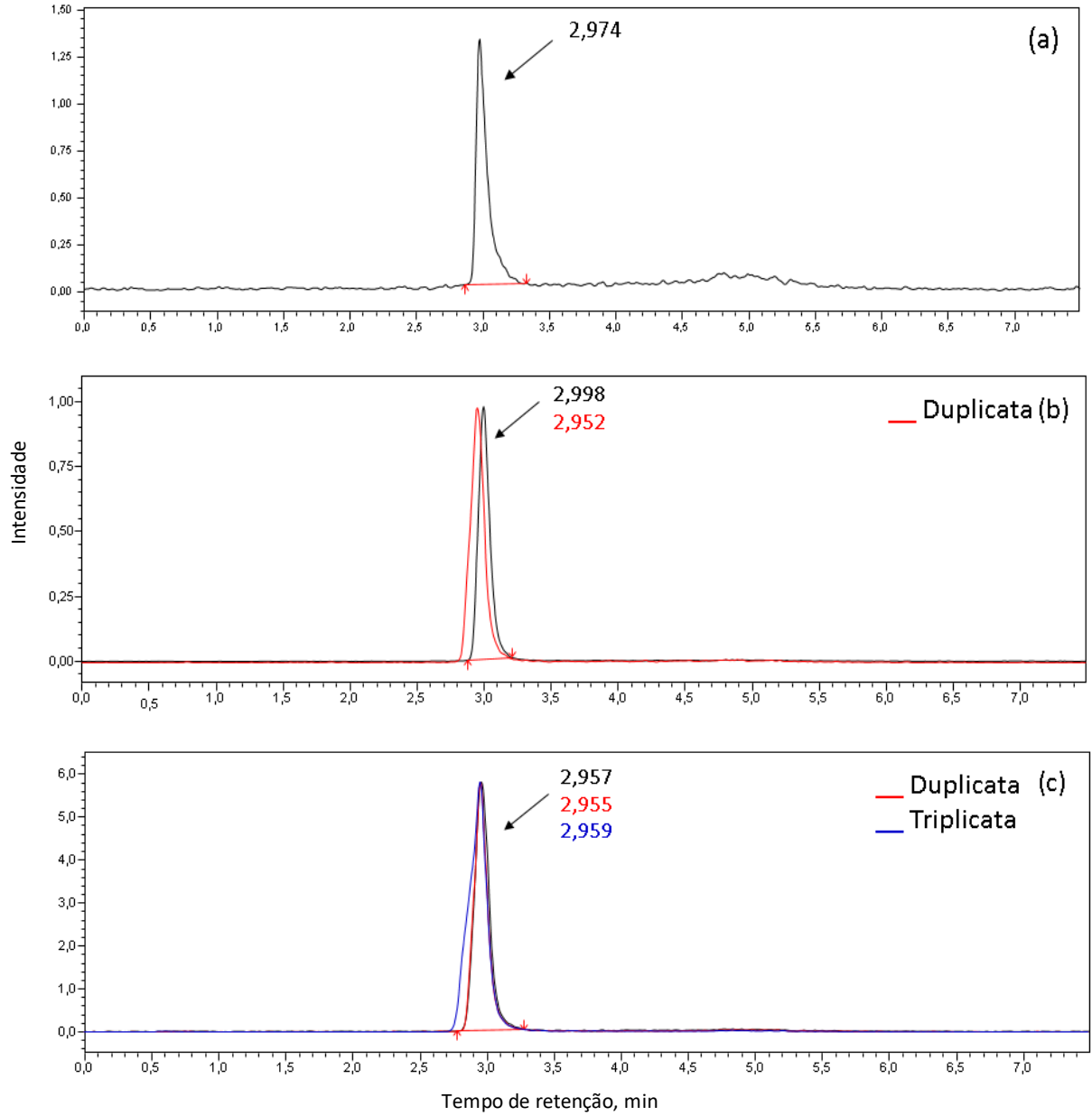
efluentes industriais e domésticos (Schorr, 2022). Existem algumas classificações que podem ser utilizadas para dureza da água dependendo da quantidade de mg de $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ como as águas moles com teor $< 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, de dureza moderada de 50 até $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e água dura de 150 a $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Dessa forma, a amostra atual pode ser classificada com dureza moderada e não há limite estabelecido na resolução CONAMA n° 357.

É importante destacar que apesar dos parâmetros de pH, turbidez e OD indicarem que o corpo hídrico se enquadra na Classe I, diversas análises ainda devem ser levadas em conta para a classificação adequada. A resolução CONAMA n° 357 ainda cita diversos outros parâmetros que devem ser verificados em relação à qualidade da água doce como limites de bactérias, clorofila, metais como arsênio e poluentes como o 2-clorofenol. Sendo assim, por limitação do laboratório da instituição, foram levantados apenas alguns parâmetros físico-químicos.

5.3 Determinação de cafeína após SPE

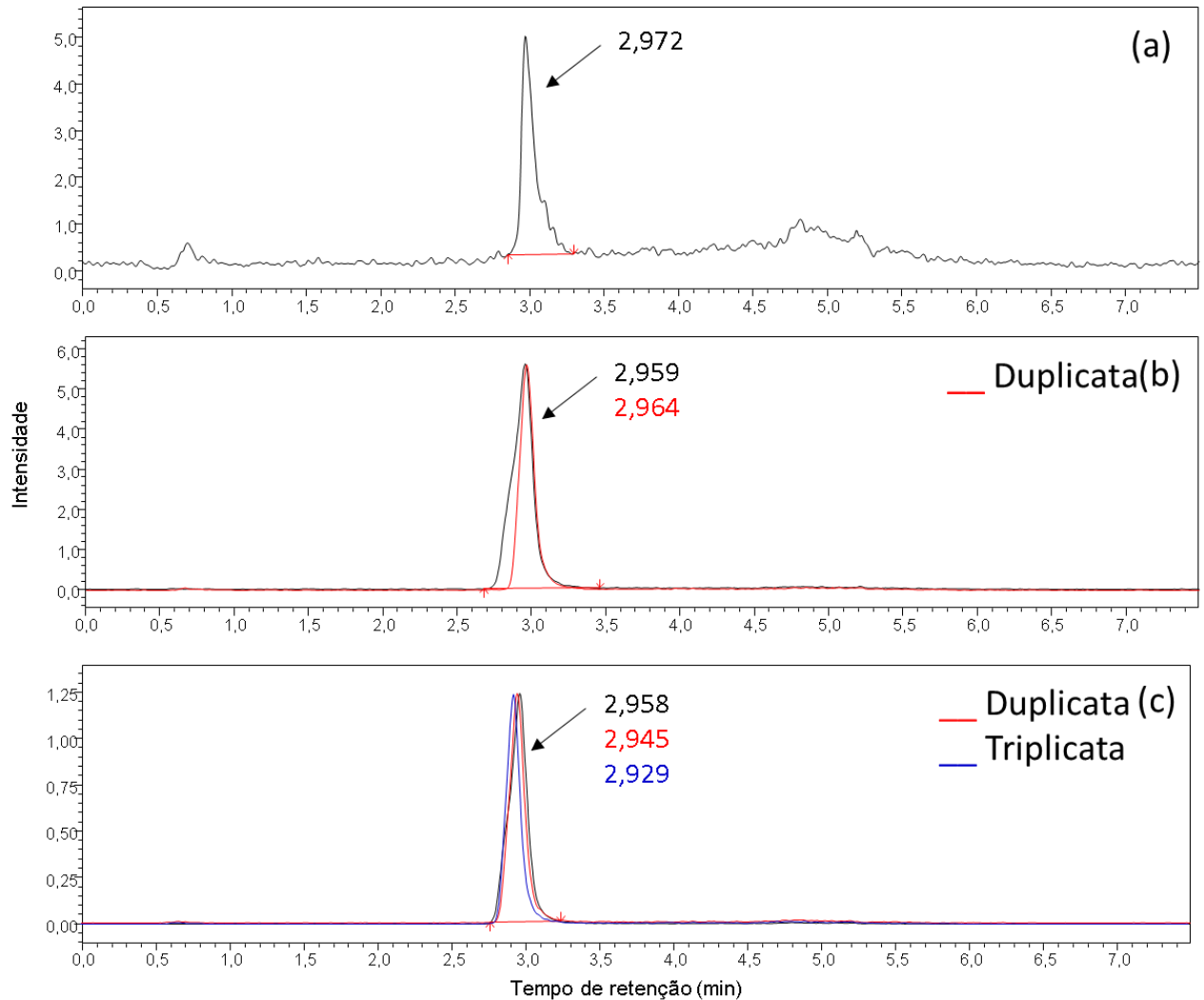
Após a injeção no LC-MS, foram obtidos os picos de cafeína nos cromatogramas e os tempos retenção tanto para uma solução aquosa padrão, quanto para uma amostra de água superficial (Figuras 18 e 19, respectivamente). A quantidade de cafeína presente nas amostras foi calculada a partir da área abaixo do pico de cafeína tanto para o cartucho biossorvente e comercial.

Figura 18 – Resultado das análises cromatográficas para solução padrão ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$): (a) amostra sem SPE; (b) após SPE em cartucho comercial e (c) após SPE em cartucho com biossorventes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19 – Resultado das análises cromatográficas para amostra de água superficial (concentração desconhecida): (a) amostra sem SPE; (b) após SPE em cartucho comercial e (c) após SPE em cartucho com biossorventes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os tempos de retenção obtidos nesse trabalho, confirmam a presença da cafeína, tanto para a solução aquosa (Figura 18) quanto para a amostra real (Figura 19) estando próximos ao obtido por Arsand (2019), no caso, 2,789 minutos. Além disso, o tempo de retenção pode ser definido como a medida de tempo entre a injeção e o pico do analito no detector podendo servir como um parâmetro característico qualitativo útil para comparação entre amostras (Robards e Ryan, 2022; Skoog; Holer; Nieman, 2002). Outro ponto importante observado é que nas Figuras 18 e 19 (a), há

a presença de interferências ao longo do cromatograma, sendo aparentemente mais intenso na amostra de água superficial do que na solução padrão. Evidencia-se que as interferências são minimizadas no caso das amostras submetidas previamente a SPE (Figura 18 (b) e (c) e Figura 19 (b) e (c)). Dessa forma, reforçando a importância da SPE para pré-concentração e remoção de interferentes.

Tabela 5 – Valores de concentração de cafeína obtidos após SPE e percentual de recuperação.

Amostra	Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	%Eficiência ou Recuperação
Solução padrão	10*	-
Solução padrão após SPE cartucho comercial	1,981 \pm 0,391	19,81
Solução padrão após SPE cartucho com biossorvente	2,735 \pm 1,408	27,35
Amostra de água superficial	4,0	-
Amostra de água superficial após SPE cartucho comercial	1,809 \pm 0,405	45,22
Amostra de água superficial após SPE cartucho com biossorvente	2,561 \pm 1,318	64,03

*utilizada como padrão para estimativa das demais concentrações.

Fonte: Elaborado pelo autor.

É possível verificar a baixa eficiência de recuperação dos cartuchos para a solução padrão. Isso se deve, possivelmente, à alta afinidade entre o adsorvente e o adsorvato, o que depende tanto da química de superfície do biossorvente, quanto do grau de ionização da cafeína. O resíduo de malte possui diferentes grupos funcionais em sua superfície, como -OH, C=C, -C-O, dentre outros, que podem interagir de diferentes formas com a cafeína (Bachmann et al. 2023), dificultando a posterior eluição com os solventes metanol, acetona e ácido acético. Sendo assim, uma possível solução a utilização de solventes com maior afinidade com analito.

Além disso, o tempo de eluição tem uma importante influência no alcance do equilíbrio entre adsorvente e adsorvato, uma vez que se o tempo de contato for muito baixo, pode não ocorrer a interação do analito com a superfície do recheio e a obtenção do equilíbrio - ponto de maior adsorção (Badawy *et al.*, 2022). Em termos médios, a taxa de eluição para os cartuchos biossorventes e comerciais foram: 16,7 mL·min⁻¹ e 10,5 mL·min⁻¹, respectivamente. No entanto, é difícil especificar teoricamente um tempo ideal eluição já que a taxa de eluição é função de diversos fatores como a viscosidade, temperatura, área da secção transversal e altura da coluna do recheio, sendo mais corriqueira a determinação experimental, o que pode ser incluído em trabalhos futuros (Simpson, 2000).

No caso particular dos cartuchos biossorventes, a solução de cafeína pode ter formado canais preferenciais devido à presença de vazios resultantes da compactação não uniforme do recheio, posto que foram produzidos manualmente. Essa formação compromete o processo de eluição prejudicando o arraste do analito pelo eluente (Rontree, 2020). Embora o cartucho biossorvente demonstrou-se, aproximadamente, 38% superior para retomada do analito na solução padrão, não houve diferença estatística, intervalo de 95% de confiança (valor $p = 0,532$) entre as recuperações para a solução padrão.

Durante o processo da percolação da amostra no cartucho, pode ocorrer perda de amostra devido à manipulação manual. Esse fato combinado com a baixa concentração do analito pode comprometer a recuperação da cafeína. Além disso, existem os erros relacionados a competência do analista e a incerteza presente nas próprias vidrarias e equipamentos.

Para a amostra, os valores de recuperação foram mais elevados inclusive com o cartucho biossorvente apresentando aproximadamente 41% maior capacidade de recuperação da cafeína. Por fim, estatisticamente, para intervalo de confiança de 95%, não foram observadas diferenças significativas entre o cartucho comercial e o biossorvente (valor $p = 0,560$). Mas, é importante ressaltar que o desempenho do cartucho biossorvente foi melhor em ambas matrizes corroborando a ideia de alternativa sustentável.

É perceptível que a concentração de cafeína na amostra real está superior ao encontrado por Arsand (2019) em 1 µg.L⁻¹ e inferior ao encontrado por Bachmann *et al.* (2024) em 32,39 ± 2,31 µg.L⁻¹ para o arroio Dilúvio. Embora estejam na mesma ordem de grandeza, as diferenças entre os valores podem ter diversas razões já que

existem mudanças sazonais, comportamentos antrópicos diferentes em relação ao lançamento de rejeitos domésticos e a própria correnteza que pode diluir a concentração de cafeína.

6. CONCLUSÃO

Em síntese, a presença da cafeína em nível de traço nas águas ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) indica não somente a contaminação por essa substância, mas também a possível presença de outros poluentes emergentes mais danosos associados à ação antropogênica. Além disso, a contaminação já pode ser considerada global, visto que ela está presente em afluentes, efluentes e até no ambiente marítimo.

Ainda, a quantificação e detecção espécies em nível de traço pode ser complexa, visto que a matriz estudada pode conter diversos interferentes que prejudicam a análise da espécie alvo. Sendo essencial, a utilização de métodos de concentração e preparação de amostras tal como a extração em fase sólida e a utilização de técnicas avançadas como a cromatografia líquida de alta eficiência (LC).

Neste contexto, o uso de biossorventes, como o resíduo de malte carbonizado, apresenta-se como uma alternativa sustentável e eficaz para o preenchimento de cartuchos de SPE, oferecendo potencial para a extração seletiva e concentração da cafeína, sendo menos propensa ao descarte inadequado desse material no meio ambiente. Essa abordagem contribui para o desenvolvimento de métodos analíticos mais simples e sustentáveis no monitoramento de contaminantes aquáticos.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Algumas sugestões para estudos posteriores são:

- Determinar o tempo de equilíbrio entre adsorvente e adsorvato;
- Otimizar a quantidade de biossorvente utilizado e taxa de eluição;
- Realizar os ensaios de isoterma em diferentes temperaturas e pHs;
- Verificar possibilidade da reutilização do cartucho;
- Propor método de preparo da amostra que possibilite a determinação da cafeína em equipamento mais acessível

REFERÊNCIAS

ABEGUNDE, S. M.; IDOWU, K. S.; et al. A review on the influence of chemical modification on the performance of adsorbents. **Resources, Environment and Sustainability**, v. 2, p. 100001, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2020.100001>. Acesso em: 05 abr. 2024.

ALBUQUERQUE, R. A. M. **Extração em fase sólida (SPE) e microextração em fase sólida (SPME) para análise de agrotóxicos em água potável**. 2019. 115 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/43795>. Acesso em: 15 abr. 2024.

ALHASSEN, H. M.; DYER, F. J. e THOMPSON, R. M. The photolytic breakdown of caffeine and paracetamol residues in surface water. **Water environment research**. [S. l.], v. 95, jul. 2023. Disponível em: [10.1002/wer.10909](https://doi.org/10.1002/wer.10909). Acesso em: 26 jan. 2024.

ALI, M. Development of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) Method for Quantification of Broccoli Sulforaphane. **Food Analytical Methods**. [S. l.], v. 17, nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12161-023-02544-y>. Acesso em: 30 de abr. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Guia de coleta: procedimentos para coleta e análise de águas**. Brasília, 2011. Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br>. Acesso em: 1 nov. 2024.

ALVES, L. D. S.; ROLIM, L. A.; FONTES, D. A. F.; ROLIM-NETO, P. J. Desenvolvimento de método analítico para quantificação de efavirenz por espectrofotometria no UV-VIS. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, jul. 2010.

ANDRADE, L. C. de.; TIECHER, T.; OLIVEIRA, J. S.; ANDREAZZA, R.; INDA, A. V. e CAMARGO, F. A. O. Sediment pollution in margins of the Lake Guaíba, Southern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 8, p. 410, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6365-9>. Acesso em: 09 nov. 2024.

ANASTOPOULOS, I.; PASHALIDIS, I.; a, ORFANOS, A G.; MANARIOTIS, I. D.; Tetiana TATARCHUK, T.; SELLAOUI, L., BONILLA-PETRICIOLET, A.; MITTAL, A. e NÚÑEZ, A. Removal of caffeine, nicotine and amoxicillin from (waste) waters by various adsorbents: A review. **Journal of Environmental Management**. [S. l.], v. 261, mai. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110236>. Acesso em: 25 jan. 2024.

ALMEIDA, A. da S. V.; VIEIRA, W. T.; BISPO, M. D.; MELO, S. F.; SILVA, T. L. da S.; BALLIANO, T. L. S.; BALLIANO, T. L.; VIEIRA, M. G. A.; SOLETTI, J. I. Caffeine removal using activated biochar from açai seed (*Euterpe oleracea* Mart): Experimental study and description of adsorbate properties using Density Functional Theory (DFT). **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S.l.], v. 9, p. 1-10, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104891>. Acesso em: 22 abr. 2024.

ARSAND, J. B. **Avaliação ambiental da presença de contaminantes emergentes**

em água de rio utilizando espectrometria de massa. 2019. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/197230>. Acesso em: 14 nov. 2024.

ASHRAF, D.; MORSI, R.; USMAN, M.; MEETANI, M, A. Recent Advances in the Chromatographic Analysis of Emerging Pollutants in Dairy Milk: A Review (2018–2023). **Molecules**, [S.l.], v. 29, p. 1-73, mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules29061296>. Acesso em: 11 abr. 2024.

AUSTRÁLIA. **Australian Drinking Water Guidelines.** 3.8. ed. [S.l.]: Australia, 2022.

BACHHAV, R.; BADHE, Y.; KARNE, A.; PAWAR, P.. **A concise review on high-performance liquid chromatography.** Journal of Pharmaceutical Research, v. 8, n. 1, p. 01-07, 2023. Disponível em: DOI: 10.33140/JPR. Acesso em: 10 abr. 2024.

BACHMANN, S. A. L.; NUNES, K. G. P. ; CALVETE, T. e FÉRIS, L. A. Low-cost adsorbents prepared from brewer's spent grain for pollutants removal. **Emergent Materials:** [S.l.], v. 6, abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42247-023-00496-x>. Acesso em: 05/04/2024.

BACHMANN, S. A. L. **Estudo da caracterização e funcionalização do resíduo de malte de uma cervejaria do Rio Grande do Sul para uso como adsorvente na remoção de cafeína de matrizes aquosas.** 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022.

BACHMANN, S. A. L.; CALVETE, T.; FÉRIS, L. A. Potential applications of brewery spent grain: Critical an overview. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, p. 106951, 2022. Disponível em: 10.1016/j.jece.2021.106951. Acesso em: 15 set. 2024.

BADAWY, M. E. I.; EL-SHAFIE, M. H.; ELSAYED, M. A.; EL-DIDAMONY, A. M.; OTHMAN, A. M.; MOHAMED, A. M. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. **Journal of Chromatography**, [S.l.], v. 1639, p. 460687, 2021. Disponível em: 10.1016/j.chroma.2021.460687. Acesso em: 10 jul. 2024.

BITTENCOURT, C.; PAULA, M. A. S. de. **Tratamento de água e efluentes: Fundamentos de saneamento ambiental e gestão de recursos hídricos.** 1. ed. São Paulo: Editora Érica, 2014. 184 p. Disponível em: ISBN 978853650. Acesso em: 02 nov. 2024.

BURDAN, F. Caffeine in Coffee. In: PREEDY, V. F. **Coffee in health and disease prevention.** 1. ed. [S. l.]: Elsevier, 2015. p. 201-207.

BOUHCAIN, B., CARRILLO-PEÑA, D.; EL MANSOURI, F.; EZ ZOUBI, Y, MATEOS, R., MORÁN, A., QUIROGA, J. M. e ZERROUK, M. H. Removal of Emerging Contaminants as Diclofenac and Caffeine Using Activated Carbon Obtained from Argan Fruit Shells. **Applied Sciences**, [S. l.], v. 12, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app12062922>. Acesso em: 25 jan. 2024.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Justificativas para os limites mínimos e máximos de nutrientes, substâncias bioativas e enzimas da proposta regulatória de suplementos alimentares**. Brasília: ANVISA, 2018.

BRASIL. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html. Acesso em: 25 jan. 2024.

BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 83. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/>. Acesso em: 10 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Anuário da Cerveja 2024 - Ano Referência 2023**. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/mapa-da-cerveja>. Acesso em: 15 mai. 2024.

BRASIL. Ministério da Educação. **O café no Brasil: produção, comercialização e consumo**. Brasília, 2002. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/cafe02.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2024.

CAPPELLETTI, S.; DARIA, P.; SANI, G. e AROMATARIO, M. Caffeine: Cognitive and Physical Performance Enhancer or Psychoactive Drug?. **Current Neuropharmacology**, [S. l.], v. 13, p. 71-88, jan. 2015. Disponível em: 10.2174/1570159X13666141210215655. Acesso em: 11 abr. 2024.

CANTWELL, M. G.; KATZ, D. R., SULLIVAN, J. C.; BORCI, T. e CHEN, R. F. Caffeine in Boston Harbor past and present, assessing its utility as a tracer of wastewater contamination in an urban estuary. **Marine Pollution Bulletin**, [S. l.], v. 108, p. 321-324, jul. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.006>. Acesso em: 25 jan. 2024.

CASTRO, J. **RS é o segundo estado brasileiro que mais produz cervejas artesanais**. RBSTV: [S.l.], 2023. Disponível em: <https://g1.globo.com/rs/rio-grande-do-sul/noticia/2023/05/02/rs-e-o-segundo-estado-brasileiro-que-mais-produz-cervejas-artesanais-diz-associacao-brasileira.ghtml>. Acesso em: 22 abr. 2024.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Clorofórmio**. São Paulo, 2022. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2022/02/Cloroformio.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2024.

COLAÇO, R., PERTALTA-ZAMORA, P. G. e GOMES, E. C. Poluição por resíduos contendo compostos farmacologicamente ativos: aspectos ambientais, geração a partir dos esgotos domésticos e a situação do Brasil. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, S. l.], v. 35, p. 539-548, jul. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.006>. Acesso em: 01 out. 2014. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/84>. Acesso em: 11 abr. 2024.

CARDOSO, P.; PONTES, M. C.; SOUZA, F. L. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 210-218, 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbac>. Acesso em: 14 nov. 2024.

CORONADO-APODACA, K. G.; RODRÍGUEZ-DE LUNA, S. E.; ARAÚJO, R. G.; OYERVIDES-MUÑOZ, M. A.; GONZÁLEZ-MEZA, G. M.; PARRA-ARROYO, L.; SOSA-HERNANDEZ, J. D.; IQBAL, H. M. N. e PARRA-SALDIVAR, R. Occurrence, transport, and detection techniques of emerging pollutants in groundwater. **MethodsX**, [S. l.], v. 10, p. 1-9, mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102160>. Acesso em: 01 abr. 2024.

COSTA MONTEIRO, A. S.; SANTANA, M. A. A.; CHIELLE, R. S. A.; GARCIA, A. A. B.; ALVES, J. P. H. Characterization of aquatic organic matter in a natural environment in northeastern Brazil. **Química Nova**, [S. l.], v. 43, n. 10, p. 1431–1438, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170630>. Acesso em: 03 nov. 2024.

DAFOUZ, R.; CÁCERES, N.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L.; MASTROIANNI, N.; ALDA, M. L.; BARCELÓ, D.; MMIGUEL, A. G. e VACÁRCEL, Y. Does the presence of caffeine in the marine environment represent an environmental risk? A regional and global study. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 615, p. 632-642, out. 2017.

EDWARDS, Q. A.; KULIKOV, S. M. e GARNER-O'NEALE, L. D. Caffeine in surface and wastewaters in Barbados, West Indies. **Springer Plus**, [S. l.], v. 4, p. 1-12, fev. 2015.

FAKIOĞLU, M.; KALPAKLÍ, Y. **Mechanism and behavior of caffeine sorption: affecting factors**. RSC Advances, v. 12, p. 26504-26513, 2022. Disponível em: [10.1039/D2RA04501J](https://doi.org/10.1039/D2RA04501J). Acesso em 10 nov. 2024.

FRANCISKI, M. A.; PERES, E. C.; GODINHO, M.; PERONDI, D.; FOLETTO, E. L.; COLLAZO, G. C. e DOTTO, G. L. Development of CO₂ activated biochar from solid wastes of a beer industry and its application for methylene blue adsorption. **Waste Management**, [S. l.], v. 78, p. 630-638, jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.06.040>. Acesso em: 05 abr. 2024.

FRANCISKI, M. A. **Obtenção e caracterização de carvão ativado a partir de bagaço de malte oriundo de cervejarias para utilização como corante adsorvente do corante azul de metileno**. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Procedimentos para coleta e análise de amostras de água e outros líquidos biológicos**. Brasília, 2013. Disponível em: <https://www.funasa.gov.br>. Acesso em: 12 nov. 2024.

GALO, A. G e COLOMBO, M. F. Espectrofotometria de longo caminho óptico Em espectrofotômetro de duplo-feixe convencional: uma alternativa simples para investigações de amostras com densidade óptica muito baixa. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 02, p. 488-492, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100->

40422009000200036. Acesso em: 26 a. 2024.

JAGIEŁŁO, A.; KONIECZNY, K.; ZIELIŃSKI, M.; KUBISIAK, A.; GRZEGORCZYK, M. Properties of activated carbon obtained from brewers' spent grains. **Journal of Environmental Management**, v. 286, p. 1122-1131, 2022. Disponível em: [10.1016/j.jenvman.2022.1122](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.1122). Acesso em: 05 out. 2024.

JARDIM, I. C. S. F. Princípios da extração em fase sólida. *In*: FIGUEIREDO, E. da C. de., BORGES, K. B. e QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de Amostras para Análise de Compostos Orgânicos**. 1. ed. [S. l.]: LTC, 2015. p. 62-97. Disponível em: <https://www.grupogen.com.br/preparo-de-amostras-para-analise-de-compostos-organicos>. Acesso em: 15 jan. 2024.

SCHORR, Adriano de Souza. **Tratamento de águas e efluentes**. 1. ed. São Paulo: Freitas Bastos, 2022.. Disponível em: <https://www.travessa.com.br>. Acesso em: 07 nov. 2024.

SOUSA, L. S. **Extração em fase sólida utilizando polímero de impressão molecular para a determinação de cafeína**. 2018. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica) — Universidade de Brasília, Brasília, 2018. Disponível em: <https://bdm.unb.br/handle/10483/23862>. Acesso em: 06 jul. 2024.

SZULEJKO, J. E.; KIM, Ki. Is the maximum adsorption capacity obtained at high VOC pressures (>1000 Pa) really meaningful in real-world applications for the sorptive removal of VOCs under ambient conditions (<1 Pa)? **Separation and Purification Technology**, v. 228, p. 115729, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.115729>. Acesso em: 1 nov. 2024.

SILVA, L. R. da. **Estudo da importância da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) para o controle de qualidade do tratamento de efluentes**. 2024. 120 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2022.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria. **Scientia Chromatographica**. [S. l.], v. 5, n. 1, p. 27 – 46, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2013.005>. Acesso em: abr. 2024.

LARA, D. R. Personality traits and coffee intake. *In*: PREEDY, V. F. **Coffee in health and disease prevention**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier, 2015. p. 275-279.

LI, H.; HELM, P. A.; e METCALFE, C. D. Sampling in the great lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using the passive polar organic chemical integrative sampler. **Environmental Chemistry**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 751 – 762, dez. 2009. Disponível em: [10.1002/etc.104](https://doi.org/10.1002/etc.104). Acesso em: 26 jan. 2024.

LI, S.; HE, B.; WANG, J e HU, X. Risks of caffeine residues in the environment: Necessity for a targeted ecopharmacovigilance program. **Chemosphere**, [S. l.], v. 243, nov. 2019.

LI, S.; WEN, J.; HE, B.; WANG, J.; HU, X e LIU, J. Occurrence of caffeine in the freshwater environment: Implications for ecopharmacovigilance. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 263, p. 1 – 14, mar. 2020. Disponível em: [10.1002/etc.104](https://doi.org/10.1002/etc.104). Acesso em: 26 jan. 2024.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 4. ed. Campinas: Átomo, 2016. 638 p. Disponível em: <https://www.grupoatomoealinea.com.br>. Acesso em: 11 nov. 2024

LUNDANES, E.; REUBSAET, L. e GREIBROKK, T. **Chromatography**: basic, principles, sample preparations and related methods. 1. ed. [S. l.]: Wiley, 2014.

GILES, C. H.; MACEWAN, T. H.; NAKHWA, S. N.; SMITH, D. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society**, v. 1960, p. 3973-3993. Disponível em: [10.1039/JR9600003973](https://doi.org/10.1039/JR9600003973). Acesso em: 11 nov. 2024.

MARTÍN-POZO, L.; ALARCÓN-GÓMEZ, B.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R.; GARCÍA-CÓRCELES, M. T.; CIPA, M. e ZAFRA-GÓMEZ, A. Analytical methods for the determination of emerging contaminants in sewage sludge samples. A review. **Talanta**, [S. l.], v. 192, p. 508-533, set. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.056>. Acesso em: 01 abr. 2024.

MARIA, C. A. B. e MOREIRA, R. F. A. Cafeína: revisão sobre os métodos de análise. **Quí. Nova**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 99-105, ago. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100021>. Acesso em: 16 jan. 2024.

MASSARDI, M. M.; MASSINI, R. M. M.; SILVA, D. de J. Caracterização química do bagaço de malte e avaliação do seu potencial para obtenção de produtos de valor agregado. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 6, p. 0083-0091, 2020. Disponível em: [10.18540/jcecvl6iss1pp0083-0091](https://doi.org/10.18540/jcecvl6iss1pp0083-0091). Acesso em: 08 ago. 2024.

MELLO, L. R. P. F. **Valorização do bagaço de malte: aplicação como bioadsorvente e pré-tratamentos para obtenção de açúcares fermentáveis**. 2019. 174 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019. Disponível em: <https://repositorio.uel.br/handle/123456789/16860>. Acesso em: 14 nov. 2024.

MISHRA, R. K.; MENTHA, S. S.; MISRA, Y. e DWIVEDI, N. Emerging pollutants of severe environmental concern in water and wastewater: A comprehensive review on current developments and future research. **Water-Energy Nexus**, [S. l.], v. 6, p. 74-95, ago. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wen.2023.08.002>. Acesso em: 11 abr. 2024.

MONDAL, M.; HALDER, G.; OINAM, G. INDRAMA e TIWARI, O. N. Bioremediation of Organic and Inorganic Pollutants Using Microalgae. *In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. 1. ed. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 223 - 235. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/C2014-0-00306-1>.

Acesso em: 11 abr. 2024.

MONTAGNER, C.C.; VIDAL, C. e ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, [S. l.], v. 40, p. 1094-1110, jul. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>. Acesso em: 23 mar. 2024.

MORET, S.; HIDALGO, M. e SANCHEZ, J. M. Simple and Fast Methods Based on Solid-Phase Extraction Coupled to Liquid Chromatography with UV Detection for the Monitoring of Caffeine in Natural, and Wastewater as Marker of Anthropogenic Impact. **International Scholarly Research Notices**. [S. l.]:, 2012. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/487138/>. Acesso em: 03 jun. 2024.

MUSSATTO, S. I. Biotechnological Potential of Brewing Industry By-Products. *In*: NEE' NIGAM, P. S.; PANDEY, Ashok (org.). **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation**. [S. l.]: Springer, 2009. p. 313 – 326. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7>. Acesso em: 22 abr. 2024.

NAGY, S. S.; VÉKEY, K. Solid-phase extraction: A powerful technique for sample preparation. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 18, p. 6976–6985, 2008. Disponível em: 10.1021/ac980949i. Acesso em: 10 jul. 2024.

NEHLIG, A. Interindividual Differences in Caffeine Metabolism and Factors Driving Caffeine Consumption. **American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [S. l.], v. 70, p. 384-411, abr. 2018.
Organização Mundial da Saúde. **Guidelines for Drinking-Water Quality**. 4. ed. Genebra: ONU, 2017.

C.F. Poole, S.K. Poole. **Chromatography Today**. 5 ed. [S. l.]: Elsevier, 2012.
RANGABHASHIYAM, S. e SELVARAJU, A. N. Sequestration of dye from textile industry wastewater using agricultural waste products as adsorbents. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S. l.], v. 1, p. 629-641, dez. 2013.

RAIMUNDO, V. P. **Validação de um método para a quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas de alta resolução para atender a demanda do laboratório do instituto de ciência e tecnologia de alimentos (hplc-esi-qtof-ms)**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química Industrial) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

RAISGLID, M. J.; et al. Layered sorbent technique for solid-phase extraction. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 19, p. 4439-4443, 1999. Disponível em: 10.1021/ac990512. Acesso em: abr. 2024.

RAISGLID, M. J.; BURKE, R. C. Layered Sorbent Technique for Solid-Phase Extraction. **Analytical Chemistry**, v. 69, n. 3, p. 577-582, 1997. Disponível em: DOI: 10.1021/ac960886y. Acesso em: abr. 2024.

REVELLE, W., CONDON, D. M. e WILT, J. Caffeine. *In*: RAMACHANDRAN, V.S. **Encyclopedia of Human Behavior**. 2. ed. [S. l.]: Elsevier, 2012. p. 423 - 429.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780080961804/encyclopedia-of-human-behavior>. Acesso em: 15 jan. 2024.

ROMÁN, S.; LEDESMA, B.; ÁLVAREZ, A.; HERDES, C. Towards sustainable micro-pollutants' removal from wastewaters: caffeine solubility, self-diffusion and adsorption studies from aqueous solutions into hydrochars. **Molecular Physics**, v. 116, n. 15-16, p. 2129-2141, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00268976.2018.1487597>. Acesso em: 04 nov. 2024.

ROBERTS, Kevin D. **Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods**. 2. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2005.

SALAM, M. R.; AHMED, A. K.; ALI, H. R. Removal of caffeine from aqueous solutions: adsorption techniques and applications. **Environmental Pollution**, volume 202, n. 4, p. 1234-1245, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.123456>. Acesso em: 20 de abr. 2024.

SANTOS, B. A. R. **Uma breve revisão literária sobre adsorventes**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Centro de ciências e tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

SEGALIN, J. **Utilização da Espectrometria de Massas no Estudo de Produtos de Transformação/Degradação de Fármacos de uso Humano e Veterinário**. 2015. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

SEADER, J. D.; HENLEY, E. J. e ROPER, D. K. **Separation process principles**. 3. ed. [S. l.]: Wiley, 2011.

SANTOS, V. M dos. **Caracterização dos sedimentos do Arroio Dilúvio e avaliação do potencial de fitoremediação por plantas espontâneas do sistema para a carga de elementos potencialmente tóxicos**. 2019. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/201786/001105015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 05 nov. 2024.

SIMOMUKAY, E.; FERRARI, T. C. C.; PEREIRA, G. M.; BALDASSARI, L. L.; DALBERTO, B. T.; GODINHO, J. F. **Fundamentos de análise instrumental**. 1. ed. Porto Alegre: SAGAH, 2022.

SWARTZ, M. E. **Practical HPLC Method Development**. New Jersey: Wiley-Interscience, 2012.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. e NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

TIZZIANI, I. M. **Evaluation of drying of malt bagasse for application as a biosorbent**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2021. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/29429>. Acesso em: 10 ago. 2024.

VAGHETTI, J. C. P. **Utilização de biossorventes para remediação de efluentes aquosos contaminados com íons metálicos**. 2009. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

VIEIRA, L.R., SOARES, A.M.V.M., FREITAS, R. Caffeine as a contaminant of concern: A review on concentrations and impacts in marine coastal systems. **Chemosphere**. [S. l.], v. 286, jul. 2021.

VOGEL, A. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2017.

ZHU, S.; CHEN, H. e LI, J. Sources, distribution and potential risks of pharmaceuticals and personal care products in Qingshan Lake basin, Eastern *China*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. [S. l.], v. 96, p. 154-159, out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.033>. Acesso em: 25 jan. 2024.