



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE QUÍMICA

ARARAQUARA



TESE DOUTORADO

THIAGO MESCOLOTO LIZIER

MARÇO/2014

THIAGO MESCOLOTO LIZIER

Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Interesse Ambiental por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detectores de Arranjo de Diodo, Eletroquímico e Espectrometria de Massas

Tese apresentada no Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutor em Química

Orientadora: Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni

Araraquara

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

L789a Lizier, Thiago Mescoloto
Análise de aminas aromáticas em amostras de interesse ambiental por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detectores de arranjo de diodos, eletroquímico e espectrometria de massas / Thiago Mescoloto Lizier. – Araraquara : [s.n], 2014
202 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Maria Valnice Boldrin Zanoni

1. Química analítica. 2. Aminas aromáticas.
3. Corantes. 4. Líquido iônico. 5. Cromatografia. I. Título.

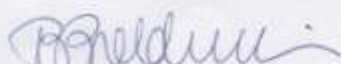
Elaboração: Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

THIAGO MESCOLOTO LIZIER

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutor em
Química.

Araraquara, 17 de março de 2014.

BANCA EXAMINADORA



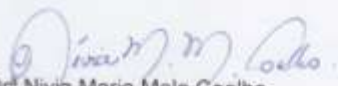
Profª Drª Maria Valnice Boldrin (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara - SP



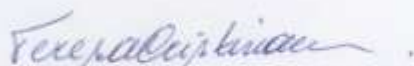
Prof. Dr. Manoel Lima de Menezes
Faculdade de Ciências – UNESP, Bauru - SP



Profª Drª Sônia Maria Alves Jorge
Instituto de Biociências – UNESP, Botucatu - SP



Profª Drª Nivia Maria Melo Coelho
Instituto de Química – UFU, Uberlândia - MG



Profª Drª Teresa Cristina Rodrigues dos Santos Franco
Centro Tecnológico – UFMA, São Luís - MA

Thiago Mescoloto Lizier
Curriculum Vitae

Janeiro/2014

Thiago Mescoloto Lizier

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Thiago Mescoloto Lizier
Filiação Wagner Pedro Lizier e Conceição Aparecida Mescoloto Lizier
Nascimento 22/02/1981 - Tietê/SP - Brasil
Carteira de Identidade 42484400X SSP-SP - SP - 18/12/1996
CPF 297.860.058-64

Formação acadêmica/titulação

2010 Doutorado em Química Analítica (Arar.).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Análise de Aminoácidos Aromáticos em Amostras de Interesse Ambiental por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detectores de Arranjo de Diodo, Eletroquímico e Espectrometria de Massas, Ano de obtenção: 2013
Orientador: Maria Valnice Boldrin Zanoni
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

2007 - 2009 Mestrado em Química Analítica (Arar.).
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Ocorrência de Aminoácidos Aromáticos como Subprodutos da degradação dos Corantes Sudan III e Disperso Amarelo 9, Ano de obtenção: 2009
Orientador: Maria Valnice Boldrin Zanoni
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2003 - 2006 Graduação em Bacharelado em Química Tecnológica.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Título: Relatório de estágio Supervisionado
Orientador: Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli

Formação complementar

2004 - 2005 Extensão universitária em Bacharelado em Química Tecnológica.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Atuação profissional

1. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

Vínculo institucional

2006 - 2006 Vínculo: estagiário , Enquadramento funcional: estagiário , Carga horária: 40, Regime: Integral

Projetos

Projetos de pesquisa **2010 - 2013** Estudo da Influência de Líquidos Iônicos na Determinação de Aminas Aromáticas Provenientes de Tinturas de Cabelo por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detectores de Arranjo de Diodo e Eletroquímico.

Descrição: O presente trabalho tem por objetivo desenvolver métodos analíticos para determinação de 23 aminas condenadas pela IARC, visando detectar e quantificar estes compostos como subprodutos em amostras de corantes de cabelo comercial, e águas e esgotos oriundos de salão de beleza, onde normalmente apresenta-se em baixos níveis de concentração. Para isto, pretende-se estudar a oxidação voltamétrica Destas aminas aromáticas sobre superfície de eletrodo de carbono vítreo sem e com modificação por nanotubos de carbono/líquidos iônicos em meio aquoso, visando otimizar sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detector eletroquímico (HPLC-ED) para Determinação destas aminas. O efeito do líquido iônico sobre a separação cromatográfica Destas aminas também será utilizada como eletrólito na fase móvel em sistemas de cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos(HPLC-DAD) e HPLC-ED convencional, visando melhorar a resolução dos picos, reduzir o tempo de retenção dos analitos e melhorar a estabilização da linha de base dos sinais cromatográficos.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Thiago Mescoloto Lizier, Maria Valnice Boldrin Zanoni.

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. ZANONI, THALITA BOLDRIN, LIZIER, THIAGO M., ASSIS, MARILDA DAS DORES, ZANONI, MARIA VALNICE B., DE OLIVEIRA, DANIELLE PALMA

CYP-450 isoenzymes catalyze the generation of hazardous aromatic amines after reaction with the azo dye Sudan III. Food and Chemical Toxicology, v. 57, p. 217-226, 2013.

2. FERRAZ, E.R.A., OLIVEIRA, G.A.R., GRANDO, M.D., LIZIER, T.M., ZANONI, M.V.B., OLIVEIRA, D.P. Photoelectrocatalysis basDE on Ti/TiO₂ nanotubes removes toxic properties of the azo dyes Disperse Red 1, Disperse Red 13 and Disperse Orange 1 from aqueous chloride samples. Journal of Environmental Management, v. 124, p. 108-114, 2013.

3. LIZIER, THIAGO MESCOLOTO, BOLDRIN ZANONI, MARIA VALNICE

Effect of Ionic Liquid on the Determination of Aromatic Amines as Contaminants in Hair Dyes by Liquid Chromatography Coupled to Electrochemical Detection. Molecules (Basel. Online), v. 17, p. 7961-7979, 2012.

4. LIZIER, T. M., ZANONI, T B, PALMA, DP, ZANONI, MARIA VALNICE BOLDRIN

Electrochemical Reduction as a Powerful Tool to Highlight the Possible Formation of By-Products More Toxic Than Sudan III Dye. International Journal of Electrochemical Science (Online), v. 7, p. 7784, 2012.

5. CHEQUER, FARAH MARIA DRUMOND, VENÂNCIO, VINÍCIUS DE PAULA, MESCOLOTO LIZIER, THIAGO, ZANONI, MARIA VALNICE BOLDRIN, BIANCHI, MARIA LOURDES PIRES, ANTUNES, LUSÂNIA MARIA GREGGI

The Food Dye Quinoline Yellow and Its Metabolites Can Cause DNA Damage on HepG2 Cells. Free Radical Biology & Medicine, v. 53, p. S83, 2012.

6. CHEQUER, FARAH MARIA DRUMOND, LIZIER, THIAGO MESCOLOTO, DE FELÍCIO, RAFAEL, ZANONI, MARIA VALNICE BOLDRIN, DEBONSI, HOSANA MARIA, LOPES, NORBERTO PEPORINE, MARCOS, RICARD, DE OLIVEIRA, DANIELLE PALMA

Analyses of the genotoxic and mutagenic potential of the products formed after the biotransformation of the azo dye Disperse Red 1. *Toxicology in Vitro*, v. 25, p. 2054-2063, 2011.

7. OLIVEIRA, G.A.R., FERRAZ, E.R.A., CHEQUER, F.M.D., GRANDO, M.D., ANGELI, J.P.F., TSUBOY, M.S., MARCARINI, J.C., MANTOVANI, M.S., OSUGI, M.E., LIZIER, T.M., ZANONI, M.V.B., OLIVEIRA, D.P.

Chlorination treatment of aqueous samples reduces, but does not eliminate, the mutagenic effect of the azo dyes Disperse Red 1, Disperse Red 13 and Disperse Orange 1. *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 703, p.200-208, 2010.

8. LIZIER, T.M., ZANONI, M.V.B

Evaluation of aromatic amines generated as byproducts during reduction of Sudan III dye by chemical, biological and electrochemical methods. *Bioelectrochemistry (Amsterdam)*, v. 124, p. 222, 2010.

9. CARDOSO, JULIANO CARVALHO, LIZIER, THIAGO MESCOLOTO, ZANONI, MARIA VALNICE BOLDRIN

Highly ordered TiO₂ nanotube arrays and photoelectrocatalytic oxidation of aromatic amine. *Applied Catalysis. B, Environmental (Print)*, v. 99, p. 96-102, 2010.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

À Deus que pela minha fé me dá força, garra e sabedoria para lutar sempre e não desistir jamais. Quem luta sempre alcança. Obrigado pela minha vida e minha saúde.

Aos meus pais, Conceição e Wagner por todos os ensinamentos, carinho, dedicação, confiança, força, garra. Tudo o que sou devo à vocês.

Ao meu irmão, Matheus e minha cunhada Thabata, por estar presente em todos os momentos.

AMO MUITO VOCÊS.

Agradecimentos

Aos meus pais, por todo o apoio, dedicação, durante toda a minha vida, sem vocês nada disso seria possível, muito obrigado por acreditarem em mim e sempre me ajudar quando precisei. A meu irmão Matheus, sempre me dando apoio. Obrigado a minha cunhada Thabata por sempre me apoiar e ajudar em todos os momentos.

Agradeço aos meus avós maternos (in memoriam) Alba e Ângelo, por todos os ensinamentos durante minha infância já que vocês ajudaram a me criar com muito amor e carinho. Agradeço também ao meu avô paterno, Nelson (in memoriam), por toda a convivência, pelos ensinamentos e dedicação e agradeço minha vó Dade por todo o carinho, ensinamentos.

A professora Valnice, pela oportunidade de trabalhar no grupo. Nestes sete anos de convivência aprendi muito com você. Obrigado por tudo, principalmente por nunca ter desistido em me ensinar a escrever ... missão praticamente impossível Nesses anos estive sempre disposta a ensinar, tirar as dúvidas e incentivar quando todos os experimentos estão dando errado. Mais que uma orientadora, uma mãe do laboratório; Val você foi e continuará sendo uma pessoa muito especial. Nunca irei esquecer de tudo o que você fez por mim. Obrigado por tudo, adoro você.

Aos professores, Nelson, Hideko e Pilar, pela grande colaboração ao grupo de pesquisa.

A todos os amigos do IQ, que nesses 11 anos sempre juntos em todos os momentos. Agradeço em especial aos amigos que fiz na graduação, Michelle, Priscila, Kinho, Adriano, João, Stephane, Gabriel, João e todos outros que em todos esses anos fizeram parte da família Araraquarense.

Aos amigos do grupo de eletroanalítica, Michelle, Maysa, José Luis (Zezinho), Marco, Acelino, Leonardo Paim, Lúcio, Bianca, Marco Vasconcelos, Marcos Vinicius (Harry), Naira, Juliana, Felipe, Ademar, Fabiana, Luciana, Juliano, Luciano, Thais Tasso, Guilherme Bessegato, Guilherme Zocolo. Vocês foram minha segunda família durante toda essa jornada.

Um agradecimento especial à Michelle por me aguentar durante toda a graduação, mestrado e doutorado ... foram 11 anos juntos uma vida né????? Bem auspicioso fazer parte da sua vida nesses anos. Adoro vc Mi.

Um agradecimento especial aos meus amigos de Tietê e região, Tiago Carniel, Toby, Giovanni, José Everton, Alexandre, Diego Cassini (Bombom), Paulo Henrique (Juba), Thomas Bete, Kauê, Yuri Moraes, Matheus (Matias), Welton (Chedu), Filé, Paulo, Gregory, João (Juuh), Alessandro (Bundinha), Evandro Saconi, Gui LP, Ciganinho, Du e todos mais que fizeram parte da minha vida ate hoje. Muito obrigado, sem vocês eu não seria o mesmo. Valeu mesmo.

Um agradecimento aos meus novos amigos da JM BioAnalises, em Botucatu, Marcelo Giotto, Marcelo Viana (Marcelinho), Gabriel Duarte, André Cardoso, Diego Sanches, Antonio Ortolan, Marlene Targa, Ana Paula Dias, Raquel, Inácia, Josué, Cacilda, Barbara, Junior MoDEsto, Lucas Pessin, Mariane, Bruna, Tamires, Juliana, Carlos, Guilherme, Giovana.

Agradecimento especial ao pessoal do ICRA, Girona-Espanha. Sara Rodrigues, Damià Barceló, Nuria, Marta Llorca, Dani, Elisabet, Belinda, Marta Vilagrassa, Meri, Sara. Muito obrigado pela oportunidade para eu fazer estágio com vocês e conhecer uma nova cultura.

Agradeço também a toda a minha família que amo tanto. As minhas primas Nancy, Joana Cecília, Cidinha, Marisa, Danusa, Karina, Flavia, Rosana. Aos meus primos Ricardo, Renato, Marquinho, Marcos, Amadeu, Carlos, Cisinho, Junior, Lucas, Mario Sergio, Dalmo, Nelsinho, Renato, Rafael, Gustavo Nelson e Gustavo. Às minhas tias e tios, Terezinha, Santo, Pedro, Tere, Joana, Ciso, Helena, Mario, Ana Maria, Antonia, Juca, José, Ângela, Edval, Edson, Nilson, Claudia, Sandra, Fátima, Alda. Vocês são muito especiais na minha vida, sempre me ensinando o lado certo da vida e sempre se dedicando a minha educação.

Agradeço a todos os funcionários e professores do Instituto de Química.

Agradeço a FAPESP (Processo 2009/19433-8) pela bolsa concedida. A Capes pela bolsa de doutorado sanduíche em Girona-Espanha.

Julgar sem conhecer é ter inveja sem admitir"

"Enquanto Deus for meu chão, ninguém me derruba"

RESUMO

O presente trabalho investiga novos métodos analíticos para análise de aminas aromáticas selecionadas em virtude de suas propriedades toxicológicas e/ou mutagênicas em amostras de interesse ambiental usando técnicas cromatográficas com diversos detectores. Após otimização das condições cromatográficas as aminas aromáticas: 4,4'-oxidianilina, anilina, 2,4-diaminotoluidina, 4,4'-diaminobifenila, 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), 3,3'-diclorobenzidina, 2-aminonaftaleno, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 2-cloro-4-nitroanilina, 4-aminobifenila, 2-metoxi-5-metilanilina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 4-cloroanilina e 3,3'-diclorobenzidina apresentaram picos bem definidos em fase móvel metanol/água 70:30 (v/v) e vazão de $0,8 \text{ ml min}^{-1}$ classificadas como grupo I. As aminas 1,4-diaminobenzeno, 4,4'-metilbenzeno-1,4-diamina, p-aminofenol, N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno, 2,5-dimetilanilina, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina e 4-cloro-2-metilanilina foram agrupadas no grupo II, melhor separadas em fase móvel acetonitrila/água 60:40 (v/v), vazão $0,8 \text{ ml min}^{-1}$ e $T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A comparação entre os detectores de arranjo de diodos (DAD) e eletroquímico (ED) foram conduzidos nestas condições otimizadas e curvas analíticas lineares foram construídas para todas estas aminas entre 1 a 250 mg L^{-1} (detector DAD = 230 nm) e 0,5 a 250 mg L^{-1} (detector ED - $E_p = +1,0\text{V}$), utilizando para isto a adição de $30 \times 10^{-3} \text{ Mol L}^{-1}$ do líquido iônico BMIm-NTf₂ (1-butil-3-metilimidazólio de bis(trifluorometilsulfonil)imida). A adição do líquido iônico promoveu melhor separação e aumento na intensidade dos picos cromatográficos em ambos os detectores. O limite de detecção das aminas por HPLC-DAD e HPLC-ED mostraram valores entre 1,27 a $10,2 \text{ mg L}^{-1}$ e 1,33 a $6,04 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. O limite de quantificação das aminas por HPLC-DAD e HPLC-ED mostraram valores entre 4,24 a $34,0 \text{ mg L}^{-1}$ e 4,44 a $20,1 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A adição do líquido iônico favoreceu a determinação das aminas por ambos os métodos, mas houve melhor detecção quando acoplado ao detector eletroquímico. A modificação do detector eletroquímico no sistema HPLC foi investigado pelo recobrimento de eletrodo de carbono vítreo com gel de nanotubos de carbono (5 mg) e líquido iônico BMIm-NTf₂ (100 μL). Neste detector alcançou-se limites de detecção e quantificação entre 0,72 a $2,56 \text{ mg L}^{-1}$ e 2,40 a $9,75 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente para as aminas de interesse. O sinal eletroquímico no eletrodo modificado apresentou em média corrente 20% maior que no eletrodo de carbono vítreo convencional usado como detector eletroquímico. O método HPLC-ED com eletrodo modificado foi aplicado para análise de 13 amostras de tonalizantes de cabelo, e 9 amostras de água natural. Em todas essas amostras foram detectadas aminas aromáticas. Um método de UHPLC-MS/MS com pré-concentração on line foi ainda desenvolvido para a detecção das 23 aminas aromáticas em água superficiais da cidade de Girona (Espanha) e Araraquara (Brasil), estação de tratamento de esgoto (entrada e saída) da cidade de Girona e Araraquara e água potável. Curvas analíticas foram construídas para detecção das aminas nas respectivas amostras e o método mostrou níveis de detecção da ordem de 0,97 a $52,8 \text{ pg mL}^{-1}$ para detecção offline e 0,81 a 44 pg mL^{-1} para detecção online. Exceto para as amostras de água potável que não mostraram ocorrência de nenhuma amina estudada, todas as outras matrizes mostraram a presença de aminas aromáticas.

Palavras-chaves: Aminas Aromáticas, Corante de Cabelo, HPLC-DAD, HPLC-ED, UHPLC-MS/MS

ABSTRACT

This work investigates new analytical methods for analysis of aromatic amines selected because of their toxicological and/or mutagenic properties in samples of environmental interest using chromatographic techniques with various detectors. After optimization of chromatographic conditions as aromatic amines: 4,4'-oxydianiline, aniline, 2,4-diaminotoluidina, 4,4'-diaminobifenila, 4,4'-methylenebis-(2-chloroaniline), 3,3'-dichlorobenzidine, 2-aminonaphthalene, 2-methylaniline, 2-methoxyaniline, 4,4'-diaminodiphenylmethane, 2-chloro-4-nitroaniline, 4-aminobifenila, 2-methoxy-5-methylaniline, 3,3'-dimethoxybenzidine, 4-chloroaniline and 3,3'-dichlorobenzidine showed well defined peaks in the mobile phase methanol/water 70:30 (v/v) and a flow rate of 0.8 mL min⁻¹ classified as group I. The amines 1,4-diaminobenzene, 4,4'-methylbenzene-1,4-diamine, p-aminophenol, N-monoacetyl-1,4-diaminobenzene, 2,5-dimethylaniline, 4,4'-methylene-bis-2-methylaniline and 4-chloro-2-methylaniline were grouped in group II, best separated in the mobile phase acetonitrile/water 60:40 (v/v), flow rate 0.8 mL min⁻¹ and T = 40°C. The comparison between the diode array detector (DAD) and electrochemical (ED) were conducted on these optimized conditions, linear calibration curves were constructed for all these amines from 1 to 250 mg L⁻¹ (DAD detector = 230 nm) and 0.5 to 250 mg L⁻¹ (detector ED - E_p = +1.0 V), using for this purpose the addition of 30 x 10⁻³ mol L⁻¹ of BMIm-NTf₂ ionic liquid (1-butyl-3-methylimidazolium-bis-(trifluoromethylsulfonyl)imide). The addition of ionic liquid promoted better separation and increase in the intensity of the chromatographic peaks in both detectors. The HPLC-DAD and HPLC-ED detection limit of the amines showed values between 1.27 to 10.2 mg L⁻¹ and 1.33 to 6.04 mg L⁻¹, respectively. The HPLC-DAD and HPLC-ED limit of quantification of the amines showed values between 4.24 to 34.0 mg L⁻¹ and from 4.44 to 20.1 mg L⁻¹, respectively. The addition of ionic liquid favors the determination of amines by both methods, but there were better detection when coupled with electrochemical detector. The modification of the electrochemical detector in HPLC system was investigated by coating of glassy carbon electrode with carbon nanotube gel (5 mg) and ionic liquid BMIm-NTf₂ (100 µL). This detector was reached limits of detection and quantification between 0.72 to 2.56 mg L⁻¹ and 2.40 to 9.75 mg L⁻¹, respectively, for the amine of interest. The electrochemical signal modified electrode showed the current average 20% higher than in conventional glassy carbon electrode used as electrochemical detector. The HPLC-ED method with modified electrode was applied for analysis of 13 samples of hair dye, and 9 natural water samples. In all these samples aromatic amines were detected. A method UHPLC-MS/MS with preconcentration on line has yet been developed for the detection of 23 aromatic amines in surface water of the city of Girona (Spain) and Araraquara (Brazil), sewage treatment plant (input and output) the city of Girona and Araraquara and drinking water. Analytical curves were constructed for detection of amines in the respective samples and the method showed levels of detection in the range from 0.97 to 52.8 pg mL⁻¹ for detection and offline from 0.81 to 44 pg mL⁻¹ for online detection. Except for the drinking water samples that did not show any ocorrência of amine studied, all other matrices showed the presence of aromatic amines.

Keywords: Aromatic Amines, Hair Dye, HPLC-DAD, HPLC-ED, UHPLC-MS/MS

Índice de Figuras

Figura 1: Esquema representativo da interação em um sólido iônico e um líquido iônico.	40
Figura 2: Contribuição dos cátions e ânions do líquido iônico na análise cromatográfica.	42
Figura 3: Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de 1,4-diaminobenzeno em 0,1 mol L ⁻¹ de LiCl, sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura (v) = 50 mV s ⁻¹ . a) eletrólito suporte 0,1 mol L ⁻¹ de LiCl (linha preta); b) oxidação da 1,4-diaminobenzeno (linha vermelha).	61
Figura 4: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidade de varredura de: a) 50 mV s ⁻¹ e b) 100 mV s ⁻¹ para oxidação de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de 1,4-diaminobenzeno em 0,1 mol L ⁻¹ de LiCl; (B) voltamogramas cíclicos com velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹ ; (C) gráfico de corrente versus raiz quadrada da velocidade de varredura para o primeiro pico I_{pa} e para o segundo pico I_{pa}	62
Figura 5 : Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ das aminas em 0,1 mol L ⁻¹ de LiCl, sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura (v) = 50 mV s ⁻¹ ; 0,1 mol L ⁻¹ de LiCl (linha preta); b) oxidação da amina (linha vermelha). (A) 2,4-diaminotoluidina; (B) 2,5-dimetilanilina; (C) 2-cloro-4-nitroanilina; (D) 2-metoxi-5-metilanilina; (E) 2-aminonaftaleno; (F) 3,3'-diclorobenzidina; (G) 3,3'-dimetilbenzidina; (H) 4,4'-diaminodifenilmetano; (I) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; (J) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina; (K) 4,4'-oxidianilina; (L) 4-aminobifenila; (M) p-aminofenol; (N) 4-cloro-2-metilanilina; (O) 4-cloroanilina; (P) anilina; (Q) 1,4-diaminobenzeno (R) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; (S) 2-metoxianilina; (T) 3,3'-dimetoxibenzidina; (U) 2-metilanilina; (V) 2-metilbenzeno-1,4-diamina.	63
Figura 6: Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de 1,4-diaminobenzeno em metanol e líquido iônico BMIm-BF ₄ (1:1) (A); BMIm-NTf ₂ (B); HMIm-PF ₆ (C) sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura = 50 mV s ⁻¹	69
Figura 7: Cromatogramas HPLC-DAD obtidos para 20 µL da mistura dos padrões de aminas do grupo 1 em concentração de 50 mg L ⁻¹ em metanol, Fase móvel: metanol/água 70:30 (v/v), λ = 230nm, fase estacionária C18.	72
Figura 8: Cromatograma HPLC-DAD a partir da injeção de 20 µL da mistura dos padrões de aminas do grupo I na concentração de 50mg L ⁻¹ em metanol utilizando BMIm-NTf ₂ como aditivo à fase móvel, λ = 230nm.	73
Figura 9: Cromatograma comparativo em 3D da aminas do grupo 1 na ausência (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm-NTf ₂ (curva A, preta) utilizando detecção de arranjos de diodos. Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L ⁻¹ de BMIm-NTf ₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18, λ = 230nm.	75
Figura 10: Esquema do mecanismo de separação no interior da coluna cromatográfica.	76
Figura 11: Gráfico de corrente em função do potencial aplicado na célula eletroquímica do sistema HPLC-ED para as aminas aromáticas do grupo 1. 4,4'-oxidianilina, anilina, 2,4-diaminotoluidina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 4,4'-diaminobifenila, 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, 2-aminonaftaleno, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetilbenzidina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4-aminobifenila, 2-metoxi-5-metilanilina, 4-cloroanilina e 3,3'-diclorobenzidina.	77
Figura 12: Cromatograma HPLC-ED obtidos para 20 µL da mistura dos padrões de aminas do grupo I em concentração de 50 mg L ⁻¹ em metanol em eletrodo de carbono vítreo. Fase móvel: metanol/água 70:30 (v/v), E = +1,00V. T = 40°C, vazão = 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18. a: 4,4'-diaminodifenilmetano; b: 4-cloroanilina; c: 2-metoxi-5-metilanilina; d: 3,3'-dimetilbenzidina; e: 2,4-diaminotoluidina; f: 2-cloro-4-nitroanilina; g: 4,4-oxidianilina; h: anilina; i: 3,3'-diclorobenzidina; j: 4,4'-diaminobifenila; k: 4-aminobifenila; l: 3,3'-dimetoxibenzidina; m: 2-metoxibenzidina; n: 2-metilanilina; o: 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina; p: 2-aminonaftaleno.	78
Figura 13: Cromatograma HPLC-ED a partir da injeção de 20 µL da mistura dos padrões de aminas do grupo I na concentração de 50mg L ⁻¹ em metanol utilizando BMIm-NTf ₂ em eletrodo de carbono vítreo. E = +1,00V Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L ⁻¹ de BMIm-NTf ₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18. a: 4,4'-diaminodifenilmetano; d: 3,3'-dimetilbenzidina; c: 2-metoxi-5-	

metilanilina; b : 4-cloroanilina; e : 2,4-diaminotoluidina; f : 2-cloro-4-nitroanilina; g : 4,4-oxidianilina; k : 4-aminobifenila; i : 3,3'-diclorobenzidina; j : 4,4'-diaminobifenila; h : anilina; l : 3,3'-dimetoxibenzidina; m : 2-metoxianilina; n : 2-metilanilina; p : 2-aminonaftaleno; o : 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina.	78
Figura 14 : Cromatograma comparativo em 3D das aminas do grupo 1 na ausência (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm-NTf ₂ (curva A, preta) utilizando DETecção eletroquímica. Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L ⁻¹ de BMIm-NTf ₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18, E = +1,0V.	79
Figura 15 : Cromatograma HPLC-DAD obtido para 20µL da mistura dos padrões de aminas do grupo 2 em concentração DE 50 mg L ⁻¹ em metanol, Fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v), λ = 230nm, T = 40°C, vazão = 0,80mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18. a : 2,5-dimetilanilina; b : 4-cloro-2-metilanilina; c : 1,4-diaminobenzeno; d : p-aminofenol; e : 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; f : N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; g : 2-metilbenzeno-1,4-diamina.	85
Figura 16 : Cromatograma HPLC-DAD a partir da injeção de 20µL da mistura dos padrões de aminas do grupo II em concentração de 50mg L ⁻¹ em metanol; Fase móvel: ACN/água + 30mM DE BMIm-NTf ₂ 60:40 (v/v); vazão: 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18, λ = 230nm.	86
Figura 17 : Cromatograma comparativo em 3D para o sistema HPLC-DAD das aminas do grupo II na ausência de líquido iônico (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm[NTf ₂] (curva A, preta) utilizando detecção de arranjos de diodos. Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L ⁻¹ de BMIm-NTf ₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18, λ = 230nm;	87
Figura 18 : Gráfico DE corrente em função do potencial aplicado na célula eletroquímica do sistema HPLC-DE para as aminas aromáticas do grupo 2. 2,5-dimetilanilina; 4-cloro-2-metilanilina; 4,4'-metileno-bis-(2-metilanilina); 1,4-diaminobenzeno; p-aminofenol; 2-metilbenzeno-1,4-diamina, N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno.	88
Figura 19 : Cromatograma HPLC-ED obtidos para 20µL da mistura dos padrões de aminas do grupo II em concentração de 50mg L ⁻¹ em metanol, Fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v), E= +1,00V, T = 40°C, vazão = 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18. a : 2,5-dimetilanilina; b : 4-cloro-2-metilanilina; c : 1,4-diaminobenzeno; d : p-aminofenol; e : 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; f : N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; g : 2-metilbenzeno-1,4-diamina.	89
Figura 20 : Cromatograma HPLC-DE a partir da injeção DE 20µL da mistura dos padrões DE aminas do grupo 2 em concentração DE 50mg L ⁻¹ em metanol, E= +1,00V; Fase móvel: ACN/água + 30mM DE BMIm-NTf ₂ 60:40 (v/v); vazão: 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18.	89
Figura 21 : Cromatogramas comparativos em 3D para o sistema HPLC-ED das aminas do grupo II na ausência de líquido iônico (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm[NTf ₂] (curva A, preta) utilizando detecção eletroquímica. Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L ⁻¹ de BMIm-NTf ₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18, E = +1,0V.	90
Figura 22 : Cromatograma obtido da injeção de 20µL de solução de tonalizante de cabelo comercial masculino preto da marca X em HPLC-DE para o grupo I. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ 70:30 (v/v), E= + 1,00V; a) 4,4-diaminodifenilmetano; b) 2,4-diaminotoluidina; c) 4,4'-oxidianilina; d) 4-aminobifenila; e) anilina; f) 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina.	95
Figura 23 : Cromatograma obtido após injeção de 20µL de solução de tonalizante de cabelo comercial masculino preto da Marca X em HPLC-ED para o grupo II. Fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf ₂ 60:40 (v/v), E= + 0,80V; g) 4-cloro-2-metilanilina; h) 2-metilbenzeno-1,4-diamina.	96
Figura 24 : Cromatograma obtido após injeção de 20µL de solução de tonalizante de cabelo comercial masculino loiro da marca Y em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ 70:30 (v/v), E= + 0,80V; a) 4,4-diaminodifenilmetano; b) 2,4-diaminotoluidina; c) 4,4'-oxidianilina; d) anilina; e) 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina.	97
Figura 25 : Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de 50 mg L ⁻¹ de 2-metilanilina sobre eletrodo de carbono vítreo sem modificação (curva a, preta) e após modificação com nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-NTf ₂ (curva b, vermelha) em meio de metanol/BMIm-NTf ₂ 30mM utilizando fio de Ag como referência. Velocidade de varredura (v) = 50 mV s ⁻¹	102
Figura 26 : Voltamograma cíclico da oxidação de Fc/Fc ⁺ sob eletrodo de carbono vítreo sem modificação (curva vermelha) e com modificação (curva azul) em meio de Metanol/BMIm-NTf ₂ 30mM. Velocidade de varredura (v): 50 mV s ⁻¹	103

- Figura 27:** Variação da corrente em função do potencial aplicado para oxidação de 50 mg L⁻¹ de 2-metilanilina sobre eletrodo de carbono vítreo após modificação com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-BF₄; curva vermelha: sem modificação em meio de líquido iônico BMIm-NTf₂; curva preta: modificado em meio de metanol líquido iônico BMIm-NTf₂; fase móvel: Metanol/água 70:30 (v/v) + 30mM de BMIm-NTf₂; T = 40°C. 106
- Figura 28:** Cromatograma HPLC-ED obtido para a injeção de 20µL da solução padrão das aminas do grupo I, sob eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e BMIm-NTf₂. Fase móvel: MeOH/água + 30 mM DE BMIm-NTf₂, vazão: 0,80 mL min⁻¹. E = +0,80V. 107
- Figura 29:** Cromatograma comparativo em 3D das aminas do grupo 1 sem modificação (curva B, vermelha) e com modificação (curva A, preta) utilizando detecção eletroquímica. Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +0,80V. 108
- Figura 30:** Variação da corrente em função do potencial aplicado para oxidação de 50 mg L⁻¹ de 2,5-dimetilanilina sobre eletrodo de carbono vítreo após modificação com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-BF₄; Curva vermelha: sem modificação em meio de líquido iônico BMIm-NTf₂; Curva preta: modificado em meio de metanol líquido iônico BMIm-NTf₂; fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v) + 30mM DE BMIm-NTf₂; T = 40°C, E = +0,80V. 111
- Figura 31:** Cromatograma HPLC-ED obtido para a injeção de 20µL da solução padrão das aminas do grupo II. Fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v). a: 2,6-dimetilanilina; b: 4-cloro-2-metilanilina; c: 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; d: 1,4-diaminobenzeno; e: p-aminofenol; f: 2-metilbenzeno-1,4-diamina; g: N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno. Vazão: 0,80 mL min⁻¹; E = +0,80V. .. 112
- Figura 32:** Cromatograma comparativo em 3D das aminas do grupo II sem modificação (curva B, vermelha) e com modificação (curva A, preta) utilizando detecção eletroquímica. Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +0,80V. 113
- Figura 33:** Cromatograma obtido da injeção de 20µL da amostra de água do rio Tietê na cidade de Tietê antes do descarte da Estação de tratamento de Esgoto em HPLC-ED com eletrodo modificado para o grupo I. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E = + 0,80V; **a)** 4,4'-diaminodifenilmetano; **b)** 3,3'-dimetilbenzidina; **c)** 4-cloroanilina; **d)** 2,4-diaminotoluidina; **e)** 2-cloro-4-nitroanilina; **f)** 4-aminobifenila; **g)** 4,4'-diaminobifenila; **h)** anilina. 116
- Figura 34:** Cromatograma obtido da injeção de 20µL da amostra de água de lavagem da marca X, coloração preta em HPLC-ED com eletrodo modificado para o grupo I. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E = + 1,00V; **a)** 2,4-diaminotoluidina; **b)** 4,4'-oxidianilina; **c)** 4-aminobifenila; **d)** anilina. 120
- Figura 35:** Cromatograma obtido da injeção de 20µL da amostra de água de lavagem da marca X, coloração preta em HPLC-ED com eletrodo modificado para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), E = + 0,80V. **a)** 4-cloro-2-metilanilina; **b)** 1,4-diaminobenzeno; **c)** 2-metilbenzeno-1,4-diamina. 120
- Figura 36:** Curva analítica obtida para 2,5-dimetilanilina em metanol, em água potável, efluente (entrada da estação de tratamento de esgoto) e influente (saída da estação de tratamento de esgoto). 128
- Figura 37:** % de recuperação das aminas aromáticas em água potável. a) anilina; b) 2-metilanilina; c) 1,4-diaminobenzeno; d) 4-aminofenol; e) 2,5-dimetilanilina; f) 2,4-diaminotoluidina; g) 2-metilbenzeno-1,4-diamina; h) 2-metoxianilina; i) 4-cloroanilina; j) 2-metoxi-5-metilanilina; k) 4-cloro-2-metilanilina; l) 2-aminonaftaleno; m) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; n) 4-aminobifenila; o) 4,4'-diaminobifenila; p) 4,4'-diaminodifenilmetano; q) 4,4'-oxidianilina; r) 3,3'-dimetilbenzidina; s) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; t) 3,3'-dimetoxibenzidina; u) 3,3'-diclorobenzidina; v) 2-cloro-4-nitroanilina; x) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina. 129
- Figura 38:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 157
- Figura 39:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 157

- Figura 40:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxi-5-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 158
- Figura 41:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-aminonaftaleno solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 158
- Figura 42:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção DE 20µL da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 159
- Figura 43:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 159
- Figura 44:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 160
- Figura 45:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 160
- Figura 46** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção DE 20µL da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 161
- Figura 47:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 161
- Figura 48:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 162
- Figura 49:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 162
- Figura 50:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 163
- Figura 51:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 163
- Figura 52:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 164
- Figura 53:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 164

Figura 54: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 165

Figura 55: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 165

Figura 56: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 166

Figura 57: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzene solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 166

Figura 58: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 167

Figura 59: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 1,4-diaminobenzene solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 167

Figura 60: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilbenzene-1,4-diamina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 168

Figura 61: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 168

Figura 62: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 169

Figura 63: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxi-5-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 169

Figura 64: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-aminonaftaleno solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 170

Figura 65: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 170

Figura 66: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 171

Figura 67: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 171

- Figura 68:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **172**
- Figura 69:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **172**
- Figura 70:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **173**
- Figura 71:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **173**
- Figura 72:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **174**
- Figura 73:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **174**
- Figura 74:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **175**
- Figura 75:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **175**
- Figura 76:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **176**
- Figura 77:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **176**
- Figura 78:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **177**
- Figura 79:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **177**
- Figura 80:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **178**
- Figura 81:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. **178**
- Figura 82:** Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel:

ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

..... 179

Figura 83: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 179

Figura 84: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 180

Figura 85: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 180

Figura 86: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxi-5-metilnilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 181

Figura 87: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-aminonaftaleno solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 181

Figura 88: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 182

Figura 89: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 182

Figura 90: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 183

Figura 91: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 183

Figura 92: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 184

Figura 93: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 184

Figura 94: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 185

Figura 95: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18. 185

Figura 96: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de

nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM DE BMIm-NTf ₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	186
Figura 97: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	186
Figura 98: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilnilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	187
Figura 99: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em HPLC-DE com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM DE BMIm-NTf ₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	187
Figura 100: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DE com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM DE BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	188
Figura 101: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-metilnilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	188
Figura 102: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3-cloro-2-metilnilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	189
Figura 103: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	189
Figura 104: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	190
Figura 105: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	190
Figura 106: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min ⁻¹ , fase estacionária: C18.	191
Figura 107: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹	191
Figura 108: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹	192
Figura 109: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹	192
Figura 110: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxi-5-metilnilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹	193

Figura 111: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-naftilamina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	193
Figura 112: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	194
Figura 113: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	194
Figura 114: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	195
Figura 115: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	195
Figura 116: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	196
Figura 117: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	196
Figura 118: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	197
Figura 119: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	197
Figura 120: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4-cloronilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	198
Figura 121: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	198
Figura 122: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	199
Figura 123: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzene solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	199
Figura 124: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	200
Figura 125: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	200
Figura 126: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	201
Figura 127: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	201
Figura 128: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 1,4-diaminobenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min ⁻¹ .	202

Figura 129: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20µL da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹. **202**

Índice de Esquemas

Esquema 1: Fluxograma representativo dos pontos de coleta de amostras de água do Rio Tietê na cidade de Tietê.	117
--	------------

Índice de Tabela.

Tabela 1: Estruturas das aminas aromáticas estudadas, e seus respectivos CAS, pKa e classificação IARC.	35
Tabela 2: Potencial de oxidação e redução obtido de voltamogramas registrados para $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ das aminas estudadas em meio de cloreto de lítio sobre eletrodo de carbono vítreo. $v = 50$ mV s ⁻¹ .	67
Tabela 3: Parâmetros voltamétricos obtidos dos voltamogramas correspondentes a oxidação das aminas aromáticas. Velocidade de 50 mV s ⁻¹ . Eletrólito: metanol + 30 mmol L ⁻¹ do líquido iônico.	70
Tabela 4: Parâmetros otimizados para HPLC.	71
Tabela 5: Intensidades para o sistema sem e com líquido iônico para os detectores de arranjos de diodos (DAD) e detector eletroquímico (ED) para aminas classificados no grupo I.	80
Tabela 6: Parâmetros analíticos para as aminas aromáticas do grupo 1 para HPLC-DAD e HPLC-DE. Fase móvel: MeOH/água 70:30 + 30mM DE BMIm-NTf ₂ (v/v); T = 40°C; $\lambda = 230$ nm ou E = +1,00V.	81
Tabela 7: Parâmetros analíticos das aminas aromáticas do grupo 1 calculados a partir da curva analítica para HPLC-DAD e HPLC-ED. Fase móvel: MeOH/água 70:30 + 30mM DE BMIm-NTf ₂ (v/v); T = 40°C; $\lambda = 230$ nm ou E = +1,00V.	84
Tabela 8: Intensidades para o sistema sem e com líquido iônico para os detectores de arranjos de diodos (DAD) e detector eletroquímico (DE) para as aminas aromáticas do grupo II.	91
Tabela 9: Parâmetros das curvas analíticas correspondentes aos cromatogramas HPLC-DAD e HPLC-ED para as aminas aromáticas do grupo II. Fase móvel: ACN/água 60:40 + 30mM DE BMIm-NTf ₂ (v/v); T = 40°C; $\lambda = 230$ nm ou E = +1,00V.	92
Tabela 10: Parâmetros analíticos e cromatográficos das aminas aromáticas do grupo II calculados a partir da curva analítica para detecção de arranjos de diodos e eletroquímico. Fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v) + 30mM de BMIm-NTf ₂ ; T = 40°C; $\lambda = 230$ nm ou E = +1,00V.	94
Tabela 11: Aminas aromáticas encontradas nos produtos comerciais masculinos e femininos.	99
Tabela 12: Potencias de oxidação e respectivas correntes anódicas para oxidação de aminas sobre eletrodo de carbono vítreo sem e com modificação com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-NTf ₂ em meio metanol/BMIm-NTf ₂ Antes e após correção do potencial em relação ao sistema Fc/Fc ⁺ .	104
Tabela 13: Parâmetros das curvas analíticas das aminas aromáticas classificadas no grupo 1 para HPLC-ED, utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado. Fase móvel: MeOH/água 70:30 + 30mM de BMIm-NTf ₂ (v/v); T = 40°C; E = +0,80V.	108
Tabela 14: Parâmetros analíticos obtidos por HPLC-ED das aminas aromáticas do grupo 1 calculados a partir da curva analítica. Fase móvel: Metanol/água + 30 mM DE BMIm-NTf ₂ 70:30 (v/v); T = 40°C; E = +0,80V.	110
Tabela 15: Parâmetros da curva analítica para as aminas aromáticas do grupo 2 para HPLC-ED. Fase móvel: ACN/água 60:40 + 30mM de BMIm-NTf ₂ (v/v); T = 40°C; E = +0,80V.	113
Tabela 16: Parâmetros analíticos das aminas aromáticas do grupo II calculados a partir da curva analítica. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf ₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, Vazão = 0,80 mL min ⁻¹ ; fase estacionária C18, E = +0,80V.	114
Tabela 17: Aminas aromáticas encontradas nas amostras de água coletadas no rio e em estação de tratamento de esgoto e torneira.	119
Tabela 18: Aminas aromáticas encontradas nas amostras de água de lavagem das tinturas comerciais.	122
Tabela 19: Íon molecular, fragmentos e energia DE colisão das aminas aromáticas.	124
Tabela 20: Parâmetros analíticos obtidos a partir da curva analítica para o método on line e off line usando metanol como solvente.	127
Tabela 21: Recuperação das aminas aromáticas nas amostras ambientais.	130
Tabela 22: Parâmetros analíticos (limite detecção e quantificação) obtido para o método off line.	131
Tabela 23: Parâmetros analíticos (limite de detecção e quantificação para o método) obtido para método on line (EQUAN).	131
Tabela 24: Aplicação do método on line (EQUAN) para amostra real de Araraquara/SP/Brasil e Girona/Catalonia/Espanha.	134

Tabela 25: Dados de toxicidade das aminas aromáticas pelo teste de Microtox. **137**

Sumário

1. Introdução	31
1.1. <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção Eletroquímica</i>	37
1.2. <i>Líquidos Iônicos</i>	39
1.3. <i>Aplicação de Líquidos Iônicos em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção Eletroquímica.</i>	43
1.4. <i>Modificação da Superfície do Eletrodo de Carbono Vítreo com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquidos Iônicos.....</i>	45
1.5. <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Espectrômetria de Massas (HPLC-MS/MS)</i>	47
2. Objetivo	50
3. Parte Experimental	51
3.1. <i>Equipamentos.....</i>	51
3.2. <i>Reagentes e Soluções.....</i>	52
3.2.1. <i>Fortificação das Amostras.....</i>	52
3.3. <i>Procedimento para caracterização voltamétrica das aminas aromáticas de interesse</i>	53
3.4. <i>Análises das Aminas Aromáticas por HPLC/DAD e HPLC/ED</i>	54
3.5. <i>Eletrodo Modificado com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquido Iônico</i>	55
3.6. <i>Correção do Potencial DE Oxidação das Aminas Aromáticas utilizando o Sistema Fc/Fc⁺ (Ferroceno)</i>	56
3.7. <i>UHPLC-MS/MS.....</i>	56
3.8. <i>Teste de Toxicidade para os Padrões de Aminas Aromáticas.....</i>	57
3.9. <i>Análise de Aminas Aromáticas em Amostra de Tonalizante de Cabelo Comercial Masculino.....</i>	58
3.10. <i>Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Corante de Cabelo Comercial Feminino.....</i>	58
3.11. <i>Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Água Natural</i>	59
3.12. <i>Análises de Aminas Aromáticas em Amostra de Água Natural</i>	60
4. Resultados e Discussão	61
4.1. <i>Oxidação Voltamétrica das Aminas Aromáticas.....</i>	61
4.1.1. <i>Oxidação sobre Eletrodo de Carbono Vítreo em Cloreto de Lítio.....</i>	61
4.1.2. <i>Oxidação sobre Eletrodo de Carbono Vítreo em Líquido Iônico.....</i>	68
4.2. <i>Detecção das Aminas Aromáticas Classificadas no Grupo 1.</i>	71
4.2.1. <i>HPLC-DAD.....</i>	71
4.2.2. <i>HPLC-ED.....</i>	76
4.2.3. <i>Comparação entre a Análise de Aminas Aromáticas do Grupo I por HPLC-DAD e HPLC-ED.....</i>	79

4.2.4. Curva Analítica para Aminas do grupo I por HPLC-DAD e HPLC-ED	81
4.3. Detecção das Aminas Aromáticas Classificadas no Grupo 2	85
4.3.1. HPLC-DAD	85
4.3.2. HPLC-DE	88
4.3.3. Comparação entre a Análise de Aminas Aromáticas do Grupo 2 por HPLC-DAD e HPLC-ED	91
4.3.4. Curva Analítica para Aminas do Grupo 2 por HPLC-DAD e HPLC-ED	92
4.5. Aplicação do Método	95
4.5.1. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Tinturas Comerciais de Cabelo por HPLC-ED	95
4.6. Oxidação Voltamétrica de Aminas Aromáticas sobre Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquido Iônico	101
4.7. Determinação de Aminas Aromáticas por HPLC-ED com Eletrodo Modificado com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquido Iônico	105
4.7.1. Detecção das Aminas Aromáticas do Grupo 1 por HPLC-ED e Eletrodo Modificado	105
4.7.2. Detecção das Aminas Aromáticas do Grupo 2 por HPLC-ED e Eletrodo Modificado	110
4.5.3. Curva Analítica para Aminas do Grupo 2	113
4.8. Aplicação do método nas análises das amostras reais.	115
4.8.1. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Água Natural usando HPLC-ED com Eletrodo Modificado	115
4.6.3. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Água de Lavagem de cabelo usando HPLC-ED com Eletrodo Modificado	119
4.8. Determinação de aminas aromáticas utilizando Cromatografia líquida de ultra Eficiência acoplado com Espectrômetro de Massas (UHPLC-MS/MS)	123
4.8.1. Otimização da Técnica UHPLC-MS/MS	123
4.9. Ensaio de Toxicidade	137
5. Conclusões	139
Referencias	144
Anexo 1	157
A) Curva Analítica HPLC-DAD-grupo 1	157
B) Curva Analítica HPLC-DAD-grupo 2	165
C) Curva Analítica HPLC-ED-grupo 1	168
D) Curva Analítica HPLC-ED-grupo 2	176
E) Curva Analítica HPLC-DE com Eletrodo Modificado-grupo 1	180

<i>F) Curva Analítica HPLC-DE com Eletrodo Modificado-grupo 2.....</i>	<i>188</i>
<i>G) Curva Analítica UHPLC-MS/MS.....</i>	<i>191</i>

1. Introdução

Aminas aromáticas é um hidrocarboneto contendo um grupamento amino ligado a um anel aromático, como o benzeno, por exemplo. Em detrimento do anel benzênico de sua cadeia, e do momento de dipolo causado pelo nitrogênio, a amina aromática possui ponto de ebulição elevado. Sua solubilidade em água é devido às ligações de hidrogênio entre o nitrogênio e a molécula de água. É importante lembrar que compostos para-benzênicos possuem melhor simetria e, portanto, maior ponto de fusão. As aminas aromáticas são altamente tóxicas e responsáveis por irritação vesicular e por tumores.

São compostos que estão presentes no meio ambiente como subprodutos de vários processos industriais, tais como branqueamento de papel, tintura de plásticos, coloração de alimentos e fármacos, produção de tintura, vernizes e tinturas de cabelo [1]. Como consequência, métodos analíticos capazes de detectar aminas com potencialidade carcinogênica em níveis compatíveis com aqueles requeridos pela limitação nos órgãos de fiscalização são relevantes tanto para a proteção ambiental como da saúde humana.

A oferta de produtos destinados a tinturas de cabelos cresce vertiginosamente e atende a um mercado que requer produtos cada vez mais diversificados. O grande avanço na área se deve ao melhor conhecimento da estrutura química dos cabelos, e seus mecanismos de ação. Esse tipo de indústria, busca atender não somente um mercado cada vez mais competitivo e ávido por novas tecnologias, ampla oferta de cores e processos de tintura mais simples, rápidos e efetivos, mas também minimizar danos ao cabelo e à saúde do ser humano [2, 3].

Os processos de tintura de cabelo podem ser permanentes, baseados em processos oxidativos que requerem exposição a aminas aromáticas e aminofenóis; tinturas semi-permanentes com exposição potencial a compostos com grupo nitro, aminofenóis, amino-antraquinonas e tinturas temporárias que requerem exposição a corantes do tipo ácido ou básico. Além disto ainda podem ser encontrados na forma de complexos solúveis e sais metálicos [4-9].

A exposição do ser humano a aminas aromáticas carcinogênicas provenientes da indústria de corantes e profissionais de salão de beleza tem despertado muita atenção [10]. Mas, dentre as inúmeras possibilidades de contato humano com estes produtos, a maior preocupação é a ingestão de aminas aromáticas em águas como contaminantes provenientes de ineficientes processos de tratamento de efluentes. Isto pode ocorrer, pelo uso de tinturas de cabelo ou ainda por corantes de outras fontes como indústria textil, curtume e outros. Neste tipo de efluente pode haver a ocorrência de corantes azo capazes de gerar aminas carcinogênicas como subprodutos de processos de redução, oxidação, cloração ou hidrólise tanto durante o banho de tintura, processos de biotransformação ou reações na biota aquática, devido às degradações parciais ou ainda como rejeito de corantes permanentes [11-23].

Para atender a esta demanda, os métodos analíticos mais frequentemente usados para quantificação de aminas aromáticas são aqueles baseados em oxidações eletroquímicas, análise espectrofotométrica após reação de derivatização, cromatografia de camada delgada, cromatografia gasosa, cromatografia líquida com diversos tipos de detectores e eletroforese capilar [12-22].

Desde 1993, a Internacional Agence Reserach Cancer (IARC) [24] tem alertado que as atividades de cabeleireiros que trabalham com tintura de cabelos requerem cuidados equivalentes às profissões sujeitas à exposição a produtos perigosos. Pesquisa recente mostra que excesso de contacto pode causar câncer no sangue em cosmetologistas e cabeleireiros [25,26]. Em 1988, Cantor *et al.* [27] constatou o dobro de ocorrência de leucemia e o linfoma não - Hodgkin para trabalhadores expostos a longo prazo para tinturas de cabelo. Zahm *et al.* [28,29] reporta o aumento de linfoma, além de múltiplos mielomas, em mulheres que usam corante de cabelo por longo tempo. Takkouche *et. al.* [30] estima um aumento de 15% no risco de câncer de leucemia associado ao uso pessoal de tinturas de cabelo.

Coulter e colaboradores estudaram o efeito da exposição a p-fenilenediamina (PPD), devido a possível associação do contato com esse composto causar dermatite alérgica de contato. Células dendríticas foram incubadas por 16 h com PPD e base de Bandrowski e após análises do efeito causado nessas células concluiu-se que o PDD ativa seletivamente as mesmas, porém sem causar morte celular ou necrose [31].

Ho e colaboradores estabeleceram uma relação entre tingimento de cabelo e incidência de reação alérgica ao PPD. Foram analisados os testes de 400 pacientes e suas características clínicas utilizando o teste Cochran-Mantel-Haenszel (χ^2), o qual apresentou uma grande relação linear entre a intensidade da reação alérgica e o contínuo uso do produto [32].

Sanjosé e colaboradores [33] avaliaram tinturas de cabelo como possível composto mutagênico e carcinogênico em animais. Os autores avaliaram o risco de doenças linfóides malignas associados ao uso desses produtos onde foram analisadas 2302 casos de neoplasias linfóides e 2417 controles que foram hospitalizados na República Checa, França, Alemanha, Irlanda, Itália e Espanha. O risco de linfoma entre os usuários de corante foi significativamente maior em 19% dos pacientes quando comparados ao controle negativo de até 26% entre as pessoas que usaram tinturas de cabelo durante 12 ou mais vezes por ano.

Além dos problemas decorrentes do contato direto realizados pelos cosmetologistas, cabeleireiros e os próprios consumidores com estes compostos há grande preocupação com a contaminação da biota aquática, além de solo e mamíferos. Tendo em vista essa problemática os estudos apresentados a seguir mostram um resumo dos principais métodos analíticos destinados à determinação de aminas aromáticas em água e fluídos biológicos.

A maioria dos métodos que são descritos na literatura para a determinação de aminas aromáticas em amostras ambientais [22,34-36], alimentos [37,38], fluídos biológicos [39, 41] e aquelas provenientes de tratamentos de biodegradação levando a degradações parciais de corantes do tipo azo [22,42-46]. Como desvantagem, há o alto limite de detecção e a necessidade de longos processos de pré-concentração [34,38,40,47-49] para obter uma boa sensibilidade, além de processos de derivatização [54] para melhorar a volatilidade destas aminas. Por outro lado, os métodos analíticos descritos na literatura para determinar aminas aromáticas em produtos destinados à tintura de cabelo são poucos.

Li e colaboradores propuseram uma análise rápida para rastreio da quantidade de aminas aromáticas em amostras ambientais usando um método eletroforético. A determinação de 5 aminas aromáticas (p-cloroanilina, o-toluidina, 2,4-dimetilanilina,

4,4'-diaminodifenilmetano e benzidina) foram determinadas usando microchips descartáveis de plástico combinado a detector de fluorescência induzida por laser. Obteve-se faixa linear entre 40 e 120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção na faixa de 1 a 3 nmol L^{-1} . O método foi aplicado na análise quantitativa dessas aminas em amostras reais de águas e têxtil [50].

Birgitta e colaboradores [51] determinaram qualitativamente aminas aromáticas e resorcinol em 54 amostras de corantes de cabelos permanentes vendidos comercialmente, antes e após aplicação, utilizando cromatografia com detecção UV-Vis. Antes da aplicação foi detectado que 10 amostras de corantes comerciais continham PPD e dentre elas 40 continham sulfato de tolueno-2,5-diamino e 44 resorcinol das 54 amostras, no entanto após a aplicação do corantes, 4 delas ainda apresentaram PPD, 12 tolueno-2,5-diamino e 21 resorcinol em quantidades excessivas. Além disto há exposição de outros aditivos da formulação que podem levar a doenças sistêmicas, como aumento do risco de carcinoma de bexiga [52], dermatose de despigmentação e outros [52-57]. De modo geral, as aminas encontradas neste estudo são condenadas pela IARC e limitadas a ppb em águas naturais.

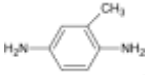
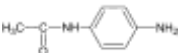
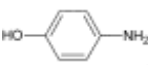
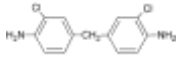
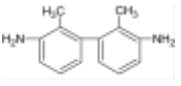
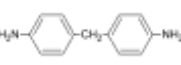
Muniraj e colaboradores desenvolveram um método dinâmico em seringa (headspace) baseado em extração líquido-líquido para a determinação seletiva de duas aminas alifáticas de cadeia curta (Metilanilina e Dimetilamina) em amostras aquosas, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção de fluorescência. Foram estudados e otimizados alguns parâmetros que podem influenciar na eficiência cromatográfica, como pH da amostra, temperatura, tempo de amostragem, sendo que a faixa linear foi de 25-500 $\mu\text{g L}^{-1}$, tendo limites de detecção entre 5 a 19 ng mL^{-1} [58].

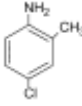
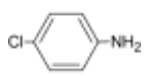
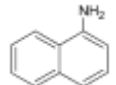
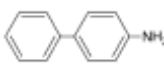
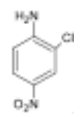
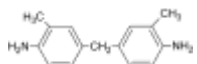
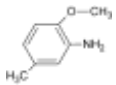
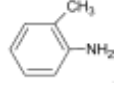
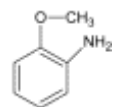
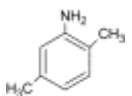
Assim, o desenvolvimento de um método cromatográfico para determinação de arilaminas presentes nos corantes comerciais oriundos da tintura de cabelo e degradação de outros corantes azo é de vital importância, uma vez que pode atingir estações de tratamento de água e até mesmo a população se não convenientemente removidas. Métodos analíticos com alta sensibilidade podem ser usados para diagnosticar sua ocorrência em águas superficiais, nos efluentes industriais, esgotos de

salão de beleza, estações de tratamento de água, onde normalmente apresenta-se em baixos níveis de concentração, após sucessivas diluições.

Dentro deste contexto pretende-se otimizar metodologia para identificação e quantificação de algumas aminas aromáticas usadas na tintura de cabelo ou provenientes de decomposição de corantes de tintura de cabelo que possam gerá-las como subproduto ou presentes como contaminantes em sua composição. Será dado ênfase àquelas condenadas pela IARC, devido à classificação como substâncias cancerígenas, as quais estão representadas na **Tabela 1**.

Tabela 1: Estruturas das aminas aromáticas estudadas, e seus respectivos CAS, pKa e classificação IARC.

Composto	Estrutura	CAS Number	IARC*	pKa
Anilina		62-53-3	3	4,6
2-metilbenzeno-1,4-diamina		95-70-5	--	6,5
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno		122-80-5	--	4,8
p-aminofenol		123-30-8	--	5,5
4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina)		101-14-4	2A	3,3
3,3'-dimetilbenzidina		119-93-7	2B	4,6
3,3'-diclorobenzidina		91-94-1	2B	2,7
4,4'-diaminodifenilmetano		101-77-9	2B	5,3
3,3'-dimetoxibenzidina		119-90-4	2B	4,7
2,4-diaminotoluidina		95-80-7	2B	5,1

4-cloro-2-metilanilina		95-69-2	2A	3,8
4-cloro-anilina		106-47-8	2B	4,0
2-aminonaftaleno		91-59-8	1	4,2
4,4'-oxidianilina		101-80-4	2B	5,5
4-aminobifenilina		92-67-1	1	4,3
1,4-diaminobenzeno		106-50-3	3	6,2
2-cloro-4-nitroanilina		121-87-9	--	3,0
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina		838-88-0	--	5,2
2-metoxi-5-metilanilina		120-71-8	2B	5,0
4,4'-diaminobifenila		92-87-5	1	4,7
2-metilanilina		95-53-4	2A	4,5
2-metoxianilina		90-04-0	2B	4,5
2,5-dimetilanilina		87-62-7	2B	6,4

*Segundo a IARC o grupo 1 são compostos carcinogênicos, o grupo 2A possível carcinogênico em animais, grupo 2B possível carcinogênico humano, grupo 3 não carcinogênico em humanos porém carcinogênico em animais.

1.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção Eletroquímica

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma das ferramentas analíticas mais utilizadas para separação e quantificação de substâncias orgânicas, operando com fase móvel adequada e com métodos de detecção que podem oferecer seletividade, sensibilidade e exatidão de análise. Com o avanço tecnológico, a disponibilidade dos métodos de detecção acoplados a HPLC foram ampliadas, podendo ser utilizados detectores fotométricos baseados em absorção na região do UV-Vis, fluorescência, índice de refração, eletroquímico e espectrometria de massas. Assim, uma melhor detectabilidade e separação dos componentes da amostra dependem principalmente da coluna cromatográfica e seleção apropriada do detector [59,60]. Em meio aos detectores citados, o acoplamento de detectores eletroquímicos em sistemas HPLC tem demonstrado grande potencialidade na quantificação de traços de componentes orgânicos em diversas matrizes [61]. A grande maioria das aplicações envolvendo HPLC com detecção eletroquímica tem utilizado colunas de fase reversa e detectores amperométricos.

A detecção amperométrica consiste no monitoramento de reações eletroquímicas que ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho, operando em modo de corrente direta. Para isso, a espécie a ser determinada necessita apresentar grupos funcionais redutíveis ou oxidáveis ou ser derivada com grupos passíveis destas transformações eletroquímicas. Esses detectores usam eletrodos de trabalho constituídos de diversos materiais, tais como: carbono vítreo, ouro, platina e eletrodos com a superfície quimicamente modificada por grupos específicos que possuem maior seletividade na detecção dos componentes de interesse. A quantificação de aminas aromáticas em águas tem diversos problemas e o uso de técnicas cromatográficas usando detectores eletroquímicos é um campo ainda pouco explorado, apesar de que vários autores têm demonstrado o sucesso da técnica para análise de fármacos [62-64].

No entanto, as análises cromatográficas com detecção eletroquímica têm levado diversos pesquisadores a evitarem tal sistema devido às dificuldades de estabilização do sistema e problemas oriundos de altos valores de potencial, principalmente quando analitos orgânicos apresentam tendências de adsorverem sobre a superfície do

eletrodo de trabalho [61]. Este tem sido um dos maiores problemas a ser contornado, uma vez que a fase móvel e/ou impurezas presentes também podem ser facilmente reduzidas/oxidadas e, assim, contribuir para inativação da superfície do eletrodo de trabalho. Além disso, este efeito aumenta consideravelmente a corrente de fundo (corrente da célula) e dificulta a estabilização do sistema, de modo que compromete a detecção dos analitos de interesse e acarreta em um longo tempo de espera antes de cada análise.

O sistema de HPLC com detecção eletroquímica modelo 871 Advanced Bioscan System, comercializado pela Metrohm apresenta um design de célula eletroquímica como detector e modelo de detecção no modo de amperometria pulsada que permite investigar novos tipos de eletrodos de trabalho como detector além da regeneração da superfície do eletrodo de trabalho por limpezas eletroquímicas [65]. Em adição, o uso de líquidos iônicos na construção de sensores e composição do eluente pode ser relevante para melhorar os níveis de detecção do sistema de cromatografia líquida de alta eficiência.

Pan e colaboradores [66] desenvolveram um método de microextração em fase líquida a base de fibras para determinação de anilina, o-cloroanilina, m-cloroanilina, p-cloroanilina, 2-cloro-4-metilanilina, 3-cloro-4-metilanilina, 4-cloro-2-metilanilina e 5-cloro-2-metilanilina a nível de traços em amostras de água por eletroforese capilar com detecção amperométrica. Sob condições ótimas, os compostos podem ser separados de outros componentes que coexistem em amostras de água em 25 minutos, exibindo uma calibração linear com três ordens de grandeza ($r > 0,998$), e com limite de detecção entre 0,01-0,1 ng mL⁻¹. A recuperação relativa em amostras de água e esgotos foi na faixa de 83-108%.

Al-Kindy e colaboradores [67] propuseram um método de cromatografia líquida de fase reversa (FR-HPLC) simples, sensível e rápido para a determinação de anilinas em água. Foi usado 2,7-dietil-2-oxo-2H-cromen-3-il-benzotiazole-6-sulfonilo (cumarina 6-SO₂Cl), como reagente fluorogênico. Após a reação foram produzidas sulfonamidas que excita em 470 nm e emite em 520 nm. Obteve-se curva analíticas lineares no intervalo de 0 à 800 µg mL⁻¹. O método foi aplicado em amostras de água potável subterrâneas e amostras de água de irrigação, com recuperações de 90,00 a 103,9%.

Ramkumar e colaboradores [68] estudaram a Indapamida que pertencente à classe das tiazida (drogas diuréticas). Foi desenvolvido um método simples, rápido e eficiente utilizando cromatografia líquida de detecção de comprimento de onda variável de alta resolução (HPLC-VWD) para detecção do composto em urina humana. A curva analítica na faixa de 1 a 100 ng mL⁻¹, com um coeficiente de correlação de 0,9977, com limite de detecção de 0,3 ng mL⁻¹.

Barek e colaboradores desenvolveram um método para a determinação de aminas aromáticas em águas residuais utilizando detector voltamétrico e UV, com limite de detecção na faixa de 0,5 a 2 ng L⁻¹ para todas as aminas estudadas [69].

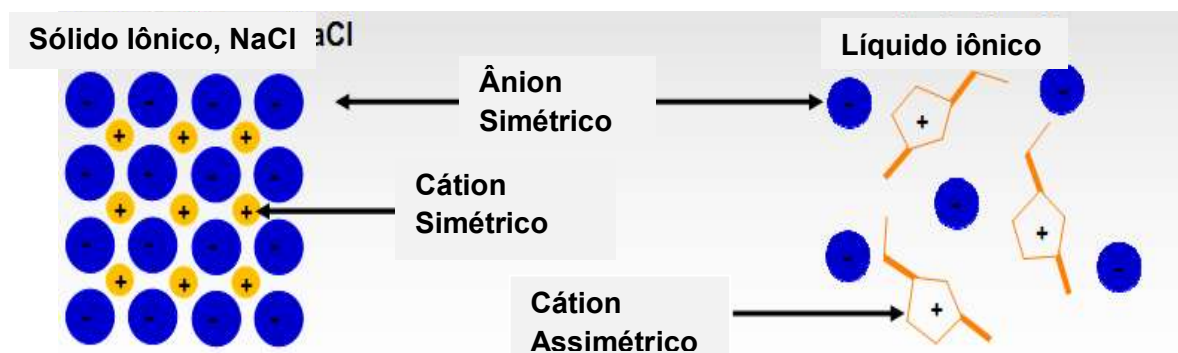
Dentro deste contexto, é possível observar que a técnica de HPLC acoplada ao sistema de detecção eletroquímico é um dos métodos mais convenientes para a quantificação de compostos orgânicos eletroativos em baixos níveis de concentração [61]. No entanto, requer investigação sobre novos detectores e novos eluentes para melhorar o sinal analítico e linha base dos cromatogramas. A alta seletividade, sensibilidade e limite de quantificação dos métodos oriundos do acoplamento da eletroquímica com a potencialidade de separação dos métodos cromatográficos evidenciam a potencialidade da técnica.

1.2. Líquidos Iônicos

Líquidos iônicos a temperatura ambiente (LIs) têm atraído grande atenção da comunidade científica ao longo da última década. Os mesmos têm sido amplamente investigados para uma variedade de aplicações, incluindo sistemas bifásicos para a separação, solventes para aplicações sintéticas e catalíticas, lubrificantes, pilhas de lítio, sensores, meios de reação de substituição de solventes convencionais, e ingredientes farmacêuticos ativos [70]. Líquido iônico pode ser definido como sais líquidos a temperatura ambiente formado de íons, ou seja, um cátion e um ânion que devido ao grande tamanho apresentam interação insuficiente para formar cristal. A deção catiônica do líquido iônico apresenta interações de Van der Waals na cadeia lateral e também interações π - π do anel aromático presente na estrutura. No entanto, a deção aniônica apresenta ligações de hidrogênio. Em adição observa-se formação DE

pares iônicos [70]. Fazendo uma analogia com o cloreto de sódio (composto iônico) que é sólido a temperatura ambiente devido a formação de um cristal no qual os cátions e ânions estão fortemente ligados por ligação iônica e apresentando assim um alto ponto de fusão, cerca de 800°C. A Figura 1 mostra um esquema representativo da interação que ocorre no cloreto de sódio (sólido iônico) e para o líquido iônico (interações de dipolo-dipolo).

Figura 1: Esquema representativo da interação em um sólido iônico e um líquido iônico.



Fonte: [70]

A composição e as propriedades associadas aos líquidos iônicos dependem da combinação específica entre o cátion e o ânion [70]. Mas, os ânions mais empregados são espécies inorgânicas poliatômicas, tais como $[\text{PF}_6]^-$ e $[\text{BF}_4]^-$ e os cátions mais comuns são piridínio, imidazólio amplamente utilizados em análises cromatografica [71-79].

A cromatografia é uma das técnicas de separação mais populares da química analítica, entretanto possui a desvantagem de baixa resolução em análises de compostos polares, devido à atividade dos grupos silanóis residuais da fase estacionária. Estes conduzem a efeitos indesejáveis, tais como picos assimétricos, baixa eficiência e/ou retenção irreprodutível [80,81]. Existem duas maneiras de evitar os problemas na análise de substâncias polares ou ionizáveis; ou se utiliza fases estacionárias sintetizadas com outros adsorventes de sílica, ou o uso de aditivos, tais como trietilamina, na fase móvel, com o intuito de promover interação específica com os silanóis residuais [82-84]. Devido às suas propriedades, o uso de líquidos iônicos na

cromatografia tem ganhado notoriedade como substitutos promissores para determinação de amins. As fortes propriedades receptoras de prótons destes compostos podem ser utilizados para suprimir os efeitos não recomendados dos silanóis livres em cromatografia líquida. O caráter do ânion caotrópico (solutos caotrópicos aumentam a entropia do sistema por interferir nas interações intramoleculares por forças não covalentes, tais como ligações de hidrogênio, forças de van der Waals e efeitos hidrofóbicos) pode aumentar a formação de par iônico, com os solutos e de adsorção com a fase estacionária. A hidrofobicidade do cátion pode ainda induzir a fase estacionária a minimizar os efeitos de adsorção [85-87].

A utilização de líquido iônico baseado em cátion alquilamônio como fase móvel tem sido aplicada a uma solução concentrada de acetato de etilamônio como um substituto para solventes orgânicos [88]. Foi demonstrado que a solução de líquido iônico age como um solvente orgânico, com uma polaridade semelhante ao do metanol. Os líquidos iônicos utilizados ofereceram separações rápidas de vitaminas solúveis em água, em uma coluna de fase reversa utilizando fase móvel totalmente aquoso. He et al. foram os primeiros a usar 1-butil-3-metilimidazólio tetrafluorborato como um aditivo para a fase móvel da análise de efedrinas [88], resultando numa melhor separação dos compostos quando comparada com o uso de trietilamina.

A separação de compostos polares, como por exemplo, amins, ácidos ftálicos, utilizando o líquido iônico 1-alkil-3-metilimidazólio, como aditivos da fase móvel foi estudada por He [89]. Estudo mais detalhado dos efeitos da supressão de silanol livre em cromatografia líquida por tetrafluoroborato de butilmetilimidazólio foi estudado por Kaliszan et al. [90]. Os autores testaram a separação de uma mistura de derivados de ácido salicílico, fenotiazina e fenol. O mascaramento dos grupos silanóis também foi investigado na análise de uma série de compostos receptores de prótons [90]. Líquidos iônicos afetam significativamente a retenção de analitos polares [91-96].

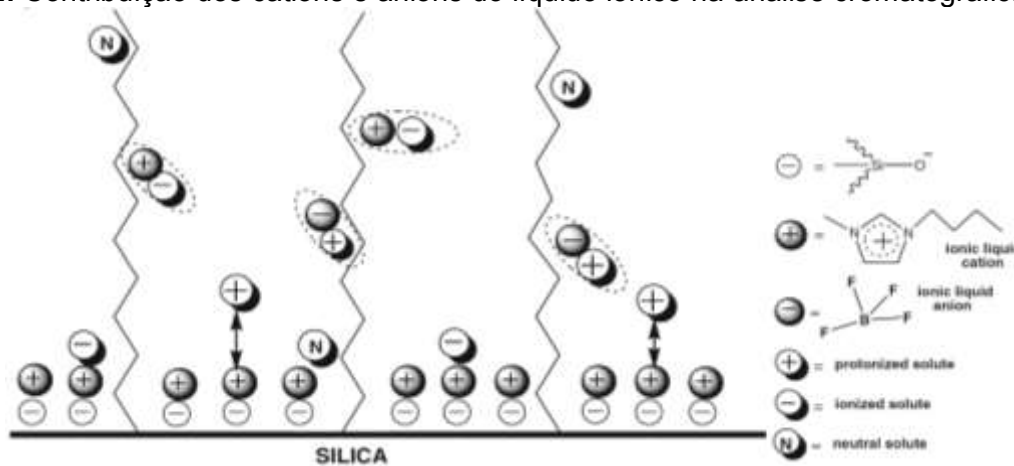
Esses resultados mostram que o efeito dos líquidos iônicos são claramente superiores aos aditivos clássicos em termos de eficiência e aprimoramento da forma de pico. Os ganhos de eficiência e assimetria obtidos para o grupo de compostos polares foram melhoradas quando os modificadores catiônicos foram adicionados à fase móvel

aquosa/orgânica, como aditivos que competem com os sítios ativos do silanol. A melhora foi mais notável sobre o fator de assimetria.

Muitos efeitos do líquido iônico em processos cromatográficos influenciam os resultados finais, melhorando a separação, fator de assimetria ou número de pratos teóricos, diminuindo o encaudamento das bandas que são conectados com o mecanismo de retenção, que não é simples quando estes estão presentes na fase móvel. A dupla natureza destes sais é benéfica na análise de substâncias polares, pelo favorecimento tanto dos ânions quanto de cátions do líquido iônico, influenciando drasticamente no mecanismo de retenção. Os cátions revestem a superfície da fase estacionária suprimindo os silanóis livres e tornando-os agentes concorrentes sobre a superfície de sílica para os solutos.

No caso dos compostos básicos com aumento do comprimento do substituinte alquila no cátion imidazólio geralmente há uma diminuição dos fatores de retenção. Um efeito diferente ocorre na separação das substâncias ácidas devido à transferência de localização da carga. Embora os cátions do líquido iônico sejam os principais responsáveis para a interação com os grupos silanóis da fase estacionária eles também podem formar pares iônicos com substâncias ácidas, aumentando assim os seus fatores de retenção. A Figura 2 representa possíveis interações durante o processo cromatográfico em que a mistura de compostos básicos, ácidos e neutros são analisados.

Figura 2: Contribuição dos cátions e ânions do líquido iônico na análise cromatográfica.



Fonte: [97]

1.3. Aplicação de Líquidos Iônicos em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção Eletroquímica.

Uma alternativa recentemente desenvolvida para se contornar problemas advindos do uso de solventes orgânicos em eletroanálise é o uso de líquidos iônicos (LIs) a temperatura ambiente (usualmente chamado de RTIL, do inglês Room Temperature Ionic Liquid) [98,99]. A literatura revela um crescente interesse na aplicação desse eletrólito em eletroanálise devido a suas propriedades físico-químicas diferenciadas.

Em aplicações eletroquímicas o uso de líquido iônico apresenta grandes vantagens em comparação aos solventes tradicionais, uma vez que possui alta condutividade iônica, baixa viscosidade, alta estabilidade química e ampla janela de potencial útil, ocupando um papel importante tanto sobre a velocidade de reação quanto no mecanismo de reação eletródicas.

Além disso, é capaz de dissolver uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, isto porque possibilita o controle da hidrofobicidade do líquido pela variação das características dos íons envolvidos na sua formação [100], permitindo assim, estender sua aplicabilidade principalmente em análises eletroanalíticas. Assim sendo, a escolha dos íons participantes na formação dos LIs é de fundamental importância para definir os propósitos do trabalho.

Outro atrativo encontrado no uso de LIs em estudos eletroquímicos é o fato de ser empregado tanto como solvente quanto como eletrólito, de modo que a presença de grandes quantidades de cátions e ânions provenientes do LI diminui a contribuição do processo de transferência de massa por migração em relação à espécie eletroativa e, assim, elimina a necessidade de se usar eletrólito de suporte nas medidas eletroquímicas. Ademais, muitos LIs são solúveis em meio de solventes orgânicos e aquoso e, podem ser usados como eletrólito de suporte ideal para estudos eletroquímicos e eletroanalíticos em uma extensa aplicabilidade [100].

A separação de compostos básicos como aminas aromáticas por HPLC ainda apresenta grandes problemas devido às interações com silanóis residuais [101]. Em adição, o uso de eletrólitos na fase móvel para detecção eletroquímica, apresenta na maioria das vezes grandes problemas, tais como entupimento de coluna, flutuação da

linha de base e modificação anômala do tempo de retenção. Uma nova alternativa para suprimir ambas as atividades, quanto à atividade dos silanóis e o uso de eletrólito para detector eletroquímico poderia ser o uso de LIs como aditivo na fase móvel.

O fato de que nos líquidos cátions e ânions ocorrem em grande quantidade faz com que a contribuição do processo de transferência de massa por migração em relação à espécie eletroativa seja desprezível, eliminando a necessidade de se usar eletrólito de suporte nas medidas eletroquímicas. Por outro lado, muitos LIs são solúveis em água e podem ser usados como eletrólito de suporte ideal para estudos eletroquímicos em uma extensa gama de solventes orgânicos e também meio aquoso. Com o aumento da cadeia alquílica há uma tendência na diminuição do tempo de retenção dos analitos e isso pode ser explicado devido à delocalização da carga positiva do cátion imidazólico, repulsão dos ânions presente nos LIs com o analito e também pelo efeito de impedimento estérico [103,104].

As diferentes propriedades dos LIs têm despertado o interesse de diversos autores também para desenvolver novos métodos de separação e análises, especialmente em eletroforese capilar e cromatografia com detecção eletroquímica [99-101]. Yanes e colaboradores [102] sugeriram que o uso de LIs pode melhorar a reposta na eletroforese capilar, pela adição DEstes eletrólitos com grupos imidazóis positivamente carregados. He e colaboradores [103] explicam esse fenômeno como sendo uma camada de cátions na superfície do C18 formando uma bicamada que compete com as moléculas da amostra em HPLC, diminuindo assim o tempo de retenção dos analitos. Wang e Tian [104] estudaram as características e mecanismos dos LIs e suas potenciais aplicações como modificador de fase móvel e na superfície coloidal de fase estacionária.

Martin e colaboradores [105] estudaram a influência de vários LIs como aditivo da fase móvel usando detector de fluorescência e UV na determinação de aminas aromáticas heretocíclicas. O melhor resultado obtido pelos autores foi usando 1 mM do líquido iônico BMIm-BF₄ (1-butil-3-metilimidazólio de tetrafluorborato), sendo que o limite de detecção obtido para o detector UV foi na faixa de 0,001 a 0,147µg mL⁻¹ e para o detector de fluorescência na faixa de 0,001 a 0,006ng mL⁻¹.

Deste modo, espera-se que o uso destes compostos como aditivos no eluente sejam capazes de preservar suas propriedades intermoleculares e que estas possam ser usadas para: i) melhorar a separação cromatográfica; ii) que os cátions do LI possam interagir e competir com os grupos silanóis pelos grupos básicos das aminas aromáticas; iii) que os grupos alquila não polares da fase estacionária possam interagir com o cátion quaternário do líquido iônico; iv) que os ânions constituintes dos líquidos iônicos sejam responsáveis por formação de par iônico com os solutos catiônicos; v) que a alta condutividade do líquido iônico e ampla janela de potencial melhore a detecção eletroquímica. Estes efeitos se ocorrerem poderiam blindar os silanóis residuais e melhorar a resolução dos picos e reduzir o tempo de retenção dos analitos, além de estabilizar a linha de base dos processos usando detecção eletroquímica acoplado ao HPLC. Os líquidos iônicos são uma fonte promissora para o desenvolvimento de métodos cromatográficos. Ainda podem ser usados para oxidação direta destas aminas em células eletroquímicas convencionais em meios de líquido iônico puro, em sistemas usando-o como eletrólito de suporte, além de poder ser usado como aglutinante em eletrodos de nanotubos de carbono [105].

Dentro deste contexto seria relevante testar os seguintes líquidos iônicos BMIm-BF₄ (1-butil-3-metilimidazólio de tetrafluorborato), [HmIm]PF₆ (1-hexil-3-metilimidazólio de hexafluorofosfato), BMIm[NTf₂] (1-butil-3-metilimidazólio de bis(trifluorometilsulfonyl)imida), como eletrólito de suporte em HPLC-ED, devido à sua alta condutividade, diferente hidrofobicidade e alta ionização.

1.4. Modificação da Superfície do Eletrodo de Carbono Vítreo com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquidos Iônicos.

A imobilização de espécies de interesse sobre superfícies de eletrodos quimicamente modificados (EQM) tem sido uma área bastante representativa nos anos mais recentes. Dentre essas inúmeras formas de modificação, o recobrimento da superfície eletródica por nanotubos de carbono (NC) tem atraído atenções, devido suas propriedades elétricas, químicas, mecânicas e sua estrutura com canais inerentes em tubos [106-108]. Na sua maioria essas modificações estão combinadas de tal forma

que os EQMs ganham sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade, estabilidade e aplicabilidade superiores àqueles sem prévia modificação.

Os NC são formados por arranjos hexagonais de carbono que originam pequenos cilindros. Eles usualmente possuem diâmetro em uma faixa de poucos angstroms a dezenas de nanômetros e podem ter comprimento acima de vários centímetros. Do ponto de vista estrutural, há dois tipos de NC que podem apresentar alta perfeição: (1) os nanotubos de carbono de parede simples (NCPS), que podem ser considerados como uma única folha de grafite enrolada sobre si mesma para formar um tubo cilíndrico; e (2) os nanotubos de carbono de parede múltipla (NCPM), que compreendem um conjunto de nanotubos concêntricos [110].

Desde a sua descoberta em 1991 [109] os nanotubos de carbono (NC) têm sido reconhecidos como um importante nano material para a concepção de sensores e biossensores eletroquímicos. Dentre suas características estão o efeito eletrocatalítico, a rápida taxa de transferência de elétrons, condutância elevada, resistência à tração, boa estabilidade química e excelente biocompatibilidade [110]. Neste contexto, seria extremamente interessante modificar eletrodos de carbono vítreo com nanotubos de carbono usando LIs como aglutinante e desenvolver novos detectores à base de eletrodo de carbono vítreo modificado por nanotubos de carbono.

Compton e colaboradores [109] reportam que, a combinação das características favoráveis dos líquidos iônicos e dos nanotubos de carbono (NTC) permite obter uma alta condutividade (eletrônica nos NTC e iônica nos líquidos iônicos) e, dessa forma propiciar uma condição favorável para modificação de superfície eletródica e construção de sensores eletroquímicos. Maleki e colaboradores [110] reportam que o uso de líquidos iônicos juntamente com NTC é uma ótima combinação tanto na modificação da superfície de eletrodos sólidos quanto na construção de eletrodos de pasta de carbono. Um gel constituído da mistura de NTC e líquido iônico apropriado foi utilizado para modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo, cujo resultado proporcionou detectar satisfatoriamente a dopamina em presença de ácido úrico e posterior quantificação em amostra de soro humano [111].

George e Lee [112] prepararam um nano compósito usando nanotubos de carbono de parede única (SWCNTs) e nano partículas de ouro (Au(nano)). Análises de

microscopia eletrônica de transmissão (TEM) do nano compósito mostrou que foram auto-montadas nas paredes laterais dos SWCNTs. Um filme do nano compósito foi aplicado sobre um eletrodo de carbono vítreo (GCE), que foi utilizado para a detecção eletroquímica de aminas aromáticas policíclicas carcinogênicas (PaaS). Além disso, o eletrodo de nanocompósito modificou exibiu excelente seletividade, com elevada reprodutibilidade, com limites de detecção de pg L^{-1} [113,114].

Adicionalmente, considerando a busca por metodologias cada vez mais sensíveis e o desenvolvimento de dispositivos com grande diversidade de materiais eletródicos, aliada as adaptações no arranjo desses eletrodos seria interessante buscar novos métodos de análise de aminas aromáticas em corantes de cabelo utilizando sistema HPLC acoplado a eletrodos de carbono vítreo sem e com modificação da superfície.

1.5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Espectrômetria de Massas (HPLC-MS/MS)

Como descrito previamente, as aminas aromáticas são utilizadas como precursores de uma vasta gama de produtos industriais, tais como os pesticidas, produtos farmacêuticos, explosivos, borracha, polímeros de epóxi, corantes azo, corantes de cabelo e produtos de poliuretano aromáticos [115,116]. Elas raramente estão presentes no produto final, mas podem ser libertadas a partir dos diferentes processos de fabricação [117-121], e também devido a reações incompletas na produção de corantes, outros compostos baseados em aminas aromáticas ou incompleto tratamento de águas residuais [122].

Por outro lado, os corantes azo, amplamente utilizados no processo de tintura de cabelo podem gerar aminas aromáticas carcinogênicas como subprodutos de processos de redução, de oxidação, de cloração ou de hidrólise durante o próprio banho de corante ou podem ser gerados como um resultado de processos de biotransformação em biota aquática [123]. Aminas aromáticas também podem entrar no ambiente como subprodutos de outros processos industriais, como papel branqueamento, tingimento de plásticos e corantes de alimentos, produção de

corantes, vernizes e entre outros [123].

A IARC, a Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer, regula estes compostos, mas não os limites máximos permitidos na água ou em outras matrizes, como carnes, legumes, solo, entre outros. Alguns estudos no entanto mostram que as concentrações mesmo em pg L^{-1} poderiam causar problemas de saúde em mamíferos [26].

Voyksner e colaboradores estudaram 16 aminas aromáticas em lama industrial em 32 minutos de análise por LC-MS/MS. O limite de quantificação obtido foi na faixa de 0,1 a $1,5 \text{ ng L}^{-1}$ [124]. Mortensen e colaboradores determinaram 20 aminas aromáticas em plásticos laminados utilizando HPLC-MS/MS e foi obtido limite de quantificação na ordem de $0,05 \text{ ng L}^{-1}$ [125].

Barcelo-Barrachina e colaboradores [126] desenvolveram um método de UPLC-ESI-MS/MS para determinação de 16 aminas mutagênicas em amostras de alimentos complexos. Os parâmetros de qualidade do método foram estabelecidos, e limites de detecção inferiores a $0,23 \text{ pg L}^{-1}$ foram obtidos.

A Agência de Proteção Ambiental (EPA), classifica aminas aromáticas como poluentes prioritários [23] e seu uso é amplamente restrito em comida e água em todos os países. Entre elas, as aminas que são assunto de grande preocupação são: 2-aminonaftaleno, 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), anilina, 4,4'-oxidianilina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 2-metoxianilina, 3,3'-dimetilbenzidina, 2-metoxi-5-metilanilina, 4-aminobifenila, 4,4'-diaminodifenilmetano, 2-metilanilina, 4-cloroanilina, 2-cloro-4-nitroanilina, 1,4-diaminobenzeno, 4,4'-metilbenzeno-1,4-diamina, p-aminofenol, N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno, 2,6-dimetilanilina, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina, 4-cloro-2-metilanilina, 2,4-diaminotoluidina, 4,4'-diaminobifenil e 3,3'-diclorobenzidina. Estas aminas aromáticas são condenados pela IARC [26] e limitada a 5 mg L^{-1} em águas naturais, o que exige métodos de análise de sensibilidade para o seu monitoramento. Uma vez que eles têm sido previsível como poluentes prioritários, a sua presença no meio ambiente deve ser monitorada em concentrações compatíveis com os limites admitidos pelo regulamento, ou seja, não superior a $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para 4,4'-diaminobifenila e benzidina sendo que as demais não tem limite regulamentado [127].

Kim e colaboradores [128] desenvolveram um método cromatográfico com detecção por espectrometria de massas (LC-ESI-MS/MS) para a determinação de benzydina e 3,3-diclorobenzidina em água de superfície, alcançando limites de detecção de 0,004 ng L⁻¹ para benzydina e 0,7 ng L⁻¹ para diclorobenzidina. O método foi utilizado para analisar os compostos alvo em dezesseis amostras de água de superfície, sendo que a benzydina foi encontrada no intervalo de concentração de 0,15 a 2,33 ng L⁻¹ em quatro das dezesseis amostras de água de superfície.

Li e colaboradores [129] desenvolveram um método para a determinação simultânea de 28 amins aromáticas advindas de materiais em contacto com alimentos por cromatografia líquida-espectrometria de massa (HPLC-MS/MS). Os limites de detecção e de quantificação para as 28 amins aromáticas foram de 0,02 a 0,3 ug kg⁻¹ e 0,1 a 1,0 ug kg⁻¹, respectivamente.

Assim, o reconhecimento dos perigos envolvendo amins aromáticas em águas mostra a alta demanda por métodos analíticos rápidos e confiáveis para determiná-las, com sensibilidade e confiabilidade suficiente para monitoramento em amostras de água superficiais e água de beber. Deste modo seria altamente relevante buscar também métodos mais sensíveis para análise de amins aromáticas nestas matrizes pelo uso de UHPLC-MS/MS.

2. Objetivo

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver novas metodologias analíticas para determinação de 23 aminas aromáticas: anilina, 2-metilbenzidina-1,4-diamina, N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina, p-aminofenol, 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), 3,3'-dimetilbenzidina, 3,3'-diclorobenzidina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetoxibenzidina, 2,4-diaminotoluidina, 4-cloro-2-metilanilina, 4-cloroanilina, 2-aminonaftaleno, 4,4'-oxidianilina, 4-aminobifenila, 1,4-diaminobenzidina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina, 2-metoxi-5-metilanilina, 4,4'-diaminobifenila, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 2,5-dimetilanilina (cuja estrutura química é mostrada na Tabela 1) em águas superficiais, selecionadas em função da sua classificação IARC (**Grupo 1** são compostos carcinogênicos; **Grupo 2A** possível carcinogênico em animais; **Grupo 2B** possível carcinogênico humano; **Grupo 3** não carcinogênico em humanos porém carcinogênico em animais). Para isto pretende-se empregar a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com detecção de arranjos de diodos e líquido iônico na fase móvel, bem como detecção eletroquímica com eletrodo sem e com modificação por nanotubos de carbono e líquido iônico e técnica de Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (UHPLC-MS/MS).

Para isto pretendeu-se atingir os seguintes objetivos específicos:

- Investigar o efeito de diferentes líquidos iônicos como eletrólito de suporte na oxidação de aminas aromáticas, visando desenvolver um método de cromatografia líquida com detecção de arranjos de diodos e amperométrica.
- estudar o efeito de eletrodo modificado com nanotubos de carbono e líquido iônico na modificação do detector eletroquímico e aplicá-lo na identificação de aminas aromáticas usadas na tintura de cabelo e aquelas provenientes da degradação de corantes via oxidação por peróxido de hidrogênio ou através de micro organismo presente no meio ambiente.
- Desenvolver método UHPLC-MS/MS utilizando um sistema de pré concentração on-line (EQUAN), para Detecção destas aminas visando buscar limites de quantificação significativamente menores.

3. Parte Experimental

3.1. Equipamentos

As análises cromatográficas de HPLC-DAD foram realizadas em um cromatógrafo líquido Shimadzu HPLC SCL-10AVP, interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software CLASS-VP. Para isto utilizou-se uma coluna Shimadzu CLC-ODS (C18) com 25 cm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e sílica com diâmetro de 5 μ m com porosidade de 100 Å. Uma pré-coluna do mesmo material e 1,00 cm de comprimento, acoplada a coluna principal com o intuito de protegê-la de impurezas e partículas, foi utilizada.

As análises das aminas de interesse por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo líquido (HPLC) da Metrohm com bomba modelo 818 IC com detector eletroquímico modelo 871 Advanced Bioscan System interfaceado a um computador equipado com o Software IC Net para aquisição dos dados. Para isto utilizou-se célula eletroquímica BioScan com eletrodo de carbono vítreo Variocell como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de fase sólida de Ag/AgCl e um contra-eletrodo de platina. A separação dos componentes foi efetuada utilizando-se a mesma coluna e pré-coluna definidas previamente pela detecção de arranjos de diodos (HPLC-DAD).

Nos experimentos realizados em Girona, Espanha foi utilizado um espectrômetro de massas UHPLC acoplado a um Thermo Scientific TSQ Vantage TM espectrômetro de massa de triplo quadrupolo com uma fonte de ESI (Waltham, MA, EUA) usado como detector. No sistema off line e on line (EQUAN™) foi utilizada uma coluna C18 Acquity BEH (50 mm x 2,1 mm ID, 1,7 μ m de tamanho de partícula) em modo positivo. Para a etapa de pré concentração on-line (EQUAN™) utilizou-se uma coluna Thermo PFP (5 mm x 2,1 mm ID, 3,6 μ m de tamanho de partículas) em modo positivo.

Os experimentos voltamétricos foram realizados em Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT 30 acoplados a microcomputador controlado por software GPES 4.9. O eletrodo de trabalho utilizado foi um eletrodo de carbono vítreo (ECV) com 0,6 mm de diâmetro, eletrodo de referência de Ag/AgCl e contra-eletrodo de fio de platina.

Um ultrassom UNIQUE modelo ultrasonic cleaner foi utilizado para dissolução dos reagentes e desgaseificação dos solventes utilizados como fase móvel.

A água deionizada foi purificada em um sistema de Milli-Q (modelo Simplicity 185, Millipore).

3.2. Reagentes e Soluções

Soluções estoque das aminas aromáticas (1000 mg L^{-1}), foram preparadas em metanol e usadas em até 4 semanas (limite de estabilidade) quando conservadas em geladeira. Soluções de 1,4-diaminobenzeno, p-aminofenol, 2-metilbenzeno-1,4-diamina, N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno foram preparadas e utilizadas imediatamente após diluição.

Nas medidas eletroquímicas utilizou-se solução estoque de cloreto de lítio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou soluções 30 mmol L^{-1} de líquidos iônicos de interesse no trabalho que foram: BMIm-BF₄ (1-butil-3-metilimidazólio de tetrafluorborato), HMIIm-PF₆ (1-hexil-3-metilimidazólio de hexafluorofosfato), BMIm-NTf₂ (1-butil-3-metilimidazólio de bis(trifluorometilsulfonil)imida) adquiridos da Sigma-Aldrich.

Nas medidas de HPLC-DAD e HPLC-ED utilizaram-se como fases móveis: água (MilliQ), metanol e acetonitrila (grau HPLC-J.T.Baker) em diferentes proporções. Como aditivos químicos à fase móvel utilizou-se: ácido fórmico 0,1% (grau HPLC-J.T.Baker) para as medidas realizadas em UHPLC-MS/MS. Líquido iônico: BMIm-NTf₂ (1-butil-3-metilimidazólio de bis(trifluorometilsulfonil)imida) para HPLC-DAD e HPLC-ED.

3.2.1. Fortificação das Amostras

As amostras que foram analisadas por UHPLC-MS/MS foram fortificadas com 5 alíquotas de $100 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução da mistura das aminas na concentração de 100 mg L^{-1} . Foram construídas curvas de adição de padrão para quantificar os compostos nas matrizes devido a grande influência da mesma.

3.3. Procedimento para caracterização voltamétrica das aminas aromáticas de interesse

A oxidação eletroquímica das 23 aminas aromáticas: anilina, 2-metilbenzidina-1,4-diamina, N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina, p-aminofenol, 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), 3,3'-dimetilbenzidina, 3,3'-diclorobenzidina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetoxibenzidina, 2,4-diaminotoluidina, 4-cloro-2-metilanilina, 4-cloroanilina, 2-aminonaftaleno, 4,4'-oxidianilina, 4-aminobifenila, 1,4-diaminobenzidina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina, 2-metoxi-5-metilanilina, 4,4'-diaminobifenila, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 2,5-dimetilanilina, foi conduzida em célula eletroquímica convencional, contendo três eletrodos: carbono vítreo como eletrodo de trabalho, referência Ag/AgCl (saturado com KCl 3M) e fio de platina como contra eletrodo. Uma alíquota de 25,00 mL da solução das aminas aromáticas na concentração de 1×10^{-3} mol L⁻¹ em metanol contendo 0,1 mol.L⁻¹ de LiCl foi adicionada a célula eletroquímica e as medidas de voltametria cíclica foram realizadas entre potencial de 0,0 a +1,0V vs Ag/AgCl. O eletrodo de trabalho foi polido com alumina para limpeza da superfície após cada medida eletroquímica.

Os voltamogramas obtidos para as aminas de interesse em líquido iônico + metanol em pequena quantidade de solvente foi investigado utilizando-se uma célula eletroquímica adaptada. Esta consiste em um tubo de *ependorf* (100 µL com a ponta cortada) conectado ao eletrodo de carbono vítreo previamente descrito, onde foi introduzido um fio de prata previamente lixado atuando como pseudo-referência e eletrodo auxiliar [0]. Uma alíquota de 50 µL de solução de cada amina aromática individualmente em metanol foi dissolvida em 50 µL do líquido iônico de interesse. 10 µL da mistura foram adicionados à célula eletroquímica adaptada. O fio de prata foi colocado perpendicularmente à superfície do eletrodo, tocando a superfície da gota de solução porém sem tocar o eletrodo de trabalho. A seguir registrou-se os voltamogramas cíclicos no intervalo de 0 a +1,0V sob velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

3.4. Análises das Aminas Aromáticas por HPLC/DAD e HPLC/ED

A separação cromatográfica das 23 aminas aromáticas estudadas neste trabalho foram divididas em 2 grupos de acordo com a otimização usada para melhor separação das mesmas.

Grupo 1: 2,4-diaminotoluidina, 4,4'-oxidianilina, 4,4'-diaminobifenila, anilina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 2-metoxianilina, 2-metilanilina, 2-aminonaftaleno, 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetilbenzidina, 2-metoxi-5-metilanilina, 4-cloroanilina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4-aminobifenila e 3,3'-diclorobenzidina. Este grupo foi separado e identificado adotando-se fase móvel otimizada de metanol/água 70:30 + 30mM de BMIm-NTf₂ (v/v) e vazão de 0,8 mL min⁻¹.

Grupo 2: 2,5-dimetilanilina, 4-cloro-2-metilanilina, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina, 1,4-diaminobenzidina (PPD), p-aminofenol, 2-metilbenzidina-1,4-diamina (PTD), N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina, foram analisadas utilizando-se fase móvel otimizada DE acetonitrila/água 60:40 + 30mM de BMIm-NTf₂ (v/v) e vazão de 0,8 mL min⁻¹ [129].

Nas análises cromatográficas utilizou-se 20 µL de soluções 50 mg L⁻¹ das mistura das aminas de cada grupo injetadas em ambos os sistemas HPLC-DAD e HPLC-ED. Para ambos os sistemas foram construídas curvas analíticas específicas para cada amina aromática a partir de injeção em triplicata.

Os respectivos valores de limites de detecção e quantificação foram obtidos através dos parâmetros de cada curva analítica e respectivos cromatogramas utilizando-se para cálculo do limite de detecção L.D. = (3 x erro de coeficiente linear)/coeficiente angular e o limite de quantificação L.Q. = (10 x erro de coeficiente linear)/coeficiente angular.

O cálculo de assimetria (As) foi realizado tomando valores referentes a 10 % da base do pico medindo-se a diferença na largura do pico do lado direito até o centro do mesmo dividido pela diferença na largura do centro até o lado esquerdo.

Para o cálculo de número de pratos teóricos (eficiência) foi utilizada a equação: $N_p = 16 (t_r/w)^2$, sendo t_r tempo de retenção e w largura do pico na sua base.

Todas as amostras foram filtradas, antes de cada injeção com auxílio de uma seringa em filtros MILLEX Millipore (0,45 µm).

3.5. Eletrodo Modificado com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquido Iônico

Voltamogramas cíclicos correspondentes à oxidação eletroquímica das 23 aminas aromáticas dissolvidas em metanol foram obtidas após transferência de 25 mL de eletrólito para célula eletroquímica convencional, contendo três eletrodos: carbono vítreo sem e com modificação da superfície por gel de nanotubos de carbono e líquido iônico como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl (saturado com KCl 3M) e fio de platina como contra eletrodo. O eletrodo de carbono vítreo foi limpo com alumina (0,5 μm), depois lavado com água MilliQ e seco em nitrogênio.

Nas medidas usando eletrodo de carbono vítreo modificado (EQM) foi depositado um gel de nanotubos de carbono com os líquidos iônicos (NTC/LI), onde testou-se BMIm-BF₄ (1-butil-3-metilimidazólio de tetrafluorborato), HMIm-PF₆ (1-hexil-3-metilimidazólio de hexafluorofosfato) e BMIm-NTf₂ (1-butil-3-metilimidazólio de bis(trifluorometilsulfonil)imida), separadamente.

O gel de NTC/LI foi preparado pesando-se cerca de 5,0 mg de pó de nanotubos de carbono (Dropsens - MWCNT) suspensos em 100 μL de líquido iônico BMIm-NTf₂ (Sigma-Aldrich) [114]. Essa mistura foi homogeneizada em um almofariz com auxílio de um pistilo por aproximadamente 15 minutos, até formar um gel. O eletrodo previamente limpo foi pressionado sobre esse gel durante alguns segundos e assim formou-se um filme fino pela aderência do gel na superfície eletródica. O excesso de gel foi removido com o auxílio de uma espátula e o eletrodo mantido em um recipiente plástico limpo e fechado. O eletrodo assim confeccionado foi a seguir transferido para a célula voltamétrica de 25 mL e as medidas voltamétricas registradas após a solução ser desaerada com nitrogênio.

Todos os voltamogramas foram registrados para 25,00 mL de solução de cada amina aromática em concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em metanol com $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiCl em região de potencial de 0,0 à +1,0V vs. Ag/AgCl. Foram também realizados experimentos utilizando-se soluções de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em metanol + 100 μL de líquido iônico, como eletrólito de suporte. Nas medidas onde o eletrodo era o detector do cromatógrafo, poliu-se o eletrodo de trabalho com alumina para limpeza da superfície e

o filme de nanotubos de carbono foi refeito para cada detecção, com o intuito de ter sempre a superfície livre de interferentes.

3.6. Correção do Potencial DE Oxidação das Aminas Aromáticas utilizando o Sistema Fc/Fc⁺ (Ferroceno)

Com o intuito de estudar a influência do líquido iônico como eletrólito suporte na oxidação das aminas aromáticas frente ao eletrodo sem e com modificação com nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-NTf₂ tornou-se como padrão voltamogramas cíclicos registrados para o par redox reversível Fc/Fc⁺ utilizando para as medidas eletrodo de carbono vítreo sem modificação e eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono líquido iônico sendo que usou-se eletrodo de Ag como pseudo referência [114].

3.7. UHPLC-MS/MS

A análise de aminas aromáticas por ultra Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de massa (UHPLC-MS/MS) foi realizada utilizando-se metodologia de pré-concentração SPE off-line em cartucho de fase sólida, antes da injeção da amostra na coluna analítica. Entretanto, foi também desenvolvido um método de pré-concentração on line (Equan™).

As condições de separação foram otimizadas como se segue: solvente (A): metanol com 0,1 % de ácido fórmico, solvente (B): água com 0,1 % DE ácido fórmico com vazão de 0,2 mL min⁻¹. O gradiente de eluição foi: 20% A; 0-3,0 min, 20-100% A; 3,0-6,0 min, 100% A; de 6,0 to 6,1 retornando as condições iniciais; 6,1-9,0, reequilíbrio da coluna. O volume da amostra injetada foi de 10 µL. No sistema on-line (Equan™) utilizou-se uma etapa de pré-concentração, utilizando as condições otimizadas previamente: 100 % de água com uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. O volume de amostra injetada foi de 250µL. A mesma condição do modo off-line foi utilizado para a coluna analítica.

Parâmetros de detecção de massas (MS) tais como temperatura do capilar e temperatura do vaporizador foram otimizados por infusão direta de soluções padrão individuais de cada composto a 1 mg L^{-1} . Para a análise quantitativa, a aquisição de dados foi realizada utilizando o modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM), registrando as transições entre o íon precursor e os dois íons produtos mais abundantes para cada composto alvo. Resolução para Q1 e para Q3 foi fixado em uma largura máxima de 0,70. Definições dos parâmetros dependentes da fonte, são como se segue: energia de colisão de 10 V, temperatura capilar de $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura do vaporizador de $325 \text{ }^{\circ}\text{C}$, pressão de gás de secagem (N_2) de $40,0 \text{ L min}^{-1}$, pressão do gás auxiliar (N_2) de $2,0 \text{ L min}^{-1}$, pressão do gás de contracorrente (N_2) de 0 L min^{-1} , tensão de pulverização iônica e a pressão colisão foram otimizadas em 3000 V e 1,0 mTorr no modo positivo, respectivamente. Instrumento de controle, aquisição e avaliação de dados foram realizadas com software 2.1 Thermo Fisher Scientific Xcalibur.

3.8. Teste de Toxicidade para os Padrões de Aminas Aromáticas

Com o intuito de avaliar a toxicidade das aminas aromáticas foram realizados os ensaios de toxicidade aguda para cada amina aromática separadamente e em conjunto usando micro organismo *V. fischeri*. As amostras foram avaliadas utilizando os procedimentos de testes padronizados para *V. fischeri* [54,55]. Um analisador de toxicidade Microtox[®] SDI Modelo 500 foi utilizado para realizar o ensaio. As bactérias foram expostas a uma série de diluições das amostras, osmoticamente ajustada com uma solução 22% de cloreto de sódio (NaCl), durante 15 minutos a 15°C e em seguida, a sua alteração de emissão de luz foi medida. O micro organismo liofilizado *V. fischeri*, foi adquirido a partir de um fornecedor comercial (SDI, Newark, DE, EUA).

Todos os dados Microtox[®] foram registrados e analisados utilizando o software Graphpad Prisma 4, e os resultados foram expressos em percentagem de inibição de emissão de luz.

3.9. *Análise de Aminas Aromáticas em Amostra de Tonalizante de Cabelo Comercial Masculino*

Foi utilizado nestes experimentos o tonalizante masculino comercial X para cabelos pretos e loiros que segundo os fabricantes contém os corantes Azul Básico 99, Amarelo Básico 57, Vermelho Básico 76, Marrom Básico 16 e Violeta Ácido 43, e os seguintes aditivos: álcool cetoestearílico, cloreto de alquiltrimetilamônio, palmitato de octila, nipazol, nipazin, cloreto de amônio, enxofre, acetato de chumbo, glicerina e hidrolisado quaternizado de proteína. Foi também realizado os mesmos experimentos com tonalizante masculino comercial Y para cabelos pretos e loiros que segundo a embalagem é composto pelos seguintes aditivos: álcool cetoestearílico, cloreto de alquiltrimetilamônio, palmitato de octila, cloreto de amônio e glicerina. Uma alíquota de 1 mL do mesmo foi adicionada em balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com água milliQ. Em seguida, 5 mL dessa solução foi misturada com 5 mL de diclorometano em um funil de separação. O procedimento foi repetido 3 vezes e a fase orgânica submetida à evaporação do solvente sob temperatura ambiente e pressão atmosférica. A amostra final foi então ressuspensa em metanol e injetada em HPLC/ED.

3.10. *Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Corante de Cabelo Comercial Feminino*

Amostras de tintura comercializadas da marca X, Y e Z, respectivamente para cor loiro, preto e vermelho em forma de pasta em uma bisnaga, foram utilizadas após mistura com uma solução de peróxido de hidrogênio (30 volumes). 5 g desta pasta foi dissolvida em 10 mL de peróxido de hidrogênio. Em todas as amostras são designadas no rótulo os seguintes componentes: 1,4-diaminobenzidina e 2-metilbenzidina-1,4-diamina, álcool cetoestearílico, cloreto de alquiltrimetilamônio, palmitato de octila, cloreto de amônio, glicerina e hidrolisado de proteína.

Após 40 minutos da aplicação do corante em cabelo humano foram coletadas água da primeira lavagem, que foi filtrada utilizando filtro de membrana PTFE ($\varnothing$ 47 mm, 0,45 μ m). Em seguida 5 mL dessa amostra foi adicionada em um funil de

separação com mais 5 mL de diclorometano. Esse procedimento foi realizado 3 vezes e a fase orgânica resultante foi evaporada e o resíduo resultante foi re suspenso em metanol e em seguida injetado em HPLC/ED.

Análises da pasta usada na tintura de cabelo foram ainda feitas sem adição de peróxido de hidrogênio. Assim, 1 g da pasta foi pesada e esta foi dissolvida em 10 mL de água. Uma alíquota de 5 mL dessa amostra foi adicionada em um funil de separação com mais 5 mL de diclorometano. Esse procedimento foi realizado 3 vezes e a fase orgânica resultante foi evaporada e o resíduo resultante foi ressuspensionado em metanol e em seguida injetado em HPLC/ED.

3.11. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Água Natural

Foram coletadas águas no Rio Tietê antes da estação de tratamento de esgoto (ETE), no local do descarte da ETE, 2,0 Km após o descarte da ETE. Em adição foram coletadas águas na entrada e na saída da estação de tratamento de esgoto além da entrada e saída da estação de tratamento de água (ETA) da cidade de Tietê-SP. Além disso foi analisada água potável coletadas na torneira residencial de Tietê-SP e Araraquara-SP.

Amostras de 2 L foram mantidas em refrigeração até a chegada no laboratório onde foi adicionado 3 mL de ácido acético de acordo com protocolo CETESB. As amostras foram mantidas em geladeira (aproximadamente 5°C). Em seguida, foi realizada a filtração em um sistema de vácuo utilizando filtros de membrana PTFE ($\varnothing$ 47 mm, 0,45 μ m) para todas as amostras. Posteriormente, essas amostras foram pré concentradas em cartucho SPE (Phenomenex Strata X-CW (compostos básicos), 500 mg de base polimérica) o qual foi condicionado com 3 mL de metanol, para ativar o material, em seguida 3 mL de água milliQ para lavagem seguido de 500 mL da amostra DE água superficial, água potável e para as amostras de influente foram 200 mL e para efluente foram 250 mL. Em seguida, o cartucho foi lavado com 5 mL de água milli-Q e posteriormente seco e logo após foi realizada a eluição dos compostos que ficaram retidos na fase estacionária com a aplicação de 5 mL da mistura diclorometano/metanol (3:1). Essa solução foi evaporada e ressuspensionada em 1 mL de metanol, filtrada em filtro de seringa Millex Millipore.

3.12. Análises de Aminas Aromáticas em Amostra de Água Natural

Foram coletadas águas no Rio Onyar na cidade de Girona (Espanha). Além de águas da entrada (efluente) e saída da estação de tratamento de esgoto (Influente), amostras de água potável da cidade de Girona foram também analisadas.

Foram ainda coletadas amostras da entrada e saída da estação de tratamento de Esgoto, além de amostras da entrada e saída da estação de tratamento de água da cidade de Araraquara. E essas amostras foram submetidas a extração em cartucho Phenomenex StrataX-CW (500 mg de base polimérica para compostos básicos), congeladas e eluídas somente antes das análises em Girona (Espanha).

O método de preparo dessas amostras foi idêntico ao realizado nas amostras coletadas no Brasil.

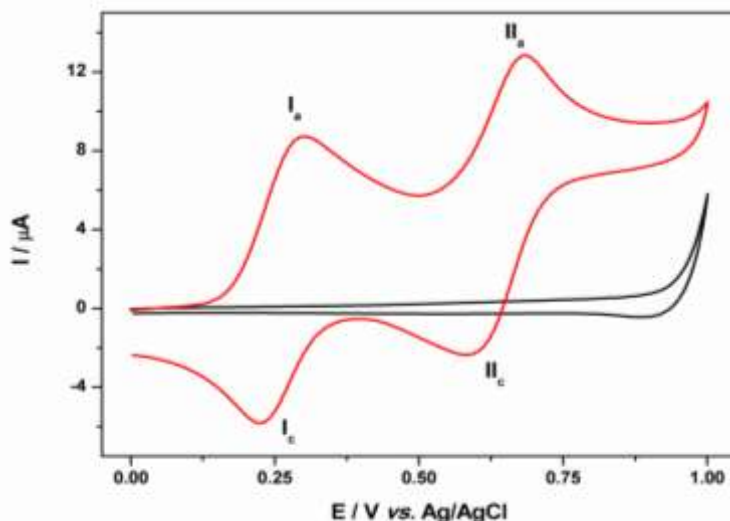
4. Resultados e Discussão

4.1. Oxidação Voltamétrica das Aminas Aromáticas

4.1.1. Oxidação sobre Eletrodo de Carbono Vítreo em Cloreto de Lítio

Para efeitos de comparação e escolha do melhor potencial a ser utilizado para monitoramento das aminas aromáticas por detecção eletroquímica, registrou-se os voltamogramas cíclicos para oxidação de cada amina sobre eletrodo de carbono vítreo. A **Figura 3**, apresenta um voltamograma cíclico típico obtido para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de 1,4-diaminobenzeno sobre superfície de carbono vítreo em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiCl sob velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Figura 3: Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de 1,4-diaminobenzeno em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiCl, sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura (v) = 50 mV s^{-1} . a) eletrólito suporte $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiCl (linha preta); b) oxidação da 1,4-diaminobenzeno (linha vermelha).



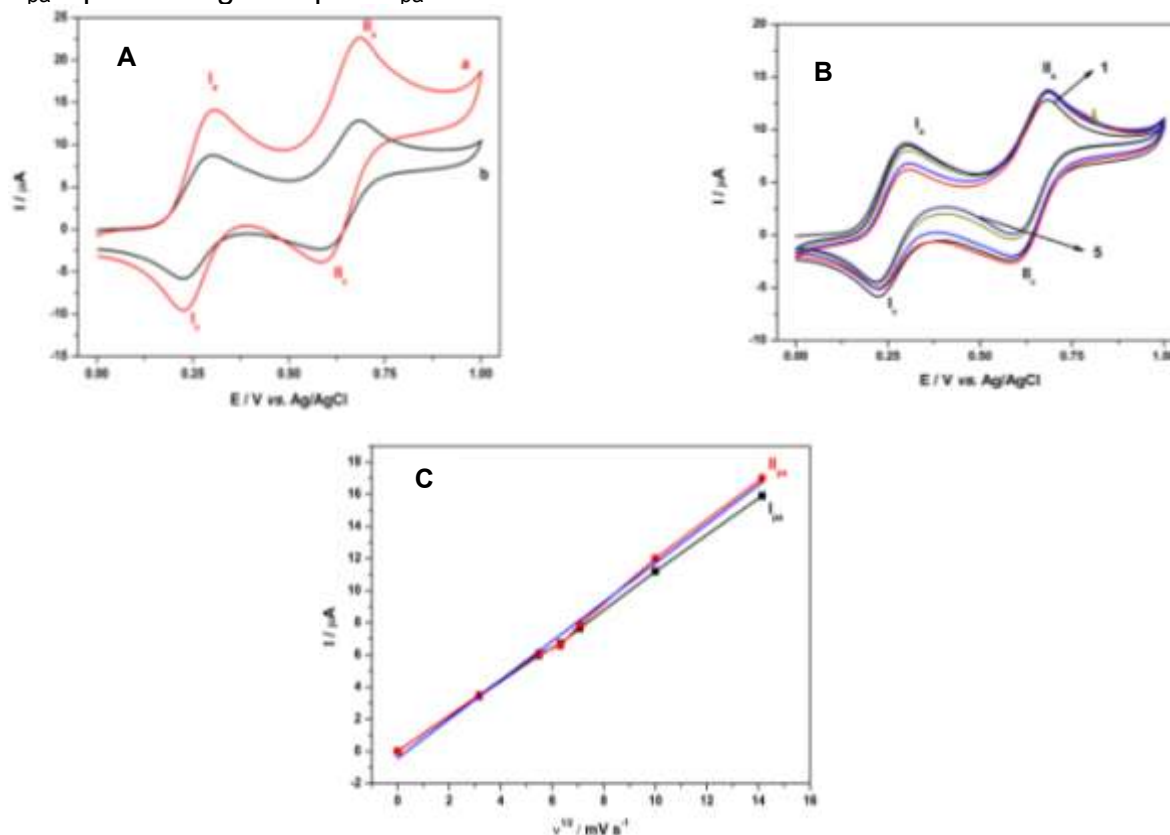
Fonte: próprio autor.

A análise da **Figura 3** mostra que a oxidação eletroquímica da 1,4-diaminobenzeno apresenta dois picos de oxidação bem definidos característico da oxidação do grupo amina presente como substituinte na molécula. O primeiro em potenciais ao redor de $+0,302 \text{ V}$ apresenta um pico na varredura reversa em potencial

de +0.222 V, seguido por um segundo pico em potencial de +0.718V e um pico de redução na varredura reversa em potencial de +0.583V. A relação entre i_{pa}/i_{pc} tanto para o primeiro pico quanto para o segundo pico é igual á 1, indicando que o sistema apresenta características de processos reversíveis.

A seguir, foi realizado o estudo de velocidade de varredura entre 10 mV s^{-1} e 200 mV s^{-1} no intervalo de 0,0 a +1,0V como mostrado na **Figura 4 A**.

Figura 4: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em velocidade de varredura de: a) 50 mV s^{-1} e b) 100 mV s^{-1} para oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de 1,4-diaminobenzeno em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiCl; (B) voltamogramas cíclicos com velocidade de varredura 50 mV s^{-1} ; (C) gráfico de corrente versus raiz quadrada da velocidade de varredura para o primeiro pico I_{pa} e para o segundo pico I_{pb} .



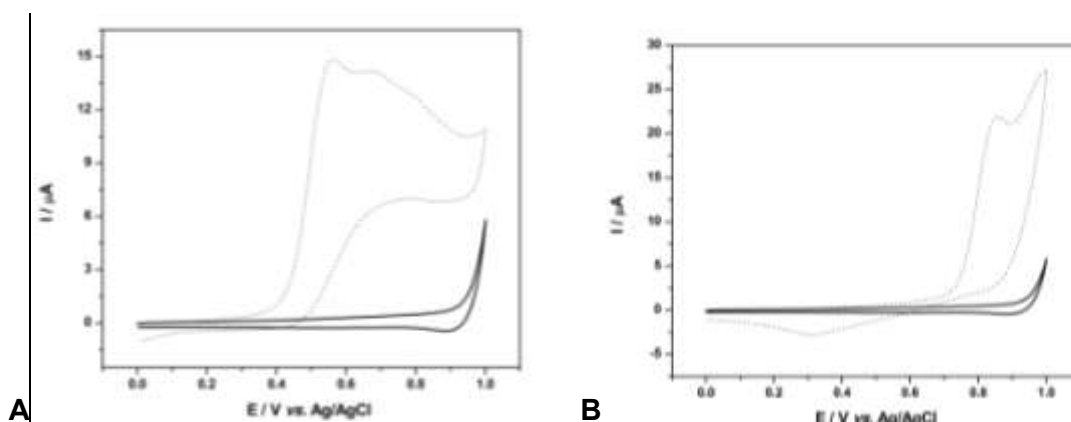
Fonte: próprio autor.

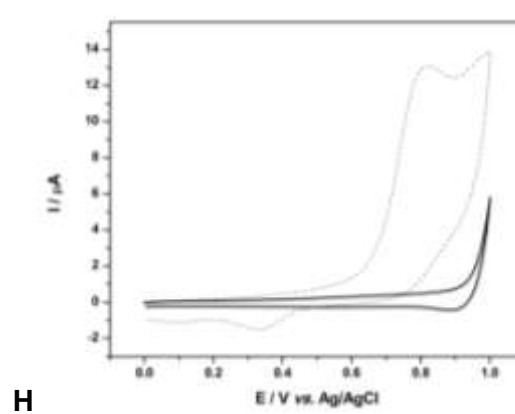
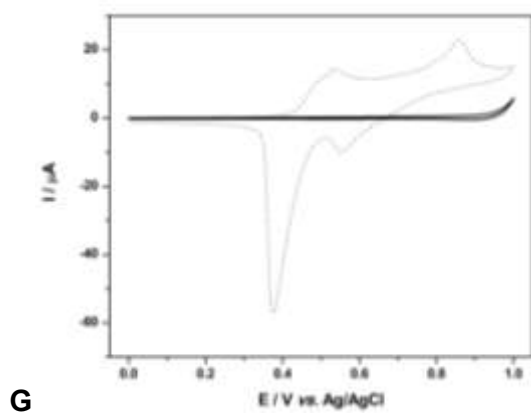
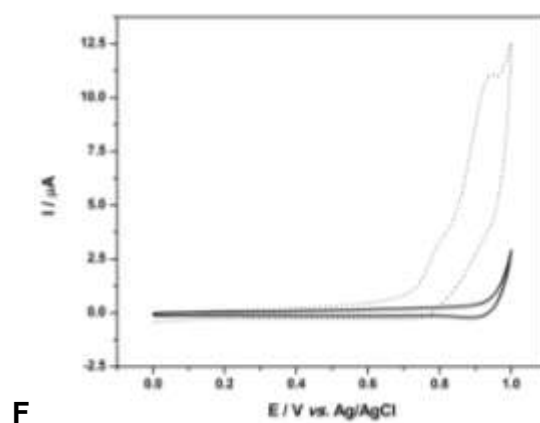
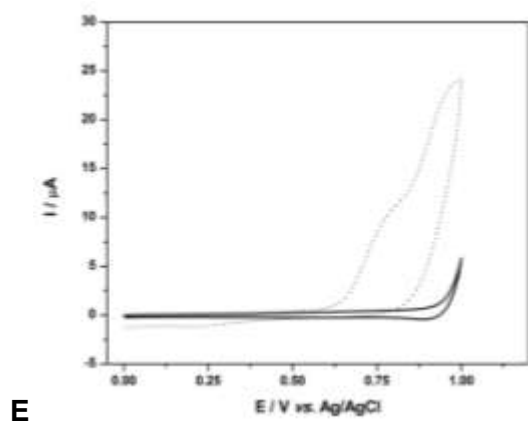
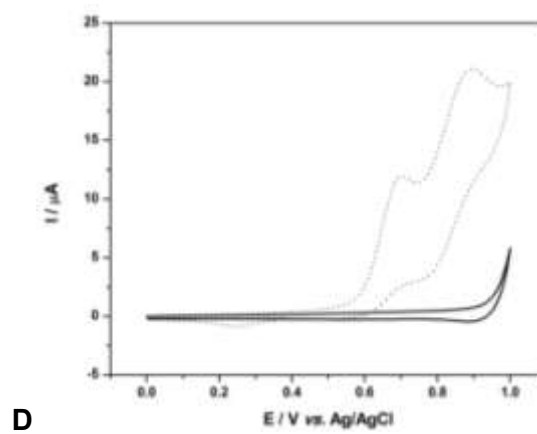
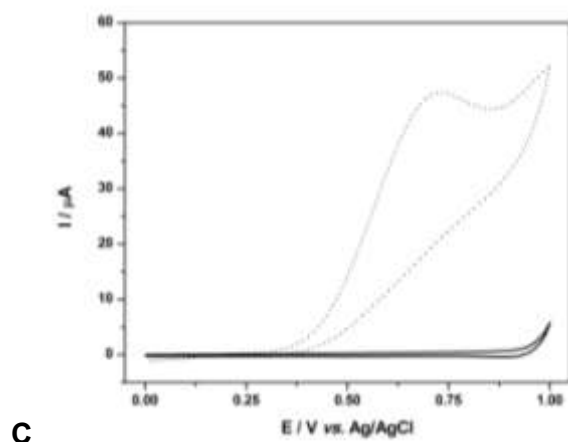
Analisando a **Figura 4A** observa-se que o aumento da velocidade de varredura acima de 50 mV s^{-1} (curva A) mostra picos bem definidos para ambas as oxidações,

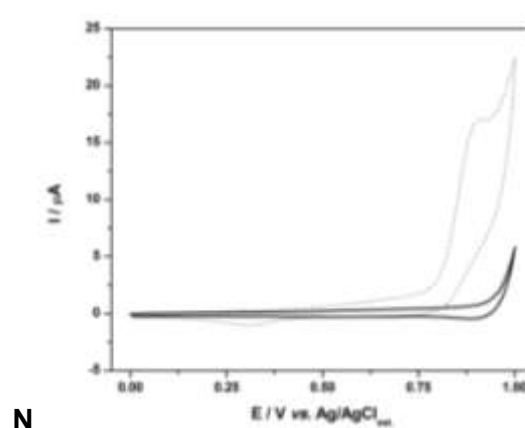
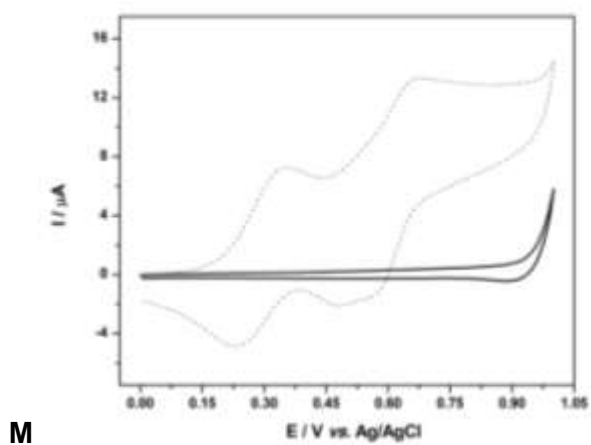
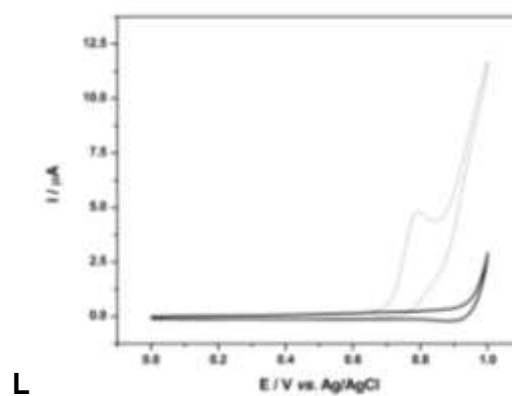
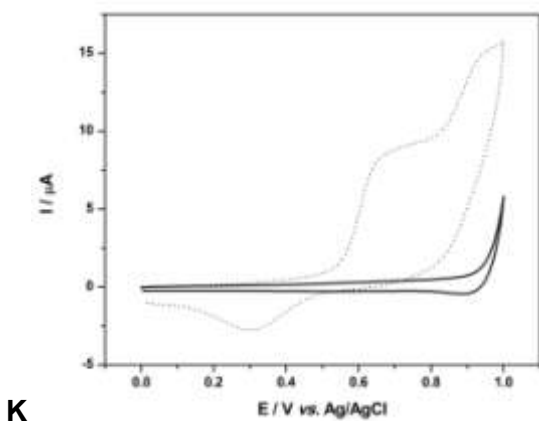
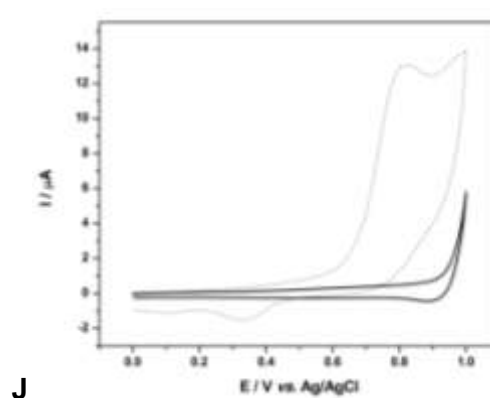
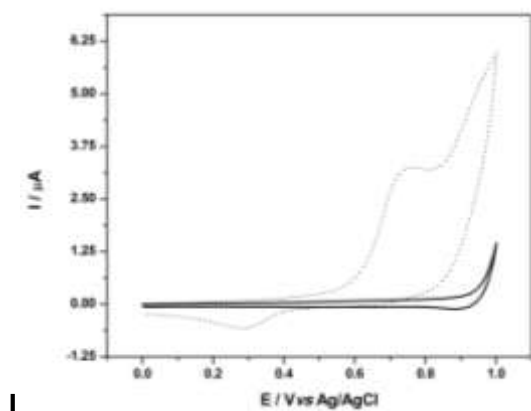
cuja corrente aumenta em função da velocidade de varredura. Os voltamogramas de varredura sucessiva (**Figura 4B**) obtidos sob velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} apresentam uma ligeira diminuição gradativa da corrente de pico anódica do segundo pico [34]. No entanto, tomando-se a corrente do primeiro pico observa-se que a corrente de pico aumenta linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial (**Figura 4C**) sugerindo que o processo é controlado por difusão para os dois picos na varredura anódica.

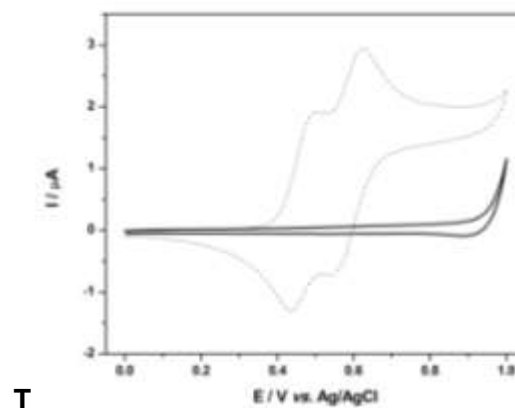
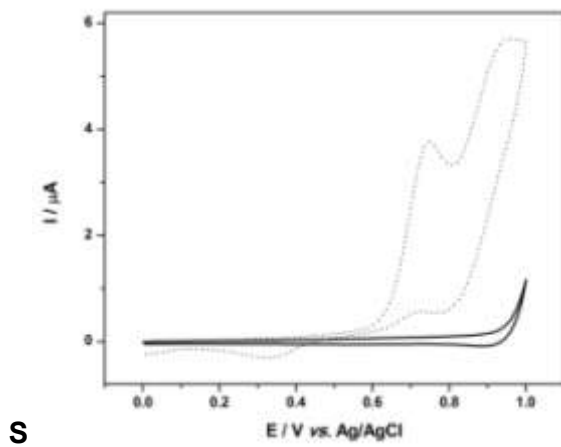
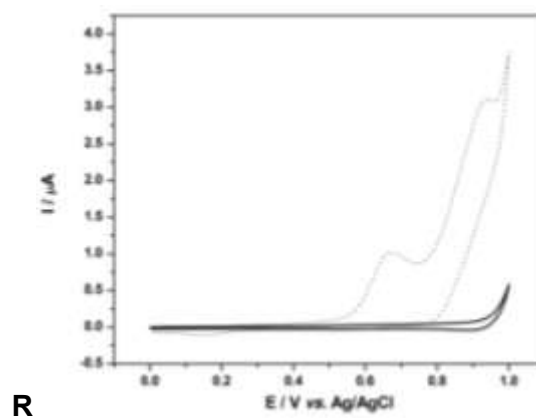
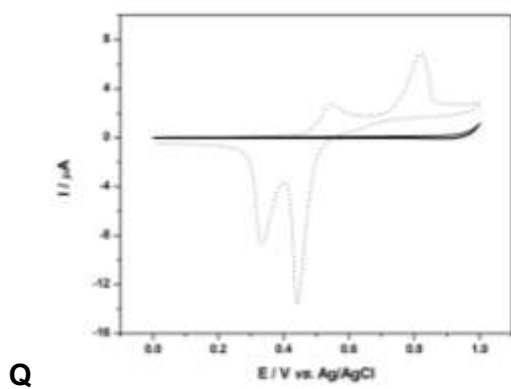
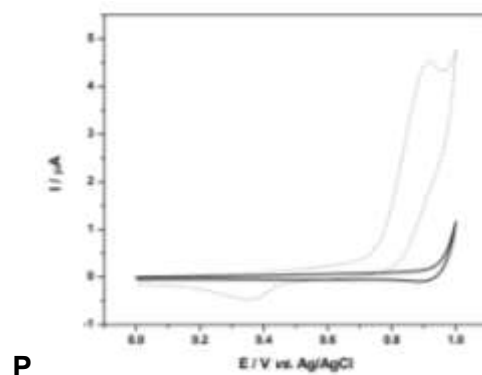
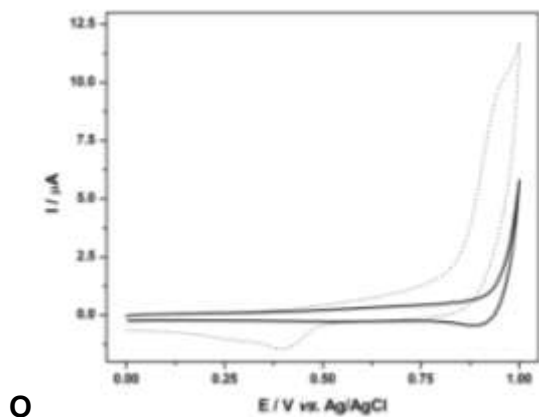
Todas as demais aminas aromáticas de interesse foram submetidas à oxidação nas mesmas condições experimentais e os respectivos voltamogramas obtidos para $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de cada amina em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Cloreto de Lítio são mostrados na **Figura 5**.

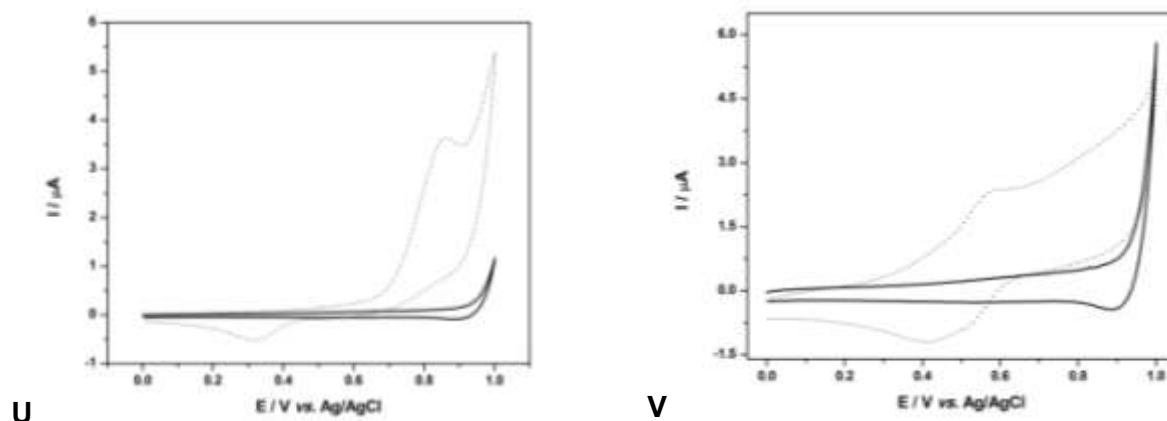
Figura 5 : Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ das aminas em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de LiCl, sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura (v) = 50 mV s^{-1} ; 0,1 mol L⁻¹ de LiCl (linha preta); b) oxidação da amina (linha vermelha). (A) 2,4-diaminotoluidina; (B) 2,5-dimetilanilina; (C) 2-cloro-4-nitroanilina; (D) 2-metoxi-5-metilanilina; (E) 2-aminonaftaleno; (F) 3,3'-diclorobenzidina; (G) 3,3'-dimetilbenzidina; (H) 4,4'-diaminodifenilmetano; (I) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; (J) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina; (K) 4,4'-oxidianilina; (L) 4-aminobifenila; (M) p-aminofenol; (N) 4-cloro-2-metilanilina; (O) 4-cloroanilina; (P) anilina; (Q) 1,4-diaminobenzeno (R) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; (S) 2-metoxianilina; (T) 3,3'-dimetoxibenzidina; (U) 2-metilanilina; (V) 2-metilbenzeno-1,4-diamina.











Fonte: próprio autor.

A partir destes voltamogramas cíclicos foram obtidos os respectivos parâmetros de potencial de pico e corrente de pico para os processos de oxidação e redução na varredura reversa anódica e catódica, os quais são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2: Potencial de oxidação e redução obtido de voltamogramas registrados para $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ das aminas estudadas em meio de cloreto de lítio sobre eletrodo de carbono vítreo. $\nu = 50$ mV s⁻¹.

Amina	E _{ox} 1 (mV)	E _{ox} 2 (mV)	E _{rDE} 1 (mV)	E _{rDE} 2 (mV)	I _{pa} (μA)	II _{pa} (μA)
2,4-diaminotoluidina	+561	-	-	-	14,9	-
2,5-dimetilanilina	+854	-	+ 308	-	21,2	-
2-cloro-4-nitroanilina	+727	-	-	-	46,6	-
2-metoxi-5-metilanilina	+702	+894	+261	-	12,5	20,7
2-aminonaftaleno	+750	-	+240	-	10,5	-
3,3'-dimetilbenzidina	+535	+859	+551	+ 374	10,2	5,45
4,4'-diaminobifenilmetano	+820	-	+335	-	12,8	-
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	+761	-	+ 284	-	3,12	-
4,4'-metileno-bis-cloroanilina	+ 980	-	+550	-	12,5	-
4,4'-oxidianilina	+689	-	+ 302	-	7,32	-
4-aminobifenila	+781	-	-	-	4,87	-
p-aminofenol	+ 280	+680	+550	+250	7,87	6,25
4-cloro-2-metilanilina	+500	-	-	-	15,9	-
4-cloroanilina	+ 980	-	+380	-	9,87	-
Anilina	+918	-	+352	-	4,58	-

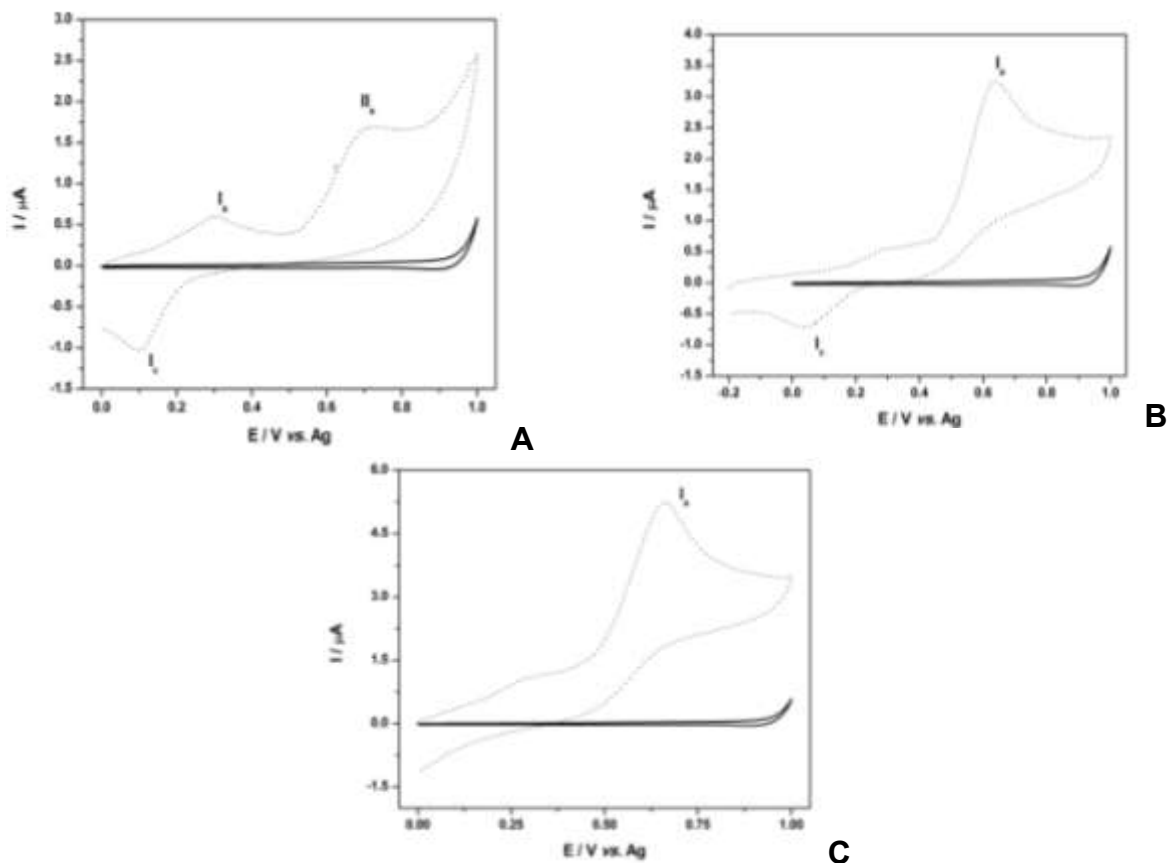
4,4'-diaminobifenila	+542	+820	+444	+332	1,98	5,57
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	+678	+889	-	-	1,23	2,67
2-metoxianilina	+750	-	+333	-	3,38	-
3,3'-dimetoxibenzidina	+550	+625	+600	+439	1,65	1,35
2-metilanilina	+836	-	+317	-	3,46	-
1,4-diaminobenzeno	+302	+718	+371	+234	7,58	7,64
2-metilbenzeno-1,4-diamina	+600	-	+400	-	2,12	-

Os dados apresentados na **Tabela 2**, mostram que todas as amins investigadas apresentam picos de oxidação na região entre +0.32 a +0.98 V vs Ag/AgCl e a resposta voltamétrica poderia ser utilizada para análise da referida amina via detecção eletroquímica acoplado ao sistema HPLC. Todas as correntes de pico aumentam em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) indicando que o processo é controlado por difusão, com exceção das amins 2,5-dimetilanilina e 4,4'-diaminobifenilmetano e 4-cloroanilina nas quais as correntes de pico aumentam em função da velocidade de varredura (v) sugerindo que o processo é controlado por adsorção.

4.1.2. Oxidação sobre Eletrodo de Carbono Vítreo em Líquido Iônico

Com o intuito de investigar o comportamento destas amins em líquido iônico voltamogramas cíclicos foram registrados para a oxidação DE $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de cada amina selecionada sobre superfície de carbono vítreo (ECV) em 30 mmol^{-1} de líquido iônico [BMIm-BF₄] sob velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . A **Figura 6** apresenta os voltamogramas obtidos para oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de 1,4-diaminobenzeno utilizando-se o sistema de dois eletrodos descritos na parte experimental, ou seja, um ECV e um fio de prata como eletrodo de pseudo referência.

Figura 6: Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de 1,4-diaminobenzeno em metanol e líquido iônico BMIm-BF₄ (1:1) (A); BMIm-NTf₂ (B); HMIIm-PF₆ (C) sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .



Fonte: próprio autor.

Analisando-se a **Figura 6A** observa-se que o 1,4-diaminobenzeno apresenta dois picos de oxidação em $E_{Ia} = + 0,301 \text{ V}$ (I_a) e $I_a = 0,46 \mu\text{A}$; $E_{IIa} = + 0,717 \text{ V}$ (II_a) e $I_c = 1,4 \mu\text{A}$. Estes potenciais estão ligeiramente deslocados em relação ao eletrodo convencional uma vez que estão sendo medidos em relação ao eletrodo de pseudo-referência Ag. No entanto, os picos não alteram de posição em função da repetição do voltamograma, mostrando repetibilidade da resposta voltamétrica [35]. Na varredura reversa observa-se apenas um pico de redução em potencial de $+ 0,10 \text{ V}$, com corrente igual a $- 1,0 \mu\text{A}$.

Em seguida o estudo foi repetido para oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ DE 1,4-diaminobenzeno em BMIm-NTf₂ (1-butil-3-metilimidazólio de

bis(trifluorometilsulfonyl)imida) como mostra **Figura 6B** e para o líquido iônico HMIIm-PF₆ (1-hexil-3-metilimidazólio de hexafluorofosfato) na **Figura 6C** utilizando as mesmas condições anteriores.

A **Tabela 3** resume os parâmetros voltamétricos obtidos para oxidação das 23 aminas estudadas nos líquidos iônicos BMIm-BF₄; BMIm-NTf₂ e HMIIm-PF₆ obtidos de voltamogramas cíclicos registrados para 1×10^{-3} mol L⁻¹ da amina em 30 mmol L⁻¹ do líquido iônico, de forma semelhante ao apresentado na **Figura 6**.

Tabela 3: Parâmetros voltamétricos obtidos dos voltamogramas correspondentes a oxidação das aminas aromáticas. Velocidade de 50 mV s⁻¹. Eletrólito: metanol + 30 mmol L⁻¹ do líquido iônico.

Amina	E _{oxi} (mV) BMIm-BF ₄	E _{rDE} (mV) BMIm-BF ₄	E _{oxi} (mV) BMIm[NTf ₂]	E _{rDE} (mV) BMIm[NTf ₂]	E _{oxi} (mV) HMIIm[PF ₆]	E _{rDE} (mV) HMIIm[PF ₆]
2,4-diaminotoluidina	560	-	420	-	444	-
2,5-dimetilanilina	776	-	720	289	745	-
2-cloro-4-nitroanilina	860	-	800	-	835	-
2-metoxi-5-metilanolina	+620/+823	+208	+546	-	+645	+243
2-aminonaftaleno	+723	+232	+678	+210	+699	+222
3,3'-dimetilbenzidina	+520/+843	+521/+354	+476/+806	+460	+502	+489
4,4'-diaminobifenilmetano	+802	+298	+768	-	+812	+256
4,4'-metileno-bis-2-metilanolina	+743	+245	+702	-	+689	+209
4,4'-metileno-bis-cloroanilina	+954	-	+923	+521	+900	+487
4,4'-oxidianilina	+656	+300	+612	+287	+634	+288
4-aminobifenila	+779	-	+712	-	+745	-
4-aminofenol	+279/+683	+532/+234	+243	+536/+230	+252/+664	+498
4-cloro-2-metilanolina	+489	-	+423	-	+456	-
4-cloroanilina	+967	+365	+898	+312	+934	+389
Anilina	+903	+345	+870	-	+894	-
4,4'-diaminobifenila	+538/+798	+440/+330	+645	+300	+528/+767	+432/+780
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	+670	-	+620	-	+649	-
2-metoxianilina	+743	+330	+658	+276	+705	-
3,3'-metoxibenzidina	+449/+609	+596/+400	+587	+493	+505	+423
2-metilanolina	+830	+329	+767	-	+823	+306
1,4-diaminobenzidina	+301/+717	+98	+637	+41	+662	-
2-metilbenzeno-1,4-diamina	+598	+389	+558	+412	+570	-

Após análise dos voltamogramas obtidos em todos os líquidos iônicos para todas as aminas estudadas conclui-se que o líquido iônico que menos interfere no comportamento eletroquímico envolvendo oxidação das aminas sobre eletrodo de carbono vítreo é o BMIm-NTf₂, pois apresentou menor deslocamento dos potenciais de pico e melhor definição dos dois picos de oxidação e portanto foi adotado nas medidas posteriores.

4.2. Detecção das Aminas Aromáticas Classificadas no Grupo 1.

Foram otimizadas os parâmetros inerentes para a técnica de HPLC para obter os melhores resultados para cada grupo. Na Tabela estão os parâmetros que foram otimizados para os dois grupos. Para a técnica de HPLC-ED foram utilizadas as mesmas condições otimizadas para o HPLC-DAD e ainda foi otimizado o potencial aplicado para a detecção. Essa otimização está apresentado no início de cada seção.

Tabela 4: Parâmetros otimizados para HPLC.

PARÂMETRO	FAIXA ESTUDADA	VALOR OTIMIZADO
FASE MÓVEL GRUPO 1	MeOH/água variando de 10:90 a 90:10	MeOH/Água 70:30
FASE MÓVEL GRUPO 2	ACN/água variando de 10:90 a 90:10	ACN/Água 60:40
VAZÃO GRUPO 1	0,6 a 1,2 mL min ⁻¹	0,8 mL min ⁻¹
VAZÃO GRUPO 2	0,6 a 1,2 mL min ⁻¹	0,8 mL min ⁻¹
TEMPERATURA GRUPO 1	30°C a 50°C (variando de 5 em 5°C)	40°C
TEMPERATURA GRUPO 2	30°C a 50°C (variando de 5 em 5°C)	40°C
COMPRIMENTO DE ONDA GRUPO 2	200 a 250 nm (variando de 10 nm)	230 nm
COMPRIMENTO DE ONDA GRUPO 2	200 a 250 nm (variando de 10 nm)	230 nm

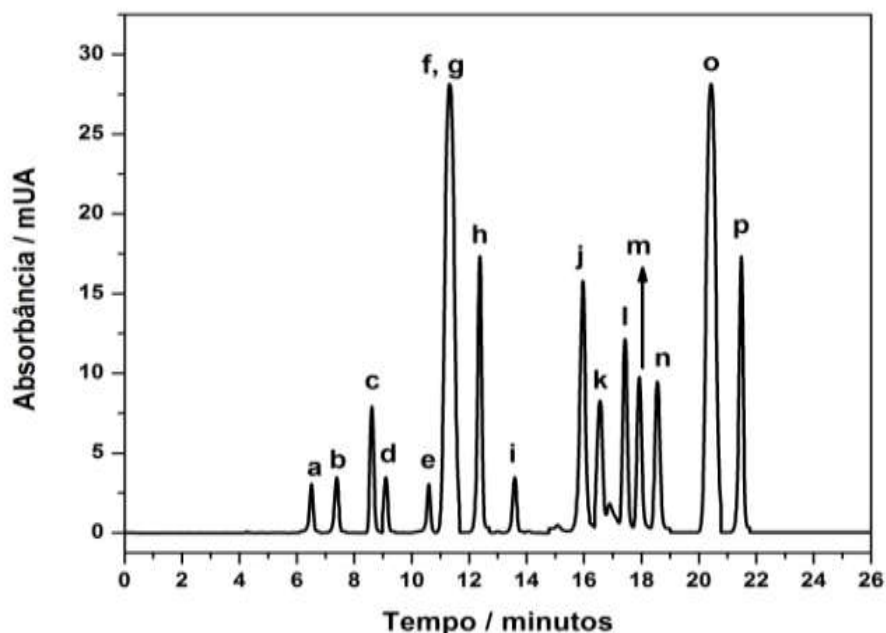
4.2.1. HPLC-DAD

A **Figura 7** e **Figura 8** ilustram cromatogramas típicos HPLC-DAD com e sem líquido iônico como aditivo, respectivamente para a mistura das 16 aminas classificadas no grupo 1: 4,4'-oxidianilina, anilina, 2,4-diaminotoluidina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 4,4'-diaminobifenila, 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, 2-

aminonaftaleno, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 4,4-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetilbenzidina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4-aminobifenila, 2-metoxi-5-metilanilina, 4-cloroanilina e 3,3'-diclorobenzidina, utilizando como fase móvel metanol/água 70:30 (v/v) e vazão de 0,8 mL min⁻¹ para o sistema HPLC-DAD com e sem adição de líquido iônico. O cromatograma foi registrado para detecção em comprimento de onda de 230nm.

Figura 7: Cromatogramas HPLC-DAD obtidos para 20µL da mistura dos padrões de amins do grupo 1 em concentração de 50 mg L⁻¹ em metanol, Fase móvel: metanol/água 70:30 (v/v), λ = 230nm, fase estacionária C18.

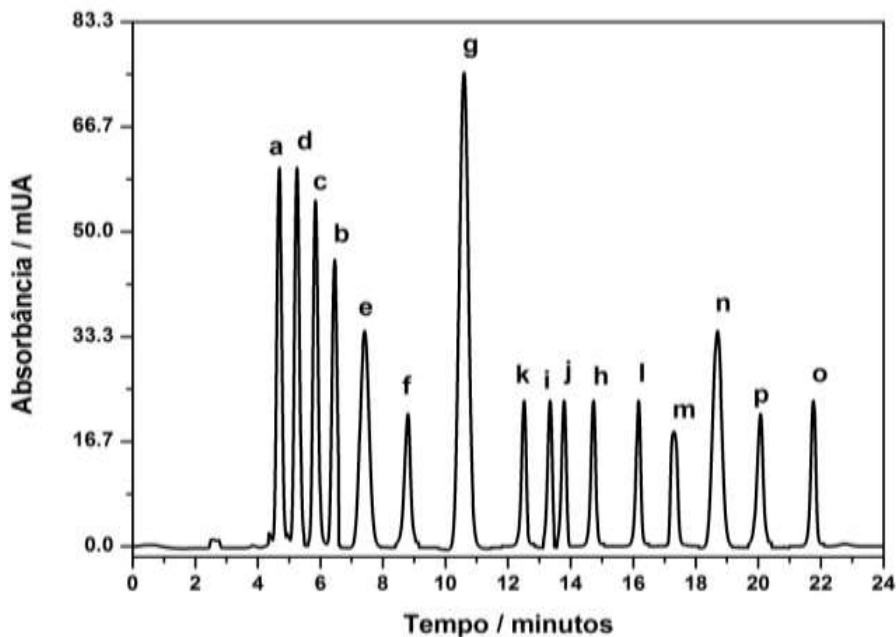
a: 4,4'-diaminodifenilmetano; **b:** 4-cloroanilina; **c:** 2-metoxi-5-metilanilina; **d:** 3,3'-dimetilbenzidina; **e:** 2,4-diaminotoluidina; **f:** 2-cloro-4-nitroanilina; **g:** 4,4-oxidianilina; **h:** anilina; **i:** 3,3'-diclorobenzidina; **j:** 4,4'-diaminobifenila; **k:** 4-aminobifenila; **l:** 3,3'-dimetoxibenzidina; **m:** 2-metoxibenzidina; **n:** 2-metilanilina; **o:** 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina; **p:** 2-aminonaftaleno.



Fonte: próprio autor.

Figura 8: Cromatograma HPLC-DAD a partir da injeção de 20µL da mistura dos padrões de amins do grupo I na concentração de 50mg L⁻¹ em metanol utilizando BMIm-NTf₂ como aditivo à fase móvel, λ = 230nm.

a: 4,4'-diaminodifenilmetano; **d:** 3,3'-dimetilbenzidina; **c:** 2-metoxi-5-metilnilina; **b:** 4-cloroanilina; **e:** 2,4-diaminotoluidina; **f:** 2-cloro-4-nitroanilina; **g:** 4,4-oxidianilina; **k:** 4-aminobifenila; **i:** 3,3'-diclorobenzidina; **j:** 4,4'-diaminobifenila; **h:** anilina; **l:** 3,3'-dimetoxibenzidina; **m:** 2-metoxianilina; **n:** 2-metilnilina; **p:** 2-aminonaftaleno; **o:** 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina.



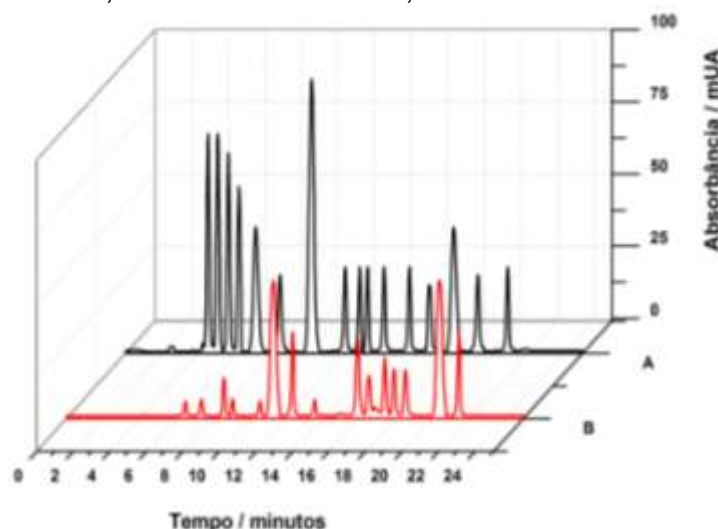
A **Figura 7** mostra que exceto pela co eluição da 2-cloro-4-nitroanilina e de 4,4'-oxidianilina com tempo de retenção de 11,30 minutos, todas as outras amins foram eluidas em t_r = 6,48 minutos para a 4,4'-diaminodifenilmetano; t_r = 7,42 minutos para a 4-cloroanilina; t_r = 8,61 minutos para 2-metoxi-5-metilnilina; t_r = 9,09 minutos para a 3,3'-dimetilbenzidina; t_r = 10,6 minutos para a 2,4-diaminotoluidina; t_r = 12,43 minutos para a anilina; t_r = 13,60 minutos para a 3,3'-diclorobenzidina; t_r = 15,97 minutos para a 4,4'-diaminobifenila; t_r = 16,53 minutos para a 4-aminobifenila; t_r = 17,40 minutos para a 3,3'-dimetoxibenzidina; t_r = 17,95 minutos para a 2-metoxibenzidina; t_r = 18,59 minutos para a 2-metilnilina; t_r = 20,41 minutos para a 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina; t_r = 21,44 minutos para a 2-aminonaftaleno. No entanto, observa-se que alguns compostos como 4-aminobifenila, 3,3'-dimetoxibenzidina e 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina apresentaram um pequeno encaudamento dos picos.

Para contornar estes problemas utilizou-se a adição de líquido iônico à fase móvel, com o intuito de formar par iônico com o analito e assim alterar as interações entre o analito e a fase estacionária. Assim, foi adicionado à fase móvel 30 mmol L⁻¹ líquido iônico BMIm-NTf₂, e o correspondente cromatograma está mostrado na **Figura 8**, no qual as condições cromatográficas otimizadas foram: Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L⁻¹ DE BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min⁻¹; fase estacionária C18, monitorando o comprimento de onda de 230 nm para o detector de arranjos de diodo. Analisando a **Figura 8** observa-se a melhor separação cromatográfica dos compostos analisados, além de ausência de encaudamento dos picos.

Comparando as **Figura 7** e **Figura 8** pode-se verificar que houve mudança na ordem de eluição dos compostos: 3,3'-dimetilbenzidina, 4-cloroanilina, 4-aminobifenila, anilina, 2-aminonaftaleno e 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, que pode ser explicado pela alteração no mecanismo complexo que ocorre na coluna cromatográfica onde há formação de par iônico entre a amina protonada (carga positiva) e o ânion [NTf₂]⁻ do líquido iônico. O metanol apresenta uma constante de dissociação baixa, insuficiente para formar par iônico com o analito protonado. Sendo assim, o mecanismo que ocorre durante a análise cromatográfica se torna diferenciado obtendo por fim um cromatograma mais resolvido e limpo. O pKa das aminas aromáticas tem grande influência na separação cromatográfica, pois como o pH da fase móvel é aproximadamente 7,0 e neste pH algumas aminas (ver Tabela 1) apresentam-se protonadas no meio e devido a isto irão formar par iônico com os ânions [NTf₂]⁻ do líquido iônico utilizado como aditivo alterando o mecanismo de separação e devido a isso ocorreu inversão da ordem de eluição de algumas aminas assim como a diminuição ou aumento do tempo de retenção de algumas aminas. As aminas aromáticas que apresentam pKa

Na **Figura 9** são melhor comparados os cromatogramas HPLC-DAD com e sem líquido iônico onde as intensidades dos picos são comparadas em 3D.

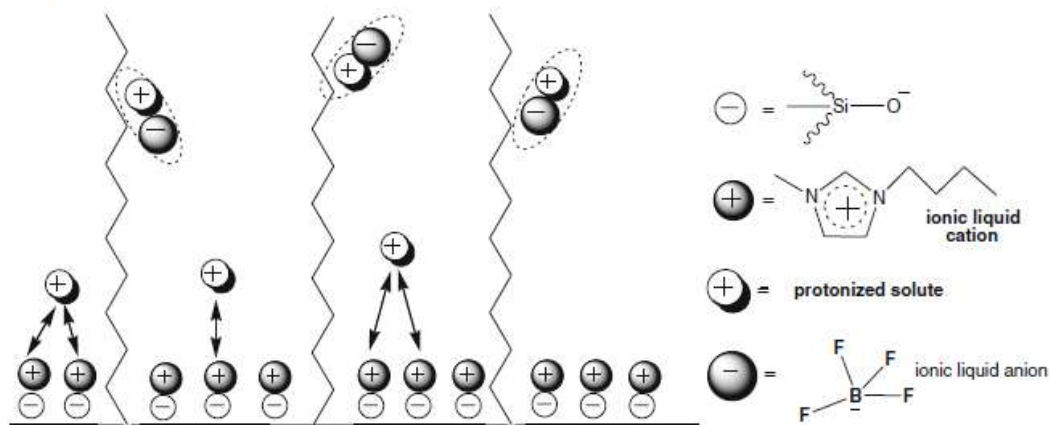
Figura 9: Cromatograma comparativo em 3D da amina do grupo 1 na ausência (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm-NTf₂ (curva A, preta) utilizando detecção de arranjos de diodos. Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min⁻¹; fase estacionária C18, λ = 230nm.



Fonte: Próprio autor.

Na análise da **Figura 9** observa-se facilmente que a intensidade do sinal também aumenta em médio 30% (altura do pico) quando o líquido iônico foi adicionado à fase móvel pois os íons presentes do líquido iônico bloqueiam os silanóis residuais presentes na fase estacionária da coluna cromatográfica, sendo assim, diminui o tempo de residência destes analitos dentro da coluna e portanto diminui o encaudamento dos picos cromatográficos, ou seja, os picos ficam mais finos (menor largura de base) e por consequência mais intensos. A **Figura 10** exemplifica o mecanismo de separação cromatográfica quando o líquido iônico está presente como aditivo à fase móvel. As aminas aromáticas estão protonadas (esferas brancas com carga positiva) interagindo com os ânions do líquido iônico [NTf₂]⁻ (esferas escuras com carga negativa). A figura mostra também que ocorre um bloqueio dos silanóis (esferas brancas com carga negativa) pelos cátions do líquido iônico (esferas escuras com carga positiva). Outro fator importante promovido pela adição do líquido iônico é a formação de par iônico entre as aminas aromáticas protonadas e os íons do líquido iônico. Este fenômeno promove a menor interação dos analitos com o C18 da fase estacionária e leva que ocorra eluição mais rápida da coluna refletindo no aumento da sensibilidade do método.

Figura 10: Esquema do mecanismo de separação no interior da coluna cromatográfica.

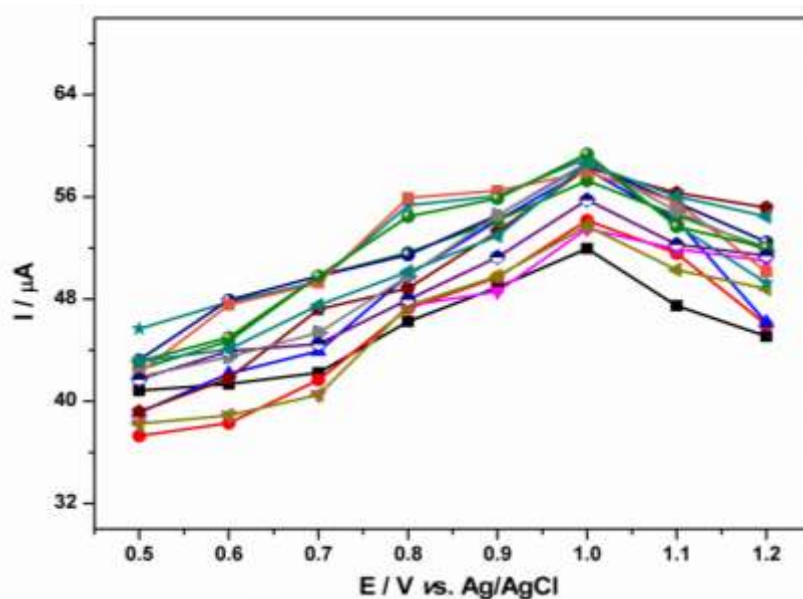


Fonte: [92]

4.2.2. HPLC-ED

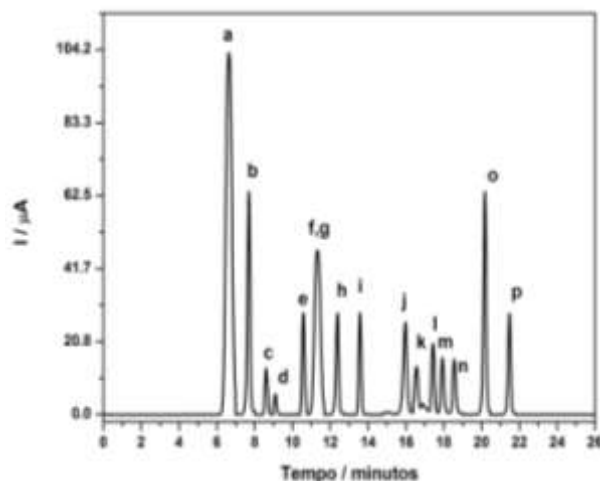
Com o intuito de melhorar a sensibilidade do método foi realizado estudo com o detector eletroquímico. A **Figura 11** mostra o gráfico de corrente em função do potencial no intervalo de 0,5 a 1,2 V aplicado na célula eletroquímica do sistema HPLC-ED, utilizando-se 20 μL dos padrões de 50 mg L^{-1} das aminas em metanol.

Figura 11: Gráfico de corrente em função do potencial aplicado na célula eletroquímica do sistema HPLC-ED para as aminas aromáticas do grupo 1. 4,4'-oxidianilina, anilina, 2,4-diaminotoluidina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 4,4'-diaminobifenila, 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, 2-aminonaftaleno, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 4,4'-diaminodifenilmetame, 3,3'-dimetilbenzidina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4-aminobifenila, 2-metoxi-5-metilanilina, 4-cloroanilina e 3,3'-diclorobenzidina



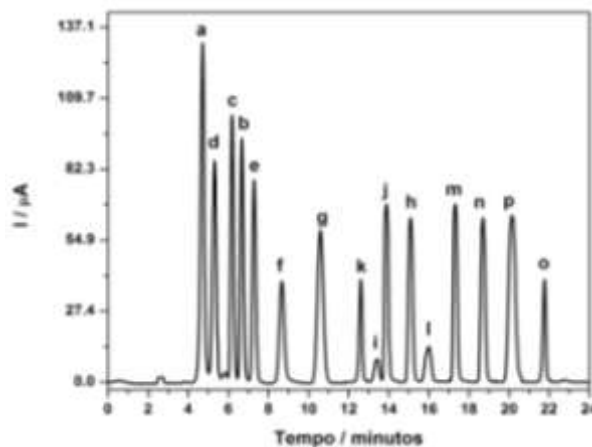
A análise da **Figura 11** mostra que o potencial que apresenta maior corrente para todas as aminas estudadas foi igual a +1,0 V *versus* Ag/AgCl de fase sólida e assim este potencial foi aplicado na célula para monitoramento desses compostos. As **Figura 12** e **Figura 13** ilustram cromatogramas típicos HPLC-ED com e sem líquido iônico como aditivo, respectivamente para a mistura das 16 aminas classificadas no grupo 1: 4,4'-oxidianilina, anilina, 2,4-diaminotoluidina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 4,4'-diaminobifenila, 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, 2-aminonaftaleno, 2-metilanilina, 2-metoxianilina, 4,4'-diaminodifenilmetame, 3,3'-dimetilbenzidina, 2-cloro-4-nitroanilina, 4-aminobifenila, 2-metoxi-5-metilanilina, 4-cloroanilina e 3,3'-diclorobenzidina, utilizando como fase móvel metanol/água 70:30 (v/v) e vazão de 0,8 mL min⁻¹ para o sistema HPLC-ED sem adição de líquido iônico e fase móvel Metanol/Água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂. Foi aplicado potencial de E = +1,0V, otimizado anteriormente.

Figura 12: Cromatograma HPLC-ED obtidos para 20 μ L da mistura dos padrões de amins do grupo I em concentração de 50 mg L⁻¹ em metanol em eletrodo de carbono vítreo. Fase móvel: metanol/água 70:30 (v/v), E = +1,00V. T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18. **a:** 4,4'-diaminodifenilmetano; **b:** 4-cloroanilina; **c:** 2-metoxi-5-metilanilina; **d:** 3,3'-dimetilbenzidina; **e:** 2,4-diaminotoluidina; **f:** 2-cloro-4-nitroanilina; **g:** 4,4-oxidianilina; **h:** anilina; **i:** 3,3'-diclorobenzidina; **j:** 4,4'-diaminobifenila; **k:** 4-aminobifenila; **l:** 3,3'-dimetoxibenzidina; **m:** 2-metoxibenzidina; **n:** 2-metilanilina; **o:** 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina; **p:** 2-aminonaftaleno.



Fonte : Próprio autor

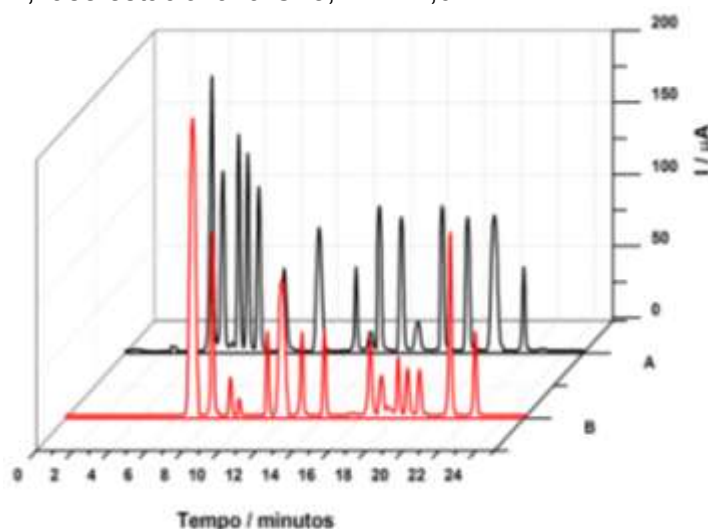
Figura 13: Cromatograma HPLC-ED a partir da injeção de 20 μ L da mistura dos padrões de amins do grupo I na concentração de 50mg L⁻¹ em metanol utilizando BMIm-NTf₂ em eletrodo de carbono vítreo. E = +1,00V Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80mL min⁻¹; fase estacionária C18. **a:** 4,4'-diaminodifenilmetame; **d:** 3,3'-dimetilbenzidina; **c:** 2-metoxi-5-metilanilina; **b:** 4-cloroanilina; **e:** 2,4-diaminotoluidina; **f:** 2-cloro-4-nitroanilina; **g:** 4,4-oxidianilina; **k:** 4-aminobifenila; **i:** 3,3'-diclorobenzidina; **j:** 4,4'-diaminobifenila; **h:** anilina; **l:** 3,3'-dimetoxibenzidina; **m:** 2-metoxianilina; **n:** 2-metilanilina; **p:** 2-aminonaftaleno; **o:** 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina.



Fonte: próprio autor.

Observa-se na detecção eletroquímica os mesmos problemas que ocorreram para a detecção de arranjos de diodos e que foram resolvidos após a adição de líquido iônico. Com o intuito de facilitar a comparação da sensibilidade quando emprega-se líquido iônico como aditivo, a **Figura 14** ilustra esse efeito para a detecção eletroquímica.

Figura 14: Cromatograma comparativo em 3D das aminas do grupo 1 na ausência (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm-NTf₂ (curva A, preta) utilizando DETecção eletroquímica. Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +1,0V.



Fonte: próprio autor.

Analisando a Figura acima pode-se justificar o aumento da corrente quando usa-se líquido iônico como aditivo da fase móvel pelos mesmos motivos do sistema HPLC-DAD. No entanto, há ainda o efeito dos íons do líquido iônico presentes na fase móvel que aumentam a velocidade da transferência de carga e aumentam a corrente gerada pela facilitação da oxidação das espécies. Neste caso observa-se um aumento de 40% no valor médio da corrente gerada na presença do líquido iônico como aditivo.

4.2.3. Comparação entre a Análise de Aminas Aromáticas do Grupo I por HPLC-DAD e HPLC-ED.

Na **Tabela 5** estão representados as intensidades obtidas por detecção de arranjos de diodos e detecção eletroquímica com e sem adição de líquido iônico. Analisando a **Tabela 5** verifica-se que com a adição de líquido iônico à fase móvel a intensidade do sinal aumenta significativamente em relação a ausência de líquido iônico para ambos os detectores, exceto para 3,3'-dimetoxibenzidina e 3,3'-diclorobenzidina.

Comparando os detectores observa-se que para todas as aminas aromáticas quando se adiciona líquido iônico à fase móvel, a variação de corrente com e sem líquido iônico é maior para o detecção eletroquímica em relação ao detector de arranjos de diodos. Isto pode-se ser explicado pelo fato do líquido iônico melhorar a condutividade na detecção eletroquímica enquanto que para o detecção de arranjos de diodos tem-se somente o efeito na separação cromatográfica.

Tabela 5: Intensidades para o sistema sem e com líquido iônico para os detectores de arranjos de diodos (DAD) e detector eletroquímico (ED) para aminas classificados no grupo I.

Aminas	DAD		DE	
	Intensidade (mUA) sem LI	Intensidade (mUA) com LI	Intensidade (μ A) sem Li	Intensidade (μ A) com Li
2,4-diaminotoluidina	3,0	33,3	30,2	80,6
4,4'-oxidianilina	27,4	75,0	46,9	55,8
4,4'-diaminobifenila	16,0	24,8	26,1	68,6
Anilina	17,5	24,7	30,2	64,5
3,3'-dimetoxibenzidina	17,0	24,9	20,8	14,5
2-metoxianilina	10,0	17,2	18,7	68,9
2-metilanilina	9,8	33,5	18,5	61,8
2-aminonaftaleno	17,2	23,8	29,7	62,4
4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina	27,2	25,0	62,5	40,2
4,4'-diaminodifenilmetano	2,5	58,4	104,0	130,8
3,3'-dimetilbenzidina	2,8	58,5	5,4	85,1
2-metoxi-5-metilanilina	7,6	54,2	11,2	109,2
4-cloroanilina	2,7	42,0	62,5	96,0
2-cloro-4-nitroanilina	27,4	20,8	46,9	41,1
4-aminobifenila	8,0	24,7	11,2	41,2
3,3'-diclorobenzidina	2,7	24,6	30,2	14,4

4.2.4. Curva Analítica para Aminoácidos do grupo I por HPLC-DAD e HPLC-ED

Utilizando-se as condições previamente otimizadas, foi realizado estudo de recuperação para todas as aminos investigadas através do método de adição de padrão. Uma amostra de 250 mL de água potável foi fortificada com uma mistura das aminos aromáticas em metanol na concentração de 25 mg L⁻¹. Foram realizadas 4 adições da solução de 25 mg L⁻¹. Uma alíquota de 20 µL dessas soluções foi injetada em HPLC-DAD e HPLC-ED. Os resultados obtidos de recuperação das aminos estão apresentados na **Tabela 6**, mostrando que o método está otimizado satisfatoriamente apresentando porcentagens de recuperação entre 95 e 105% que está de acordo com parâmetros estabelecidos na literatura.

Em seguida foram construídas curvas analíticas (Vide Anexo 1A e Anexo 1C) para cada amina aromática separadamente utilizando ambos os detectores. Os parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas estão resumidos na **Tabela 6**.

Tabela 6: Parâmetros analíticos para as aminos aromáticas do grupo 1 para HPLC-DAD e HPLC-DE. Fase móvel: MeOH/água 70:30 + 30mM DE BMIm-NTf₂ (v/v); T = 40°C; λ = 230nm ou E = +1,00V.

Aminas	DAD					DE				
	A	B	R	#	Rec.	A	B	R	#	Rec.
2,4-diaminotoluidina	-51,5	2,8x10 ⁶	0,999	9,52	110	48,8	4,2x10 ⁶	0,998	8,45	100
4,4'-oxidianilina	-25,4	1,6x10 ⁶	0,998	2,75	96	15,6	3,4x10 ⁶	0,993	1,56	98
4,4'-diaminobifenila	43,4	2,7x10 ⁶	0,996	3,57	97	27,5	7,2x10 ⁶	0,997	4,78	97
Anilina	-53,5	5,4x10 ⁶	0,995	2,29	99	124,2	8,8x10 ⁶	0,996	4,68	99
3,3'-dimetoxibenzidina	-34,9	3,9x10 ⁶	0,997	6,64	100	76,1	9,2x10 ⁶	0,997	9,48	100
2-metoxianilina	-125,4	6,2x10 ⁶	0,999	7,22	103	-87,2	8,4x10 ⁶	0,998	6,28	103
2-metilnilina	165,7	1,9x10 ⁶	0,999	5,57	100	23,8	3,6x10 ⁶	0,997	2,15	100
2-aminonaftaleno	-325,8	1,0x10 ⁶	0,996	2,60	103	43,7	2,8x10 ⁶	0,999	2,87	103
4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina	-264,6	4,8x10 ⁶	0,999	5,73	100	44,6	8,4x10 ⁶	0,998	5,64	100
4,4'-diamino Difenilmetano	28,8	3,6x10 ⁶	0,997	4,43	99	124,6	6,4x10 ⁶	0,999	2,84	99
3,3'-dimetilbenzidina	-33,7	1,3x10 ⁶	0,998	1,89	95	-71,9	4,8x10 ⁶	0,997	4,82	95

2-metoxi-5-metilnilina	-66,4	2,4x10 ⁶	0,996	4,73	100	46,7	5,7x10 ⁶	0,999	5,37	100
4-cloroanilina	184,6	1,5x10 ⁶	0,996	2,60	105	-18,6	6,4x10 ⁶	0,997	6,28	105
2-cloro-4-nitroanilina	384,1	1,2x10 ⁶	0,995	3,21	98	-34,8	4,2x10 ⁶	0,999	8,21	98
4-aminobifenila	41,8	5,9x10 ⁶	0,998	8,75	97	46,7	7,6x10 ⁶	0,999	7,61	97
3,3'-diclorobenzidina	85,5	2,1x10 ⁶	0,998	4,00	96	-39,3	4,1x10 ⁶	0,999	2,86	96

A: coeficiente linear; **B:** coeficiente angular; **#:** desvio coeficiente linear A; **R:** coeficiente de correlação; **Rec.:** % recuperação; **DAD:** detecção de arranjos de diodos; **DE:** detecção eletroquímica.

A curva analítica apresentou faixa linear no intervalo de concentração de 1 a 250 mg L⁻¹ (Vide Anexo 1). A **Tabela 6** mostra os parâmetros analíticos correspondentes aos cromatogramas com detecção de arranjos de diodos (DAD) e detecção eletroquímica (ED). Valores de limites de detecção foram obtidos através da fórmula descrita no procedimento experimental para todas as aminas apresentando valores entre 1,27 a 10,2 mg L⁻¹ para HPLC-DAD. Do mesmo modo foram determinados valores para os limites de quantificação, os quais permanecem entre 4,24 mg L⁻¹ e 34,0 mg L⁻¹. Entretanto para a detecção eletroquímica (ED) os valores de limite de detecção estão no intervalo de 1,38 a 6,04 mg L⁻¹ e o limite de quantificação no intervalo de 4,44 mg L⁻¹ a 20,1 mg L⁻¹ (**Tabela 6**).

Pode-se observar que o detector eletroquímico apresenta valores menores para determinação das aminas em relação ao detector de arranjo de diodos, exceto para a anilina que apresentou um limite de detecção para o DAD de 1,27 mg L⁻¹ e de 1,59 mg L⁻¹ para o ED.

Além disto, os resultados correspondentes à assimetria dos picos variam de 0,77 a 1,10 na ausência de líquido iônico na fase móvel e de 0,87 a 1,00 com adição de líquido iônico para o detector de arranjos de diodos.

Utilizando-se o detector eletroquímico observa-se que os valores variam de 0,79 a 1,12 sem líquido iônico e de 0,90 a 1,02 quando o líquido iônico está presente na fase móvel. Os cálculos de assimetria mostram que com a presença de líquido iônico à fase móvel os seus valores ficam mais próximos de 1 nos cromatogramas em geral, mostrando que os picos são mais bem definidos nestas condições experimentais.

Os cálculos de número de pratos teóricos foram realizados na ausência e presença de líquido iônico para ambos os detectores. A análise dos resultados mostra que para os casos onde o tempo de retenção da amina diminui com a adição de líquido iônico à fase móvel o valor dos pratos teóricos diminui, lembrando que a largura dos picos permanece praticamente inalterada. Já para os casos onde o tempo de retenção aumenta, há um aumento no valor dos pratos teóricos sem alteração na largura dos mesmos.

Tabela 7: Parâmetros analíticos das aminas aromáticas do grupo 1 calculados a partir da curva analítica para HPLC-DAD e HPLC-ED. Fase móvel: MeOH/água 70:30 + 30mM DE BMIm-NTf₂ (v/v); T = 40°C; λ = 230nm ou E = +1,00V.

Aminas	Tr 1	Tr 2	DAD						DE					
			L.D.	L.Q.	As		Np		L.D.	L.Q.	As		Np	
					1	2	1	2			1	2	1	2
2,4-diaminotoluidina	10,6	7,26	10,2	34,0	0,80	0,90	30018,8	29987,2	6,04	20,1	0,85	0,92	31211,1	29645,7
4,4'-oxidianilina	11,3	10,6	5,16	17,2	--	0,88	6484,2	5992,4	1,38	4,59	--	0,90	6491,8	5942,1
4,4'-diaminobifenila	15,9	13,9	3,97	13,2	0,82	0,92	24557,4	22347,7	1,99	6,64	0,84	0,96	24214,4	22998,7
Anilina	12,4	15,1	1,27	4,24	1,10	1,00	42245,7	42865,1	1,59	5,32	1,12	1,02	42642,3	44437,0
3,3'-dimetoxibenzidina	17,4	15,9	5,11	17,0	0,78	0,92	190512,0	186487,6	3,09	10,3	0,80	0,94	190096,0	189924,7
2-metoxianilina	17,9	17,3	3,49	11,6	0,88	0,90	89128,9	89142,7	2,24	7,48	0,90	0,93	89301,4	88754,2
2-metilanilina	18,6	18,7	8,79	29,3	0,84	0,89	95227,0	95348,1	1,79	5,97	0,86	0,91	95378,0	95548,7
2-aminonaftaleno	21,4	20,2	7,80	26,0	0,81	0,88	124221,4	117241,1	3,08	10,2	0,88	0,92	127925,4	116487,2
4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina	20,4	21,8	3,58	11,9	0,77	0,91	28332,2	29541,8	2,01	6,71	0,81	0,97	28985,1	29257,6
4,4'-diaminodifenilmetame	6,48	4,70	3,69	12,3	0,87	0,90	11218,2	9824,3	1,33	4,44	0,89	0,94	11844,7	9745,8
3,3'-dimetilbenzidina	9,09	5,32	4,36	14,5	0,81	0,90	22241,3	19832,7	3,01	10,0	0,88	0,99	22901,8	20824,4
2-metoxi-5-metilanilina	8,61	6,16	5,91	19,7	0,81	0,91	19524,7	15824,3	2,82	9,42	0,88	0,95	20544,4	19245,6
4-cloroanilina	7,42	6,69	5,20	17,3	0,82	0,88	39008,4	38725,7	2,94	9,81	0,86	0,94	39151,2	37954,4
2-cloro-4-nitroanilina	11,3	8,62	8,03	26,8	--	0,87	6491,8	5248,5	5,86	19,5	--	0,92	6491,8	5542,7
4-aminobifenila	16,5	12,6	4,45	14,8	0,77	0,85	42642,2	40658,1	3,00	10,0	0,79	0,94	42642,2	40158,6
3,3'-diclorobenzidina	13,6	13,4	5,71	19,0	0,78	0,86	51680,4	51554,7	2,09	6,98	0,81	0,92	51680,4	50964,7

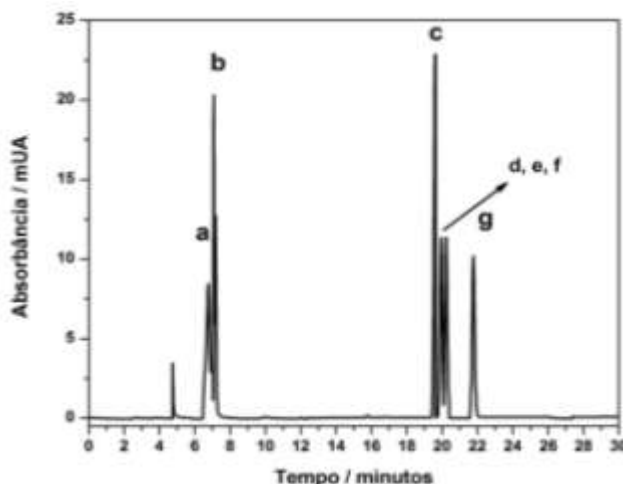
Tr 1: tempo de retenção em minutos sem líquido iônico; Tr 2: tempo de retenção em minutos com líquido iônico; L.D.: limite de detecção (mg L⁻¹); L.Q.: limite de quantificação (mg L⁻¹). As: assimetria (1: sem líquido iônico; 2: com líquido iônico); Np: número de pratos teóricos (1: sem líquido iônico; 2: com líquido iônico)

4.3. Detecção das Aminas Aromáticas Classificadas no Grupo 2

4.3.1. HPLC-DAD

A **Figura 15** e a **Figura 16** ilustram cromatogramas típicos HPLC-DAD obtidos com e sem líquido iônico como aditivo à fase móvel, respectivamente para a mistura das 7 aminas do grupo 2: 2,5-dimetilanilina, 4-cloro-2-metilanilina, 1,4-diaminobenzeno, p-aminofenol, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina, N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno, 2-metilbenzeno-1,4-diamina, utilizando como fase móvel acetonitrila/água 60:40 (v/v) e vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda = 230 \text{ nm}$, $T = 40^\circ\text{C}$ para o modo sem aditivo à fase móvel e para o modo com aditivo fase móvel acetonitrila/água +30 mmol L^{-1} de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda = 230 \text{ nm}$, $T = 40^\circ\text{C}$.

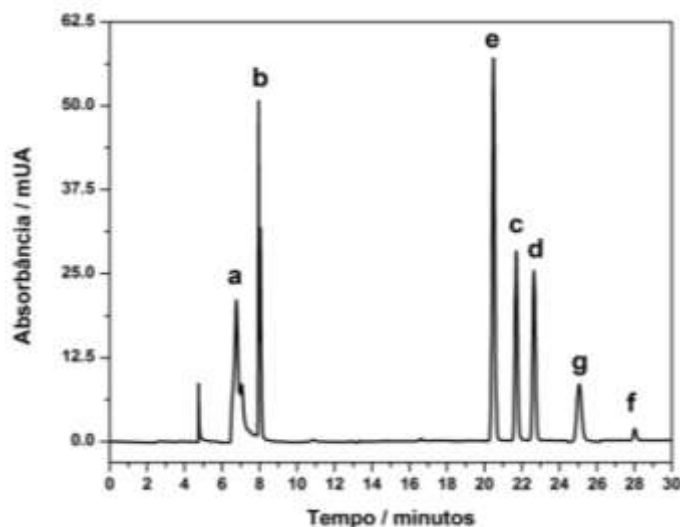
Figura 15: Cromatograma HPLC-DAD obtido para 20 μL da mistura dos padrões de aminas do grupo 2 em concentração DE 50 mg L^{-1} em metanol, Fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v), $\lambda = 230\text{nm}$, $T = 40^\circ\text{C}$, vazão = $0,80\text{mL min}^{-1}$; fase estacionária C18. **a:** 2,5-dimetilanilina; **b:** 4-cloro-2-metilanilina; **c:** 1,4-diaminobenzeno; **d:** p-aminofenol; **e:** 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; **f:** N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; **g:** 2-metilbenzeno-1,4-diamina.



Fonte: próprio autor.

Figura 16: Cromatograma HPLC-DAD a partir da injeção de 20 μ L da mistura dos padrões de aminas do grupo II em concentração de 50mg L⁻¹ em metanol; Fase móvel: ACN/água + 30mM DE BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v); vazão: 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, λ = 230nm.

a: 2,5-dimetilanilina; **b:** 4-cloro-2-metilanilina; **e:** 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; **c:** 1,4-diaminobenzeno; **d:** p-aminofenol; **g:** 2-metilbenzeno-1,4-diamino; **f:** N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno.



Fonte: Próprio autor.

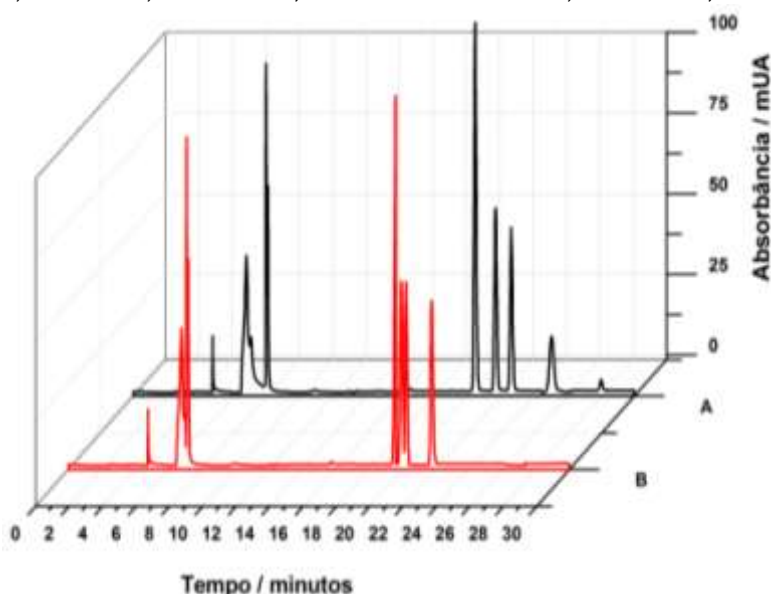
Analisando a **Figura 15** pode-se observar que houve co eluição das seguintes aminas: p-aminofenol, 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina e N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina com tempos DE retenção 20,08 minutos Além disso, poDEmos verificar que a 2,5-dimetilanilina (pico a) apresentou um pequeno encaudamento. Sendo assim, foi adicionado à fase móvel líquido iônico BMIm-NTf₂, e o corresponDEnte cromatograma esta mostrado na **Figura 16**, no qual as condições cromatográficas otimizadas foram: Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L⁻¹ DE BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, monitorando o comprimento DE onDE DE 230 nm.

A **Figura 16** ilustra o efeito do líquido iônico na separação cromatográfica onDE se observa que houve separação completa dos compostos analisados: 2,5-dimetilanilina com tr = 6,77 minutos; 4-cloro-2-metilanilina com tr = 7,98 minutos; 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina com tr = 20,44 minutos; 1,4-diaminobenzeno com tr = 21,70 minutos; p-aminofenol com tr = 22,63 minutos; 2-metilbenzeno-1,4-diamino com tr = 25,10 minutos e N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno com tr = 28,03 minutos. Observa-se também melhora na resolução dos picos, exceto para a 2,5-dimetilanilina que apresenta um pico assimétrico.

A comparação entre as Figuras mostra ainda que houve mudança na ordem de eluição dos compostos: 1,4-diaminobenzeno; p-aminofenol; 2-metilbenzeno-1,4-diamina e N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno, mostrando que houve mudança no mecanismo de separação dos analitos.

Com o intuito de facilitar a comparação da intensidade de sinal quando se trabalha com o líquido iônico como aditivo foi construído o cromatograma mostrado na **Figura 17**.

Figura 17: Cromatograma comparativo em 3D para o sistema HPLC-DAD das aminas do grupo II na ausência de líquido iônico (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm[NTf₂] (curva A, preta) utilizando detecção de arranjos de diodos. Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, λ = 230nm;



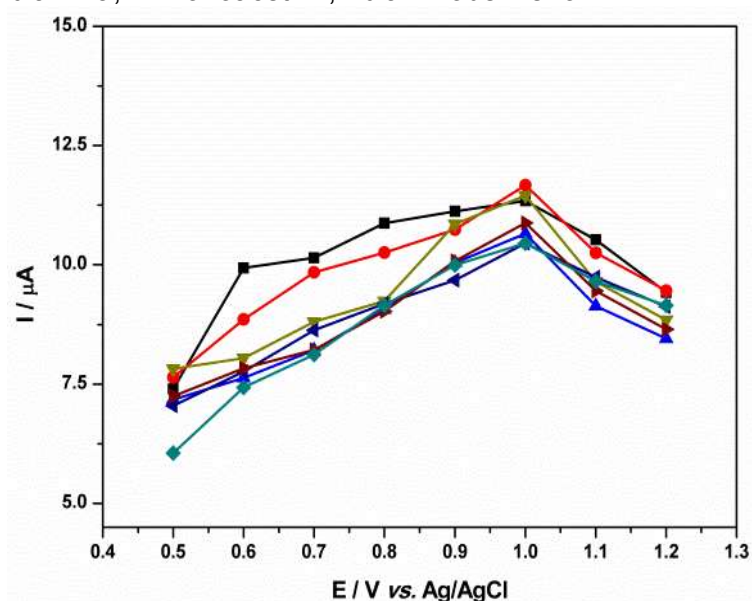
Fonte: próprio autor.

Na análise da **Figura 17** observa-se facilmente que a intensidade do sinal também aumenta em média 20% quando o líquido iônico foi adicionado à fase móvel. Devido a mudança no mecanismo de separação dentro da coluna cromatográfica. A justificativa para esse fenômeno é a mesma que foi apresentada para as aminas do grupo 1.

4.3.2. HPLC-DE

Com o intuito DE melhorar a sensibilidade do método foi realizado estudo com o DEtector eletroquímico. A **Figura 18** mostra o gráfico DE corrente em função do potencial aplicado no intervalo DE 0,5 a 1,2 V na célula eletroquímica do sistema HPLC-DE.

Figura 18: Gráfico DE corrente em função do potencial aplicado na célula eletroquímica do sistema HPLC-DE para as amins aromáticas do grupo 2. 2,5-dimetilanilina; 4-cloro-2-metilanilina; 4,4'-metileno-bis-(2-metilanilina); 1,4-diaminobenzeno; p-aminofenol; 2-metilbenzeno-1,4-diamina, N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno.



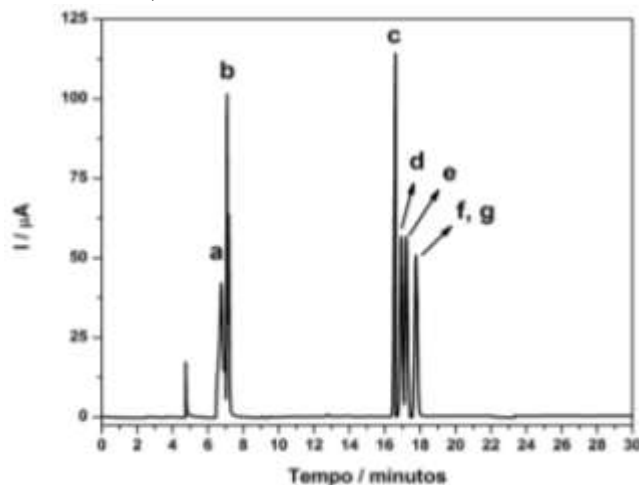
Fonte: próprio autor

A análise da **Figura 18** mostra que o potencial que apresenta maior corrente para todas as amins estudadas foi $E = +1,0V$ versus Ag/AgCl, o qual foi aplicado na célula para monitoramento DEstes compostos.

A **Figura19** e a **Figura 20** ilustram cromatogramas típicos HPLC-ED sem e com líquido iônico como aditivo, respectivamente para a mistura das 7 amins classificadas no grupo 2: 2,5-dimetilanilina; 4 -cloro-2-metilanilina; 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; 1,4-diaminobenzeno; p-aminofenol; 2-metilbenzeno-1,4-diamino; N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno, utilizando como fase móvel acetonitrila/água 60:40 (v/v) e vazão de

0,8 mL min⁻¹ para o sistema HPLC-ED sem adição de líquido iônico e fase móvel Acetonitrila/Água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), vazão de 0,8 mL min⁻¹. Foi aplicado potencial de E = +1,0V, otimizado anteriormente.

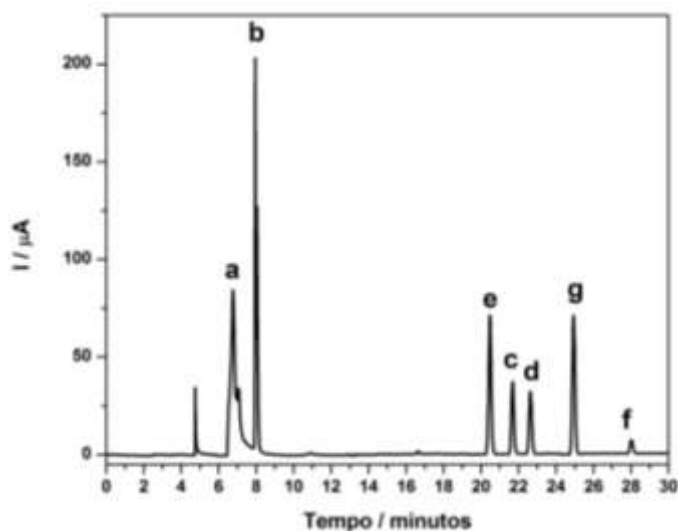
Figura 19: Cromatograma HPLC-ED obtidos para 20 µL da mistura dos padrões de amins do grupo II em concentração de 50mg L⁻¹ em metanol, Fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v), E= +1,00V, T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18. **a:** 2,5-dimetilanilina; **b:** 4-cloro-2-metilanilina; **c:** 1,4-diaminobenzeno; **d:** p-aminofenol; **e:** 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; **f:** N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; **g:** 2-metilbenzeno-1,4-diamina.



Fonte: Próprio autor

Figura 20: Cromatograma HPLC-DE a partir da injeção DE 20 µL da mistura dos padrões DE amins do grupo 2 em concentração DE 50mg L⁻¹ em metanol, E= +1,00V; Fase móvel: ACN/água + 30mM DE BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v); vazão: 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18.

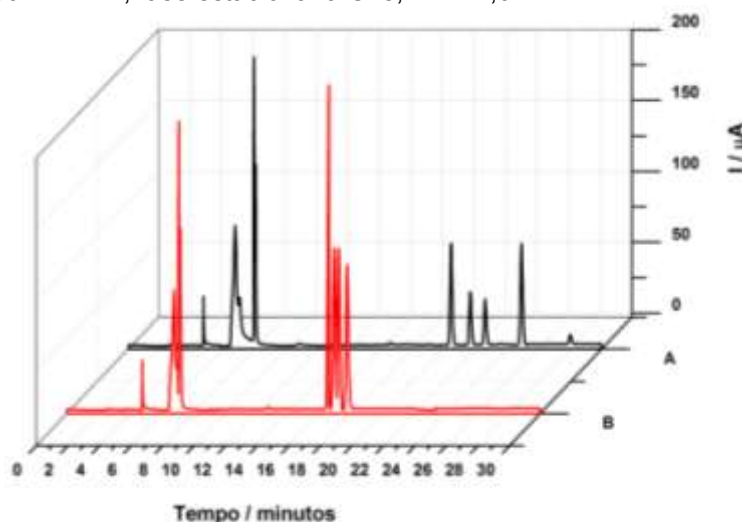
a: 2,5-dimetilanilina; **b:** 4-cloro-2-metilanilina; **e:** 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; **c:** 1,4-diaminobenzeno; **d:** p-aminofenol; **g:** 2-metilbenzeno-1,4-diamino; **f:** N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno.



Fonte: próprio autor.

Observa-se na detecção eletroquímica os mesmos problemas que ocorreram para a detecção de arranjos de diodos e que foram resolvidos após a adição de líquido iônico. Com o intuito de facilitar a comparação da sensibilidade quando emprega líquido iônico como aditivo a **Figura 21** ilustra esse efeito para a detecção eletroquímica.

Figura 21: Cromatogramas comparativos em 3D para o sistema HPLC-ED das aminas do grupo II na ausência de líquido iônico (curva B, vermelha) e na presença do líquido iônico BMIm[NTf₂] (curva A, preta) utilizando detecção eletroquímica. Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +1,0V.



Fonte: próprio autor

Analisando a Figura acima pode-se justificar o aumento da corrente quando usa-se líquido iônico como aditivo da fase móvel pelos mesmos motivos do sistema HPLC-DAD e em adição pelo fato de que os íons do líquido iônico presentes na fase móvel podem aumentar a velocidade de transferência de carga, sendo assim, há um aumento na corrente gerada pois facilita a oxidação das espécies. Neste caso observa-se um aumento de 15% na corrente gerada na presença do líquido iônico como aditivo.

4.3.3. Comparação entre a Análise de Aminas Aromáticas do Grupo 2 por HPLC-DAD e HPLC-ED

Na **Tabela 8** está representado o efeito do líquido iônico sobre a intensidade do sinal cromatográfico obtido para a detecção de aminas aromáticas por arranjos de diodos e detecção eletroquímica. Para a detecção de arranjos de diodos observa-se um aumento significativo na intensidade dos picos após a adição do líquido iônico, exceto para 2-metilbenzeno-1,4-diamina e N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno. Entretanto, para o detector eletroquímico a intensidade do sinal aumentou consideravelmente exceto para 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina, 1,4-diaminobenzeno, 2-metilbenzeno-1,4-diamina. Pode-se justificar essa diminuição na intensidade do sinal para alguns compostos após a adição do líquido devido a separação dos mesmos que antes da adição estavam coeluído, sendo assim no mesmo pico pode haver contribuição de mais de um composto.

Tabela 8: Intensidades para o sistema sem e com líquido iônico para os detectores de arranjos de diodos (DAD) e detector eletroquímico (DE) para as aminas aromáticas do grupo II.

Aminas	DAD		DE	
	Intensidade (mUA) sem LI	Intensidade (mUA) com LI	Intensidade (µA) sem LI	Intensidade (µA) com LI
2,5-dimetilanilina	8,0	19,3	38,2	80,0
4-cloro-2-metilanilina	20,8	50,0	102,5	202,4
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	22,5	31,3	112,5	34,5
1,4-diaminobenzeno	11,3	25,0	56,3	32,8
p-aminofenol	11,3	56,3	56,3	72,6
2-metilbenzeno-1,4-diamina	11,3	7,3	50,0	13,4
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	10,0	4,4	50,0	72,4

4.3.4. Curva Analítica para Aminas do Grupo 2 por HPLC-DAD e HPLC-ED

Utilizando as condições previamente otimizadas foi realizado estudo de recuperação para todas as aminas de interesse em água pelo método de adição de padrão.

Uma amostra de 250 mL de água potável foi contaminada com uma mistura das aminas aromáticas do grupo 2 em metanol na concentração de 25 mg L⁻¹. Uma alíquota de 20 µL dessa solução foi injetadas em HPLC-DAD e HPLC-ED utilizando adições de 25 mg L⁻¹ como solução padrão. Os resultados obtidos de recuperação das aminas estão apresentados na **Tabela 9**.

As recuperações das aminas em amostras fortificadas mostram que o método esta otimizado satisfatoriamente apresentando porcentagens de recuperação entre 95 e 105%.

As curvas analíticas foram construídas apresentando linearidade no intervalo de 1 a 250 mg L⁻¹ (vide anexo 1) com coeficiente de correlação com no mínimo 0,99. Pode-se observar que a inclinação da curva analítica da detecção eletroquímica é cerca de 3 vezes maior que a detecção de arranjos de diodos.

Em seguida foram construídas curvas analíticas (vide Anexo 1B e Anexo 1D) para cada amina aromática separadamente utilizando ambos os detectores. Os parâmetros analíticos obtidos a partir das curvas estão resumidos na **Tabela 9**.

Tabela 9: Parâmetros das curvas analíticas correspondentes aos cromatogramas HPLC-DAD e HPLC-ED para as aminas aromáticas do grupo II. Fase móvel: ACN/água 60:40 + 30mM DE BMIm-NTf₂ (v/v); T = 40°C; λ = 230nm ou E = +1,00V.

Aminas	DAD					DE				
	A	B	R	#	Rec.	A	B	R	#	Rec.
2,5-dimetilanilina	-156,0	3,15x10 ⁶	0,997	8,48	100	59,7	5,24x10 ⁶	0,999	6,30	100
4-cloro-2-metilanilina	69,9	2,78x10 ⁶	0,998	6,84	105	32,7	3,51x10 ⁶	0,999	4,21	105
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	182,5	3,85x10 ⁶	0,999	7,61	90	-68,1	2,47x10 ⁶	0,999	3,42	90
1,4-diaminobenzeno	192,8	1,99x10 ⁶	0,998	4,28	93	92,3	2,64x10 ⁶	0,998	2,78	93
p-aminofenol	-152,4	3,42x10 ⁶	0,999	8,32	98	-36,7	4,62x10 ⁶	0,999	5,08	98

2-metilbenzeno-1,4-diamina	46,8	5,52x10 ⁶	0,998	6,75	95	55,1	5,64x10 ⁶	0,999	4,67	95
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	148,7	2,04x10 ⁶	0,998	5,68	99	-81,6	6,47x10 ⁶	0,990	3,26	99

A: coeficiente linear; **B:** coeficiente angular; **#:** desvio do coeficiente linear; **R:** coeficiente de correlação; **Rec.:** % recuperação; **DAD:** detecção de arranjos de diodos; **DE:** detecção eletroquímica.

Os parâmetros correspondentes ao limites de detecção obtidos para determinação das aminas aromáticas do grupo II estão no intervalo de 3,67 a 8,35 mg L⁻¹ e o limite de quantificação estão na faixa de 12,2 a 27,7 mg L⁻¹ para a detecção de arranjos de diodos. Entretanto para a detecção eletroquímica os limites de detecção estão no intervalo de 1,51 a 3,61 mg L⁻¹ e os limites de quantificação estão na faixa de 5,03 a 13,8 mg L⁻¹. Pode-se observar que a inclinação da curva analítica da detecção eletroquímica é cerca de 3 vezes menor que a detecção de arranjos de diodos.

Os parâmetros cromatográficos correspondentes à assimetria dos picos variam de 0,82 a 1,32 na ausência de líquido iônico e de 0,90 a 1,10 com adição de líquido iônico para a detecção de arranjos de diodos. Entretanto para a detecção eletroquímica os valores variam de 0,85 a 1,36 sem líquido iônico na fase móvel e de 0,96 a 1,08 com líquido iônico na fase móvel. Os valores de assimetria na presença de líquido iônico à fase móvel ficam mais próximos à 1, o que mostra que os picos são mais simétricos.

Foram calculados os números de pratos teóricos na ausência e na presença de líquido iônico na fase móvel. Neste grupo todas as aminas tiveram seu tempo de eluição aumentado sendo assim os números de pratos teóricos aumentaram devido a pequena alteração observada na largura dos picos. Comparando os diferentes detectores observa-se que o detector eletroquímico apresenta numero de pratos teóricas maiores na ausência e na presença de líquido iônico na fase móvel que pode ser explicado pela menor largura dos picos.

Tabela 10: Parâmetros analíticos e cromatográficos das aminas aromáticas do grupo II calculados a partir da curva analítica para detecção de arranjos de diodos e eletroquímico. Fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v) + 30mM de BMIm-NTf₂; T = 40°C; λ = 230nm ou E = +1,00V.

Aminas	Tr 1	Tr 2	DAD						ED					
			L.D.	L.Q.	As		Np		L.D	L.Q.	As		Np	
					1	2	1	2			1	2	1	2
2,5-dimetilanilina	6,82	6,77	8,08	26,9	1,32	1,10	5421,8	5247,7	3,61	12,0	1,36	1,08	6924,2	7208,4
4-cloro-2-metilanilina	7,04	7,98	7,38	24,6	0,90	0,96	24524,5	28547,7	3,60	11,9	0,91	0,95	26287,0	29045,8
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	17,3	20,4	5,92	19,8	0,89	0,95	3845,7	4215,7	4,15	13,8	0,88	0,96	3770,7	4401,8
1,4-diaminobenzeno	16,6	21,7	6,45	21,5	0,86	0,96	44525,1	48257,7	3,15	10,5	0,89	0,98	40721,8	48217,0
p-aminofenol	16,9	22,6	7,30	24,3	0,85	0,98	32624,2	38625,7	3,30	10,9	0,87	0,99	35127,3	42658,4
2-metilbenzeno-1,4-diamina	17,8	25,1	3,67	12,2	0,82	0,90	25624,4	30258,8	2,48	8,28	0,85	0,96	36367,0	41287,1
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	17,8	28,0	8,35	27,7	0,88	0,95	64587,5	72587,8	1,51	5,03	0,92	0,98	36487,7	47658,8

Tr: 1: tempo de retenção em minutos sem LI; **Tr: 2:** tempo de retenção em minutos com LI; **L.D.:** limite de detecção (mg L⁻¹); **L.Q.:** limite de quantificação (mg L⁻¹); **As:** assimetria (1: sem LI; 2: com LI); **Np:** número de pratos teóricos (1: sem LI; 2: com LI); **DAD:** detecção de arranjos de diodos; **DE:** detecção eletroquímica

4.5. Aplicação do Método

Após otimização do método cromatográfico com detecção eletroquímica utilizando eletrodo de carbono vítreo testou-se a aplicação do método em análise de amostras de tinturas comerciais. Os resultados estão apresentados a seguir.

4.5.1. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Tinturas Comerciais de Cabelo por HPLC-ED

Utilizando-se as melhores condições experimentais definidas previamente para detecção de aminas aromáticas por HPLC-ED, foi analisado a seguir a ocorrência de aminas aromáticas como impureza em 13 amostras comerciais de tintura de cabelo. Os produtos comerciais (tonalizantes masculinos e tinturas femininas) foram analisados segundo procedimentos descritos na seção experimental após tratamento da amostra (extração líquido-líquido). Na **Figura 22** e **Figura 23** são apresentados cromatogramas típicos correspondentes a análise das aminas em tonalizante, segundo condições otimizadas para aminas aromáticas do grupo 1 e grupo 2, respectivamente.

Figura 22: Cromatograma obtido da injeção de 20µL de solução de tonalizante de cabelo comercial masculino preto da marca X em HPLC-DE para o grupo I. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E= + 1,00V; **a)** 4,4-diaminodifenilmetano; **b)** 2,4-diaminotoluidina; **c)** 4,4'-oxidianilina; **d)** 4-aminobifenila; **e)** anilina; **f)** 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina.

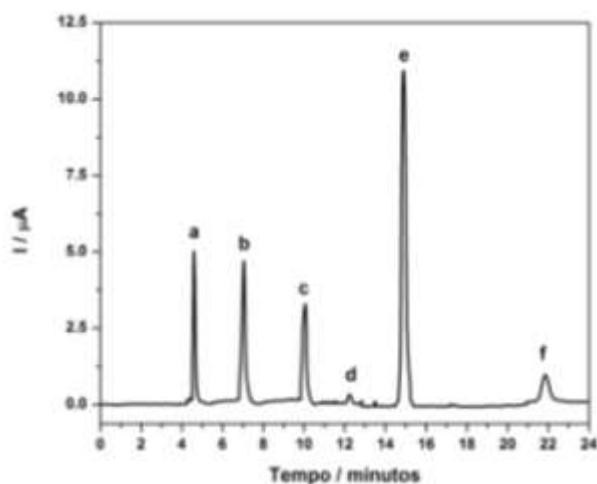
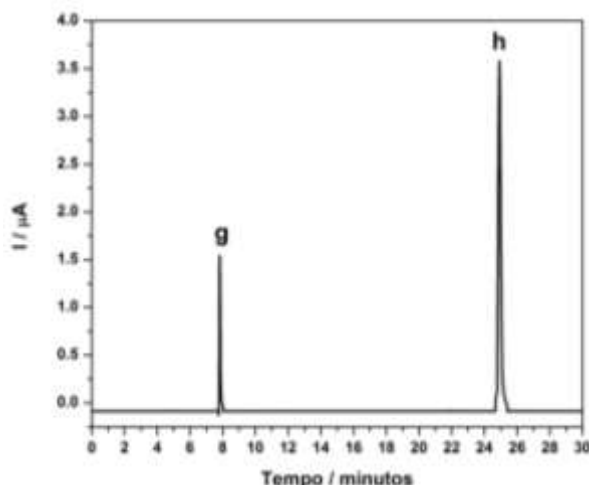


Figura 23: Cromatograma obtido após injeção de 20µL de solução de tonalizante de cabelo comercial masculino preto da Marca X em HPLC-ED para o grupo II. Fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), E= + 0,80V; **g**) 4-cloro-2-metilanilina; **h**) 2-metilbenzeno-1,4-diamina.



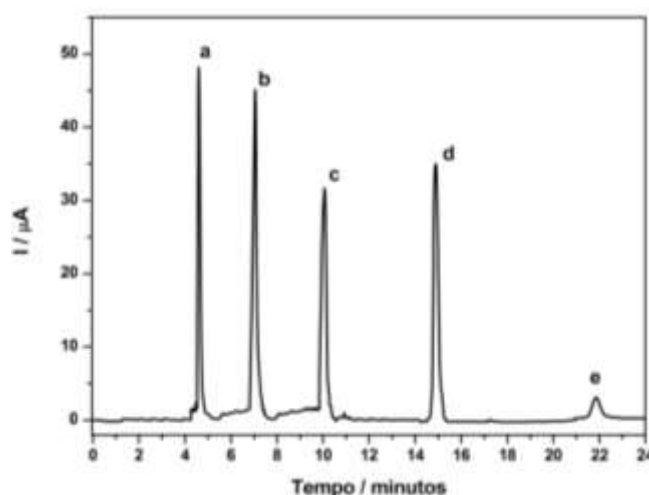
Como podemos observar pelo cromatograma da **Figura 22** e **Figura 23** foram detectados picos bem resolvidos identificados como: 4,4-diaminodifenilmetano ($5,21 \pm 1,24 \text{ mg L}^{-1}$), 2,4-diaminotoluidina ($4,32 \pm 1,55 \text{ mg L}^{-1}$), 4,4'-oxidianilina ($3,96 \pm 0,98 \text{ mg L}^{-1}$), 4-aminobifenila ($5,02 \pm 2,01 \text{ mg L}^{-1}$), anilina ($7,45 \pm 0,87 \text{ mg L}^{-1}$) e 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina ($2,45 \pm 1,22 \text{ mg L}^{-1}$) estas do grupo I e no grupo II: 4-cloro-2-metilanilina ($1,64 \pm 1,12 \text{ mg L}^{-1}$) e 2-metilbenzeno-1,4-diamina ($5,22 \pm 1,62 \text{ mg L}^{-1}$). Todas foram quantificados utilizando a equação da reta obtida para cada amina.

De acordo com a IARC a 4-aminobifenila é classificada como 1, ou seja, carcinogênica em humanos e foi detectada nesta amostra de tonalizantes masculino em concentração elevada de ($5,02 \pm 2,01 \text{ mg L}^{-1}$). Entretanto, as aminas 4,4-diaminodifenilmetano, 2,4-diaminotoluidina, 4,4'-oxidianilina são classificadas pela IARC como 2B (possível carcinogênico humano), ou seja, foram realizados testes em animais tendo resultado positivo. Levando em consideração a concentração das mesmas torna-se preocupante a presença delas nessa matriz. A 4-cloro-2-metilanilina é classificada como 2A (possível carcinogênico em animais), e apesar da baixa concentração encontrada para esta amina, apresenta riscos, pois a presença do cloro na molécula a torna potencialmente perigosa aos mamíferos, humanos e outros animais. A anilina, encontrada em concentração elevada ($7,45 \pm 0,87 \text{ mg L}^{-1}$), tem classificação 3, ou seja, não carcinogênica em humanos, porém sua bioacumulação em

tecido adiposo em maiores concentrações pode causar danos que até o momento são desconhecidos. As aminas 2-metilbenzeno-1,4-diamina e 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina não tem classificação pela IARC, devido a estudos não concluídos sobre as mesmas.

De maneira análoga ao tonalizante masculino de coloração preta da Marca X foi realizada a injeção do tonalizante masculino de coloração loira. Cromatogramas típicos obtidos nas condições otimizadas para aminas aromáticas do grupo 1, é apresentado na **Figura 24**.

Figura 24: Cromatograma obtido após injeção de 20µL de solução de tonalizante de cabelo comercial masculino loiro da marca Y em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E= + 0,80V; **a)** 4,4-diaminodifenilmetano; **b)** 2,4-diaminotoluidina; **c)** 4,4'-oxidianilina; **d)** anilina; **e)** 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina.



Como podemos observar na **Figura 24** foram detectados picos bem resolvidos identificados como: 4,4-diaminodifenilmetano ($4,88 \pm 1,24 \text{ mg L}^{-1}$), 2,4-diaminotoluidina ($4,44 \pm 1,55 \text{ mg L}^{-1}$), 4,4'-oxidianilina ($3,90 \pm 0,98 \text{ mg L}^{-1}$), anilina ($7,43 \pm 0,87 \text{ mg L}^{-1}$) e 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina ($2,89 \pm 1,22 \text{ mg L}^{-1}$) estas do grupo 1 e no grupo 2 não foram detectadas aminas. As aminas foram quantificados utilizando a equação da reta obtida para cada uma delas. Segundo a IARC a 4,4-diaminodifenilmetano, 2,4-diaminotoluidina, 4,4'-oxidianilina são classificadas pela IARC como 2B (possível carcinogênico humano), e como discutido anteriormente, torna-se preocupante a presença delas na matriz. Nesta amostra também foi detectada a anilina com concentração elevada ($7,43 \pm 0,87 \text{ mg L}^{-1}$). Embora essa amina tenha

classificação 3, ou seja, não carcinogênica em humanos, sua bioacumulação em tecido adiposo em maiores concentrações pode causar danos que até o momento são desconhecidos. A amina 4,4-metileno-bis-2-cloroanilina foi detectada na concentração de $(2,89 \pm 1,22) \text{ mg L}^{-1}$ porém não tem classificação pela IARC, devido a falta de estudos conclusivos sobre a mesma.

Analogamente para as tinturas femininas e para o tonalizante masculino da marca Y foram preparadas e injetadas utilizando as condições previamente otimizadas. O método foi aplicado na análise de aminas aromáticas em: Tonalizantes Masculino na coloração preto e loiro (marca Y); Tinturas femininas na coloração preto, loiro e vermelho das marcas X, Y e Z. Os resultados são apresentados na **Tabela 11** com suas respectivas concentrações DEtectadas nas amostras DE produtos comerciais.

Tabela 11: Aminas aromáticas encontradas nos produtos comerciais masculinos e femininos.

Tonalizantes e corantes			Aminas
Masc.	Marca X	Preto	4,4-diaminodifenilmetano (5,21 mg L ⁻¹); 2,4-diaminotoluidina (4,32 mg L ⁻¹); 4,4'-oxidianilina (3,96 mg L ⁻¹); 4-aminobifenila (5,02 mg L ⁻¹); anilina (7,45 mg L ⁻¹); 4-cloro-2-metilanilina (1,64 mg L ⁻¹); 2-metilbenzidina-1,4-diamina (5,22 mg L ⁻¹).
		Loiro	4,4-diaminodifenilmetano (4,88 mg L ⁻¹); 2,4-diaminotoluidina (4,44 mg L ⁻¹); 4,4'-oxidianilina (3,90 mg L ⁻¹); anilina (7,43 mg L ⁻¹); 4,4-metilenobis-2-cloroanilina (2,89 mg L ⁻¹).
	Marca Y	Preto	2-cloro-4-nitroanilina (3,54 mg L ⁻¹); 4,4'-oxidianilina (4,04 mg L ⁻¹); 2-metilanilina (2,03 mg L ⁻¹); PPD (4,12 mg L ⁻¹).
		Loiro	4-cloroanilina (2,85 mg L ⁻¹); 4-aminobifenila (3,32 mg L ⁻¹); 2-aminonaftaleno (1,98 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (4,23 mg L ⁻¹).
	Marca X	Preto	3,3'-dimetilbenzidina (4,56 mg L ⁻¹); 4-cloroanilina (5,32 mg L ⁻¹); 2,4-diaminotoluidina (6,12 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (4,87 mg L ⁻¹).
		Loiro	2-metoxi-5-metilanilina (3,69 mg L ⁻¹); 4-cloroanilina (5,12 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (6,34 mg L ⁻¹).
Fem.	Marca Y	Verm.	4,4'-oxidianilina (5,52 mg L ⁻¹); 2,6-dimetilanilina (4,09 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (6,02 mg L ⁻¹).
		Preto	3,3'-dimetilbenzidina (4,34 mg L ⁻¹); 2-metoxi-5-metilanilina (7,04 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (6,29 mg L ⁻¹).
		Loiro	4-cloroanilina (4,88 mg L ⁻¹); 2,4-diaminotoluidina (8,23 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (7,32 mg L ⁻¹).
	Marca Z	Verm.	3,3'-dimetilbenzidina (3,85 mg L ⁻¹); 4-cloro-2-metilanilina (7,87 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (3,76 mg L ⁻¹).
		Preto	2-metoxi-5-metilanilina (2,41 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (6,12 mg L ⁻¹).
		Loiro	2,4-diaminotoluidina (3,67 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (4,23 mg L ⁻¹).
		Verm.	4-cloroanilina (2,41 mg L ⁻¹); 1,4-diaminobenzidina (5,55 mg L ⁻¹).

Analisando a **Tabela 11** observa-se que em todas as amostras foram encontradas aminas aromáticas e algumas delas em altas concentrações. Para o tonalizante masculino da marca Y e coloração preta, foram detectadas as aminas: 2-cloro-4-nitroanilina (sem classificação IARC), 4,4'-oxidianilina (classificação 2B), 1,4-diaminobenzeno (Classificação 3) e 2-metilanilina (Classificação 2A). Neste produto os compostos não são carcinogênicos comprovados porém devido a sua bioacumulação nos tecidos adiposos de mamíferos (incluindo o homem) e outros animais pode causar danos irreversíveis futuramente. Entretanto, no tonalizante masculino da marca Y para coloração loira foram detectadas as seguintes aminas: 4-cloranilina (Classificação 2B), 4-aminobifenila (Classificação 1), 2-aminonaftaleno (Classificação 1), 1,4-diaminobenzidina (Classificação 3). Assim, foram detectados dois compostos que são considerados carcinogênicos em humanos o que é preocupante pois os mesmos podem ser absorvidos pela pele e bioacumular no tecido adiposo e futuramente causar danos, Os outros 2 compostos detectados apresentam menor toxicidade, porém deve-se ter cautela no consumo.

Para as tinturas comerciais observa-se a presença de muitas aminas. Para a coloração preta foi detectado em comum para as três marcas analisadas a amina 1,4-diaminobenzeno que tem classificação 3 pela IARC. Esse composto é um precursor de síntese muito utilizado em corantes permanentes, pois na presença de peróxido de hidrogênio e outros compostos sofre oxidação no próprio cabelo, formando compostos coloridos que ficam aderidos à fibra capilar. Entretanto, para as marcas X e Y (coloração preta), foi detectada em comum a amina: 3,3-dimetilbenzidina (classificação 2B) com concentrações bem próximas. Para a tintura da marca X (preta) foram ainda detectadas a 4-cloroanilina (classificação 2B) e a 2,4-diaminotoluidina (classificação 2B) em concentrações relativamente altas. No entanto para a marca Y foi detectado a 2-metoxi-5-metilanilina também com classificação 2B e concentração alta.

Para as tinturas de coloração loira de todas as marcas foi detectada a amina 1,4-diaminobezeno (classificação 3) sendo que esta apresentou concentrações bem maiores para as marcas X e Y comparativamente à marca Z. Foi detectada a amina 2,4-diaminotoluidina (classificação 2B) nas marcar Y

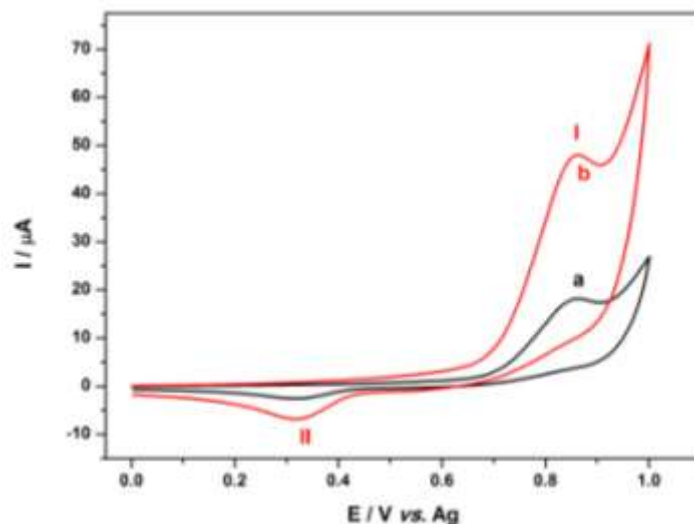
e Z sendo que na Y a concentração encontrada foi bem maior que para a marca Z e a amina 4-cloroanilina (classificação 2B) foram detectadas nas marcas X e Y em concentrações próximas para ambas as marcas. E a 2-metoxi-5-metilanilina, com classificação 2B, foi encontrada exclusivamente na marca X.

Finalmente para a coloração vermelha, de todas as marcas foi detectada a 1,4-diaminobenzeno (classificação 3) com maiores concentrações para as marcas X e Z. Para a marca X, foram ainda detectadas as aminas: 4,4'-oxidianilina (classificação 2B), 2,5-dimetilanilina (classificação 2B). Para a marca Y foram detectadas também 3,3'-dimetilbenzidina (classificação 2B) e 4-cloro-2-metilanilina (classificação 2A), esta última em alta concentração. Já para a marca Z foi detectada também a 4-cloroanilina (classificação 2B).

4.6. Oxidação Voltamétrica de Aminas Aromáticas sobre Eletrodo de Carbono Vítreo Modificado com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquido Iônico

A **Figura 25** ilustra os voltamogramas cíclicos obtidos para oxidação de 25 mL de solução contendo 50 mg L^{-1} de 2-metilanilina em metanol/BMIm-NTf₂ 30 mM sobre eletrodo de carbono vítreo sem modificação (**curva a, preta**) e com modificação por gel de nanotubos de carbono e LI (BMIm-NTf₂) (**curva b, vermelha**) preparados conforme descrito na seção experimental.

Figura 25: Voltamogramas cíclicos registrados para a oxidação de 50 mg L⁻¹ de 2-metilanilina sobre eletrodo de carbono vítreo sem modificação (**curva a, preta**) e após modificação com nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-NTf₂ (**curva b, vermelha**) em meio de metanol/BMIm-NTf₂ 30mM utilizando fio de Ag como referência. Velocidade de varredura (v) = 50 mV s⁻¹.



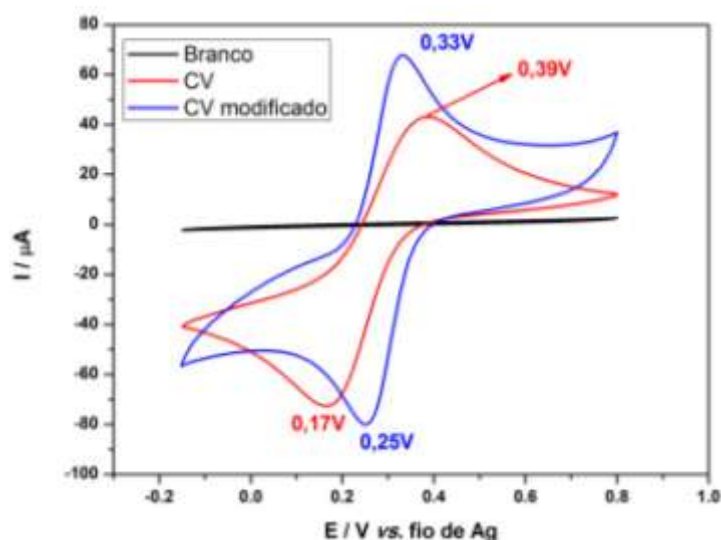
Fonte: próprio autor.

Os voltamogramas obtidos indicam que a oxidação da 2-metilanilina (o-toluidina) sobre eletrodo de carbono vítreo apresenta um pico ao redor de +0,86 V vs. Ag (**curva a, pico I - Figura 25**) na varredura anódica e um pequeno pico ao redor +0,32 V vs. Ag (**curva a, pico II - Figura 25**) na varredura reversa indicando que o processo não ocorre de forma reversível. A curva vermelha (**b**) mostra que a oxidação do composto sobre eletrodo modificado ocorre em potencial semelhante de + 0,86 V vs. Ag (**curva b, pico I - Figura 25**) e pico na varredura reversa em + 0,32 V vs. Ag (**curva b, pico II - Figura 25**). Porém a intensidade do pico é muito maior mostrando que sobre o eletrodo modificado a corrente é pelo menos 2 vezes maior que o carbono vítreo convencional. Este aumento de corrente pode ser atribuído ao aumento da área superficial ativa, pela geração com grupos carboxílicos e carbonílicos dos nanotubos de carbono e maior velocidade de transferência eletrônica nestes materiais, devido a melhor cinética de transferência de elétrons no eletrodo de nanotubos de carbono e líquido iônico por consequência da interação eletrostática do gel aniônico presente na superfície do eletrodo [25-27].

Devido ao uso de fio de Ag como pseudo referência no sistema foi estudado a seguir o comportamento voltamétrico do sistema Fc/Fc⁺ em meio

de metanol/líquido iônico visando checar a influência do fio de prata no sistema. Devido a comprovada reversibilidade o sistema Fc/Fc^+ é considerado um bom sistema padrão para corrigir o potencial de oxidação em relação a sistema de apenas dois eletrodos [14]. Deste modo, registrou-se voltamogramas cíclicos para 25 mL de solução contendo 50 mg L^{-1} de Fc/Fc^+ em metanol/BMIm-NTf₂ sobre eletrodo de carbono vítreo antes e após modificação, os quais estão mostrados na **Figura 26**.

Figura 26: Voltamograma cíclico da oxidação de Fc/Fc^+ sob eletrodo de carbono vítreo sem modificação (curva vermelha) e com modificação (curva azul) em meio de Metanol/BMIm-NTf₂ 30mM. Velocidade de varredura (v): 50 mV s^{-1} .



Fonte: próprio autor.

No sistema Fc/Fc^+ observa-se um par redox ao redor de + 0,39V (oxidação) e + 0,17V (redução) vs. Ag e uma relação de $I_{pa}/I_{pc} = 1$ na curva vermelha. A curva azul na **Figura 26** obtida para o eletrodo modificado observa-se um par redox ao redor de + 0,33V (oxidação) e + 0,25V (redução) vs. Ag e uma relação de $I_{pa}/I_{pc} = 1$, mostrando que o sistema é reversível para ambos os eletrodos. A curva b (azul) da **Figura 26** mostra que a modificação aumenta consideravelmente a corrente do sistema confirmando o efeito da modificação por nanotubos de carbono e líquido iônico conforme verificado para o sistema da 2-metilanilina descrito anteriormente.

Para as demais aminas aromáticas foram realizados estudos semelhantes e os resultados estão resumidos na **Tabela 12**. Os valores de

potencial de oxidação para o eletrodo modificado apresenta valores menos positivos, exceto para as seguintes aminas: 2,6-dimetilanilina, 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina, anilina, 4,4'-diaminobifenila, 2-metoxianilina, 1,4-diaminobenzidina, p-aminofenol e 2-metilbenzidina-1,4-diamina que não mostraram significativa alteração de potencial de pico. Em todos os voltamogramas observa-se uma corrente de pico marcadamente maior no eletrodo modificado indicando que o mesmo poderia ser uma excelente alternativa para melhorar a detectibilidade das aminas de interesse por HPLC-ED usando o eletrodo de carbono vítreo modificado como detector.

Tabela 12: Potências de oxidação e respectivas correntes anódicas para oxidação de aminas sobre eletrodo de carbono vítreo sem e com modificação com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-NTf₂ em meio metanol/BMIm-NTf₂ Antes e após correção do potencial em relação ao sistema Fc/Fc⁺.

Modificador do eletrodo	Sem modificação			nanotubos DE carbono/BMIm-NTf ₂		
E (V) / I (μA)	E (V) vs. Ag	I (μA)	E (V) vs. Fc/Fc ⁺	E (V) vs. Ag	I (μA)	E (V) vs. Fc/Fc ⁺
Aminas						
2,4-diaminotoluidina	+0,90	20,2	+0,51	+0,50	29,0	+0,17
2,6-dimetilanilina	+0,80	10,8	+0,41	+0,76	53,4	+0,43
2-cloro-4-nitroanilina	+0,78	18,6	+0,39	+0,64	64,8	+0,31
2-metoxi-5-metilanilina	+0,91	12,5	+0,52	+0,68	16,6	+0,35
2-aminonaftaleno	+0,80	16,5	+0,41	+0,70	34,5	+0,37
3,3'-dimetilbenzidina	+0,63	12,3	+0,24	+0,55	29,3	+0,22
4,4'-diaminobifenilmetano	+0,90	16,8	+0,51	+0,68	15,5	+0,35
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	+0,76	24,5	+0,37	+0,65	30,5	+0,32
4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina	+0,85	10,8	+0,46	+0,85	52,7	+0,52
4,4'-oxidianilina	+0,75	6,2	+0,36	+0,60	21,7	+0,27
4-aminobifenila	+0,80	9,1	+0,41	+0,70	38,8	+0,37
p-aminofenol	+0,70	21,8	+0,31	+0,64	41,7	+0,31
4-cloro-2-metilanilina	+0,85	25,8	+0,46	+0,64	52,7	+0,31
4-cloroanilina	+0,71	12,8	+0,32	+0,64	68,9	+0,31
Anilina	+0,65	10,3	+0,26	+0,68	37,7	+0,35
4,4'-diaminobifenila	+0,92	12,4	+0,53	+0,90	22,8	+0,57
N-monoacetil-1,4-	+0,95	10,7	+0,56	+0,62	14,2	+0,29

diaminobenzeno						
2-metoxianilina	+0,75	10,2	+0,36	+0,74	50,1	+0,41
3,3'-dimetoxibenzidina	+0,93	15,2	+0,54	+0,85	18,8	+0,52
2-metilanilina	+0,65	14,2	+0,33	+0,82	80,5	+0,29
1,4-diaminobenzeno	+0,61	4,80	+0,22	+0,62	52,5	+0,29
2-metilbenzeno-1,4-diamina	+0,70	4,98	+0,31	+0,64	13,9	+0,31
3,3'-diclorobenzidina	+0,79	11,4	+0,40	+0,75	16,7	+0,42

4.7. Determinação de Aminas Aromáticas por HPLC-ED com Eletrodo Modificado com Gel de Nanotubos de Carbono e Líquido Iônico

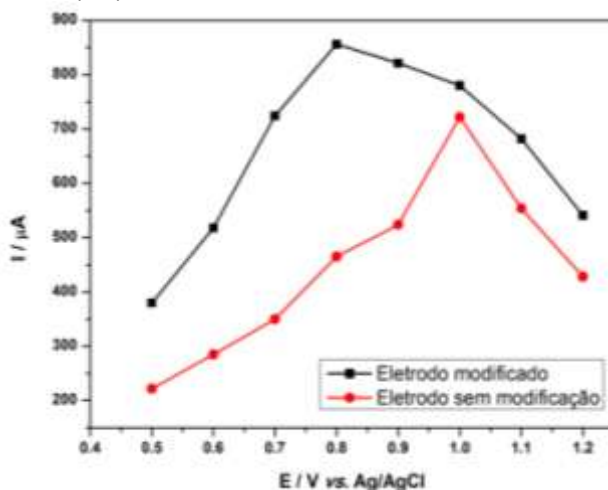
As aminas aromáticas encontram-se muitas vezes altamente diluídas em amostras ambientais e os níveis de detecção alcançados por HPLC-DAD e HPLC-ED não são suficientes para este fim. Deste modo, considerando a maior sensibilidade observada para a detecção voltamétrica destas aminas de interesse por eletrodos modificados com nanotubos de carbono + líquido iônico, investigou-se a seguir a modificação do eletrodo de trabalho usado como detector eletroquímico com nanotubos de carbono e líquido iônico para ampliar o limite de detecção e quantificação do método.

Após a modificação do eletrodo como descrito na seção experimental, foram realizadas as medidas cromatográficas para os dois grupos de aminas aromáticas usando condições otimizadas previamente.

4.7.1. Detecção das Aminas Aromáticas do Grupo 1 por HPLC-ED e Eletrodo Modificado

A detecção por HPLC-ED com o eletrodo modificado com nanotubos de carbono + Líquido iônico foi investigado a seguir na quantificação de aminas aromáticas do grupo 1, tomando-se como modelo a detecção da 2-metilanilina e sua resposta voltamétrica hidrodinâmica para o eletrodo com e sem modificação. Os resultados são apresentados na **Figura 27**.

Figura 27: Variação da corrente em função do potencial aplicado para oxidação de 50 mg L^{-1} de 2-metilanilina sobre eletrodo de carbono vítreo após modificação com gel de nanotubos decarbono e líquido iônico BMIm-BF₄; curva vermelha: sem modificação em meio de líquido iônico BMIm-NTf₂; curva preta: modificado em meio de metanol líquido iônico BMIm-NTf₂; fase móvel: Metanol/água 70:30 (v/v) + 30mM de BMIm-NTf₂; T = 40°C.



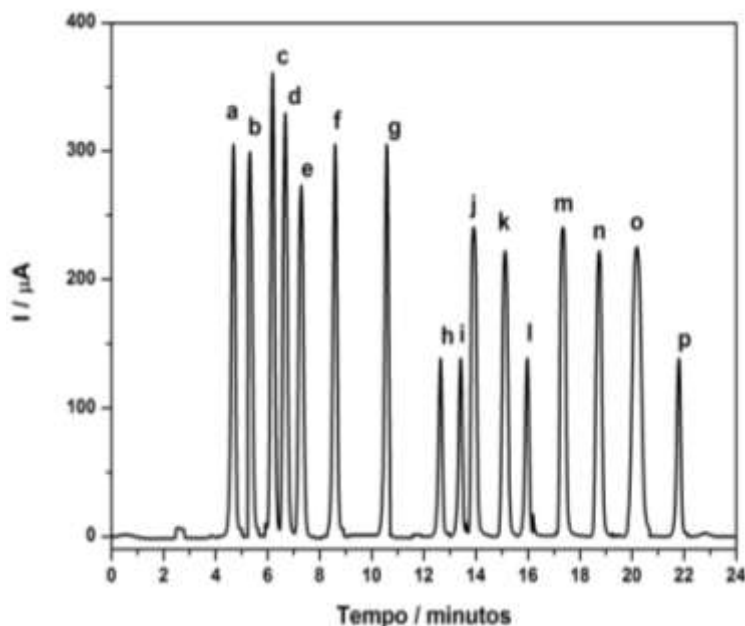
Fonte: próprio autor.

Foi estudado o intervalo de potencial entre + 0,5 a + 1,2 V e observa-se que a maior corrente ocorre em potencial de + 1,0 V no eletrodo sem modificação, enquanto que para o eletrodo modificado o potencial de maior corrente ocorre em potencial + 0,80 V. Considerando que em potencial menos positivo a presença de interferentes é menor na detecção escolheu-se + 0,80V para detecção das aminas.

As análises cromatográficas foram conduzidas utilizando as condições otimizadas para o eletrodo sem modificação que foram: vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, T = 40°C, fase móvel: MeOH/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E = +0,80V. A **Figura 28** ilustra um cromatograma HPLC-ED típico obtido com o eletrodo modificado por nanotubos de carbono e líquido iônico para as aminas aromáticas classificadas no grupo 1.

Figura 28: Cromatograma HPLC-ED obtido para a injeção de 20 μ L da solução padrão das aminas do grupo I, sob eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e BMIm-NTf₂. Fase móvel: MeOH/água + 30 mM DE BMIm-NTf₂, vazão: 0,80 mL min⁻¹. E = +0,80V.

a: 4,4'-diaminodifenilmetano; **b:** 3,3'-dimetilbenzidina; **c:** 2-metoxi-5-metilnilina; **d:** 4-cloroanilina; **e:** 2,4-diaminotoluidina; **f:** 2-cloro-4-nitroanilina; **g:** 4,4-oxidianilina; **h:** 4-aminobifenila; **i:** 3,3'-diclorobenzidina; **j:** 4,4'-diaminobifenila; **k:** anilina; **l:** 3,3'-dimetoxibenzidina; **m:** 2-metoxianilina; **n:** 2-metilnilina; **o:** 2-aminonaftaleno; **p:** 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina.

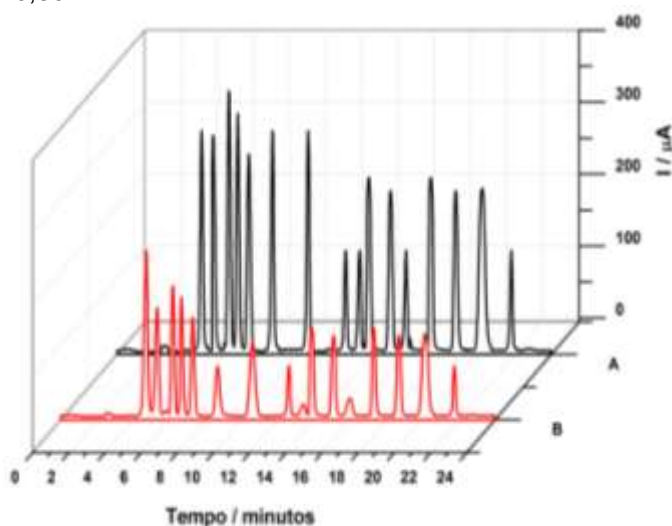


Observa-se na **Figura 28** que os picos estão bem resolvidos, simétricos e as aminas aromáticas são eluídas na seguinte ordem: 4,4'-diaminodifenilmetano (t_r = 4,70 min.); 3,3'-dimetilbenzidina (t_r = 5,32 min.); 2-metoxi-5-metilnilina (t_r = 6,16 min.); 4-cloroanilina (t_r = 6,69 min.); 2,4-diaminotoluidina (t_r = 7,26 min.); 2-cloro-4-nitroanilina (t_r = 8,62 min.); 4,4-oxidianilina (t_r = 10,61 min.); 4-aminobifenila (t_r = 12,61 min.); 3,3'-diclorobenzidina (t_r = 13,38 min.); 4,4'-diaminobifenila (t_r = 13,86 min.); anilina (t_r = 15,09 min.); 3,3'-dimetoxibenzidina (t_r = 15,98 min.); 2-metoxianilina (t_r = 17,30 min.); 2-metilnilina (t_r = 18,70 min.); 2-aminonaftaleno (t_r = 20,16 min.); 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina (t_r = 21,75 min.). Verifica-se que com o eletrodo modificado a corrente gerada no sistema é maior do que a corrente gerada quando na presença de eletrodo sem modificação. A **Figura 29** compara um cromatograma em 3D com as respectivas correntes geradas com eletrodo modificado e eletrodo sem modificação.

O acentuado aumento na detecção pode ser atribuído provavelmente às características do ânion [NTf₂]⁻, que apresenta maior interação com as aminas

protonadas ($\text{pH}_{\text{solução}} \sim 7,0$) diminuindo assim sua retenção na fase estacionária. Em adição também diminui a interação com os grupos silanóis na coluna melhorando a resolução final dos cromatogramas. Além disso, a estrutura molecular desse ânion possibilita a ressonância que pode ocorrer entre os elétrons livres dos átomos de flúor, oxigênio e nitrogênio presentes na sua cadeia, fazendo com que o sistema apresente uma grande estabilidade do ânion.

Figura 29: Cromatograma comparativo em 3D das aminas do grupo 1 sem modificação (curva B, vermelha) e com modificação (curva A, preta) utilizando detecção eletroquímica. Fase móvel: MeOH/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +0,80V.



A partir das condições otimizadas foram construídas as curvas analíticas no intervalo de concentração de 0,5 a 250 mg L⁻¹ para todas as aminas aromáticas classificadas no grupo 1. Os resultados obtidos são mostrados na **Tabela 12**.

Tabela 13: Parâmetros das curvas analíticas das aminas aromáticas classificadas no grupo 1 para HPLC-ED, utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado. Fase móvel: MeOH/água 70:30 + 30mM de BMIm-NTf₂ (v/v); T = 40°C; E = +0,80V.

Aminas	A	B	R	#	Rec.
2,4-diaminotoluidina	150,89	6,28x10 ⁶	0,999	3,60	100
4,4'-oxidianilina	817,20	8,84x10 ⁶	0,998	2,56	98
4,4'-diaminobifenila	115,47	6,70x10 ⁶	0,999	1,13	97
Anilina	828,6	4,15x10 ⁶	0,999	2,48	99
3,3'-dimetoxibenzidina	187,5	2,85x10 ⁶	0,999	2,78	100
2-metoxianilina	-505,9	3,06x10 ⁶	0,998	1,03	103

2-metilanilina	637,3	6,62x10 ⁶	0,998	2,14	100
2-aminonaftaleno	578,2	5,71x10 ⁶	0,998	4,87	103
4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina	494,8	8,18x10 ⁶	0,998	2,58	100
4,4'-diaminodifenilmetano	254,5	6,95x10 ⁶	0,997	3,20	99
3,3'-dimetilbenzidina	-412,6	9,52x10 ⁶	0,997	2,52	95
2-metoxi-5-metilanilina	207,2	8,64x10 ⁶	0,999	2,51	100
4-cloroanilina	-308,0	6,87x10 ⁶	0,997	2,62	105
2-cloro-4-nitroanilina	-642,4	9,29x10 ⁶	0,999	2,88	98
4-aminobifenila	754,3	6,51x10 ⁶	0,999	1,98	97
3,3'-diclorobenzidina	-369,4	5,56x10 ⁶	0,997	2,54	96

A: coeficiente linear; B: coeficiente angular; #: desvio padrão do coeficiente linear A; R: coeficiente de correlação; Rec.: % recuperação.

Observa-se uma relação linear em todo o intervalo de concentração de 0,5 a 250 mg L⁻¹. As curvas analíticas estão no Anexo 1E apresentando coeficiente de correlação de no mínimo de 0,990.

A seguir os limites de detecção e quantificação foram estimados segundo tratamento estatístico e os resultados são apresentados na **Tabela 14**. Os resultados obtidos mostram que a detecção eletroquímica com eletrodo modificado apresenta menor limite de quantificação que o detector eletroquímico sem modificação sendo que o limite de quantificação para a maioria dos 16 compostos do grupo 1 apresentou valores menores, exceto para 4,4'-oxidianilina e 3,3'-dimetoxibenzidina.

Ainda na **Tabela 14** estão apresentados os valores correspondentes ao número de pratos teóricos na presença e na ausência do líquido iônico e a assimetria dos picos. Os valores de assimetria dos picos quando foi usado líquido iônico na fase móvel apresenta valores mais próximos a 1, ou seja, os picos cromatográficos neste caso não apresentam encaudamento. O número de pratos teóricos com ácido fórmico (eletrólito) ou BMIm[NTf₂] à fase móvel apresentam valores bem próximos, mostrando que não houve aumento ou diminuição da largura dos picos, pois o tempo DE retenção permaneceu o mesmo.

Os valores de recuperação obtidos para este estudo, no qual foi adicionado alíquotas em 250 mL água potável a mistura das aminas aromáticas do grupo I na concentração de 25 mg L⁻¹, encontram-se entre 96 e 105%, sendo esses valores aceitos devido a complexidade da matriz.

Tabela 14: Parâmetros analíticos obtidos por HPLC-ED das aminas aromáticas do grupo 1 calculados a partir da curva analítica. Fase móvel: Metanol/água + 30 mM DE BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v); T = 40°C; E = +0,80V.

Aminas	L.D.	L.D.	L.Q.	L.Q.	As		Np	
	DE	Mod	DE	Mod	1	2	1	2
2,4-diaminotoluidina	6,04	1,72	20,1	5,73	0,85	0,92	8547,4	8580,7
4,4'-oxidianilina	1,38	0,87	4,59	2,89	0,84	0,90	6715,8	6702,1
4,4'-diaminobifenila	1,99	0,72	6,64	2,40	0,87	0,96	4381,1	4382,8
Anilina	1,59	1,79	5,32	5,97	1,09	1,02	4187,7	4218,0
3,3'-dimetoxibenzidina	3,09	2,93	10,3	9,75	0,80	0,94	6925,4	6898,4
2-metoxianilina	2,24	1,00	7,48	3,37	0,90	0,93	7264,1	7229,7
2-metilanilina	1,79	0,97	5,97	3,23	0,86	0,91	65847,1	65801,3
2-aminonaftaleno	3,08	2,56	10,2	8,53	0,88	0,92	2685,5	2729,3
4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina	2,01	0,95	6,71	3,15	0,81	0,97	38254,6	38318,8
4,4'-diamino difenilmetano	1,33	1,38	4,44	4,60	0,89	0,94	5478,2	5524,3
3,3'-dimetilbenzidina	3,01	0,79	10,0	2,65	0,88	0,99	16485,2	16490,8
2-metoxi-5-metilanilina	2,82	0,87	9,42	2,90	0,89	0,95	3248,5	3250,3
4-cloroanilina	2,94	1,14	9,81	3,81	0,86	0,94	3412,9	3432,9
2-cloro-4-nitroanilina	5,86	0,93	19,5	4,42	0,88	0,92	9265,4	9270,5
4-aminobifenila	3,00	0,91	10,0	3,04	0,80	0,94	45070,4	45107,1
3,3'-diclorobenzidina	2,09	1,37	6,98	4,57	0,82	0,92	4298,1	4290,5

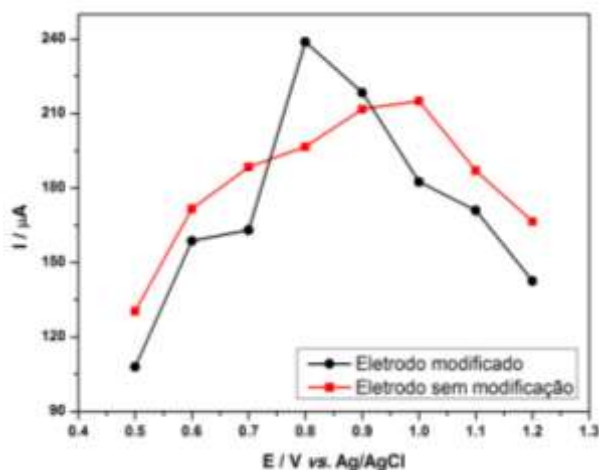
L.D. ED: limite de detecção sem modificação (mg L⁻¹); **L.D. Mod:** limite de detecção com modificação (mg L⁻¹); **L.Q. ED:** limite de quantificação sem modificação (mg L⁻¹); **L.Q. Mod.:** limite de quantificação com modificação (mg L⁻¹); **As:** assimetria (1: com ácido fórmico; 2: com líquido iônico); **Np:** número de pratos teóricos (1: com ácido fórmico; 2: com líquido iônico).

4.7.2. Detecção das Aminas Aromáticas do Grupo 2 por HPLC-ED e Eletrodo Modificado

Para otimizar a detecção HPLC-ED das aminas aromáticas do grupo II (2,6-dimetilanilina; 4-cloro-2-metilanilina; 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; 1,4-diaminobenzeno; p-aminofenol; 2-metilbenzeno-1,4-diamina; N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno), usando eletrodo modificado com nanotubos de carbono + Líquido iônico investigou-se a seguir o efeito do potencial entre + 0,5 a + 1,2 V sobre a resposta cromatográfica. Os resultados são apresentados na **Figura**

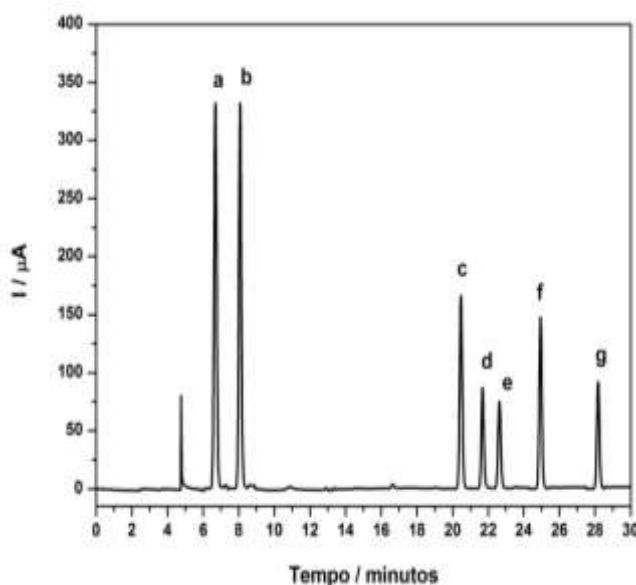
30. A resposta é relativamente maior no eletrodo modificado com melhor detecção em potencial de + 0,80V.

Figura 30: Variação da corrente em função do potencial aplicado para oxidação de 50 mg L⁻¹ de 2,5-dimetilanilina sobre eletrodo de carbono vítreo após modificação com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico BMIm-BF₄; Curva vermelha: sem modificação em meio de líquido iônico BMIm-NTf₂; Curva preta: modificado em meio de metanol líquido iônico BMIm-NTf₂; fase móvel: ACN/água 60:40 (v/v) + 30mM DE BMIm-NTf₂; T = 40°C, E= +0,80V.



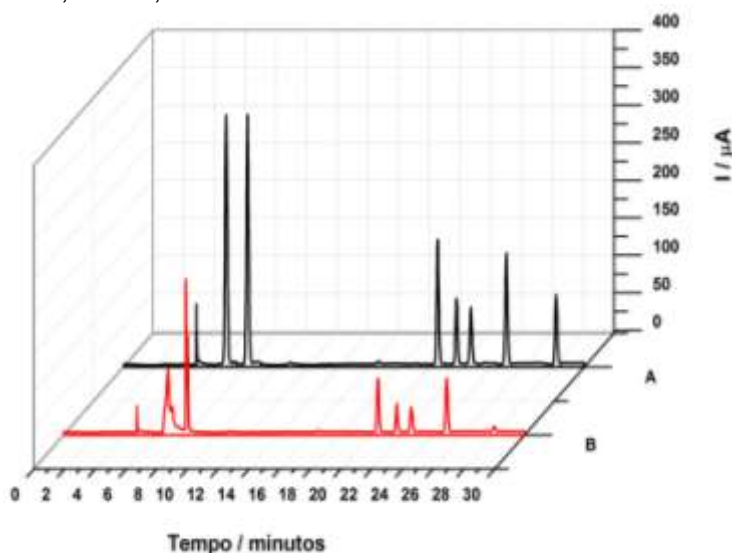
Assim utilizando-se as condições otimizadas de vazão de 0,8 mL min⁻¹, T = 40°C, fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v) e potencial de detecção de E = + 0,80V, foram registrados cromatogramas HPLC-ED para as aminas classificadas no grupo 2 e o resultado está ilustrado na **Figura 31**.

Figura 31: Cromatograma HPLC-ED obtido para a injeção de 20 μ L da solução padrão das aminas do grupo II. Fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v). a: 2,6-dimetilanilina; b: 4-cloro-2-metilanilina; c: 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; d: 1,4-diaminobenzeno; e: p-aminofenol; f: 2-metilbenzeno-1,4-diamina; g: N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno. Vazão: 0,80 mL min⁻¹; E = +0,80V.



Observa-se na **Figura 31** que é possível detectar picos bem resolvidos e simétricos para as aminas aromáticas nos seguintes tempos de retenção: 2,6-dimetilanilina (t_r = 6,77 min.); 4-cloro-2-metilanilina (t_r = 7,94 min.); 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina (t_r = 20,44 min.); 1,4-diaminobenzeno (t_r = 21,70 min.); p-aminofenol (t_r = 22,63 min.); 2-metilbenzeno-1,4-diamina (t_r = 25,10 min.); N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno (t_r = 28,03 min.). Verifica-se que com eletrodo modificado a corrente gerada no sistema é em média 42% maior que a corrente gerada para eletrodo sem modificação.

Figura 32: Cromatograma comparativo em 3D das aminas do grupo II sem modificação (curva B, vermelha) e com modificação (curva A, preta) utilizando detecção eletroquímica. Fase móvel: ACN/água + 30 mmol L⁻¹ de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +0,80V.



Como discutido previamente também observa-se interação eletrostática entre as aminas protonadas do grupo II com o eletrodo modificado, melhora da área superficial e há interações com os grupos silanóis da fase estacionária.

4.5.3. Curva Analítica para Aminas do Grupo 2

Em seguida, com as condições cromatográficas otimizadas, construiu-se uma curva analítica para as aminas de interesse, no intervalo de 0,5 a 250 mg L⁻¹. A curva analítica esta representada no Anexo 1F e na **Tabela 15** estão os resultados obtidos.

Tabela 15: Parâmetros da curva analítica para as aminas aromáticas do grupo 2 para HPLC-ED. Fase móvel: ACN/água 60:40 + 30mM de BMIm-NTf₂ (v/v); T = 40°C; E = +0,80V.

Aminas	A	B	N	R	DEs. A	Rec.
2,6-dimetilanilina	258,4	3,42x10 ⁶	8	0,999	2,25	100
4-cloro-2-metilanilina	245,5	3,58x10 ⁶	8	0,999	3,08	105
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	-957,9	4,21x10 ⁶	8	0,999	1,24	90
1,4-diaminobenzeno	287,1	6,24x10 ⁶	8	0,998	3,41	93
p-aminofenol	-632,6	6,28x10 ⁶	8	0,999	1,85	98
2-metilbenzeno-1,4-diamina	465,5	6,58x10 ⁶	8	0,999	1,68	95
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	-633,1	7,54x10 ⁶	8	0,990	2,20	99

A: coeficiente linear; **B:** coeficiente angular; **DEs. A:** DEsvio padrão; **N:** número DE mDEidas; **R:** coeficiente DE correlação; **Rec.:** % recuperação.

Observa-se uma relação linear em todo o intervalo de concentração das aminas entre 0,5 a 250 mg L⁻¹ (Vide Anexo). As curvas apresentaram coeficiente de correlação no mínimo de 0,990.

A seguir os limites de detecção e quantificação foram estimados segundo tratamento estatístico e os resultados são apresentados na **Tabela 16**. Os resultados obtidos mostram que a detecção eletroquímica com eletrodo modificado (LQ_{MOD}) apresenta valores entre 2,55 e 8,60 mg L⁻¹, os quais são menores que o limite de quantificação para o DETector eletroquímico como eletrodo de trabalho (LQ_{DE}).

Ainda nesta tabela estão apresentados os valores correspondentes ao número de pratos teóricos na presença e na ausência do líquido iônico e a assimetria dos picos. Os valores de assimetria dos picos quando foi usado líquido iônico na fase móvel apresenta valores mais próximos a 1, ou seja, os picos cromatográficos neste caso não apresentam encaudamento. O número de pratos teóricos para a maioria das aminas aromáticas são menores quando líquido iônico é utilizado como aditivo da fase móvel, esse fato pode ser explicado devido ao menor tempo de retenção dos analitos além da menor largura do pico a meia altura.

Os valores de recuperação obtidos após estudo no qual foi adicionado em água potável a mistura das aminas aromáticas do grupo II na concentração de 50 mg L⁻¹, encontram-se entre 93 e 105%, sendo esses valores aceitos devido a complexidade da matriz.

Tabela 16: Parâmetros analíticos das aminas aromáticas do grupo II calculados a partir da curva analítica. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), T = 40°C, Vazão = 0,80 mL min⁻¹; fase estacionária C18, E = +0,80V.

Aminas	L.D.	L.D.	L.Q.	L.Q.	As		Np	
	DE	MOD	DE	MOD	1	2	1	2
2,5-dimetilanilina	3,61	1,97	12,0	6,58	1,32	1,08	5423,1	5287,7
4-cloro-2-metilanilina	3,60	2,58	11,9	8,60	0,91	0,95	2515,3	2398,1
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	4,15	0,88	13,8	2,95	0,89	0,96	3854,4	3975,3
1,4-diaminobenzeno	3,15	1,64	10,5	5,46	0,90	0,98	5289,1	5195,7
p-aminofenol	3,30	0,88	10,9	2,95	0,88	0,99	9825,4	9887,1
2-metilbenzeno-1,4-diamina	2,48	0,77	8,28	2,55	0,86	0,96	2964,2	2884,3
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	1,51	0,88	5,03	2,92	0,92	0,97	4132,7	4189,7

L.D. ED: limite de detecção sem modificação (mg L^{-1}); **L.D. Mod:** limite de detecção com modificação (mg L^{-1}); **L.Q. ED:** limite de quantificação sem modificação (mg L^{-1}); **L.Q. Mod.:** limite de quantificação com modificação (mg L^{-1}); **As:** assimetria (1: com ácido fórmico; 2: com LI); **Np:** número de pratos teóricos (1: com ácido fórmico; 2: com LI).

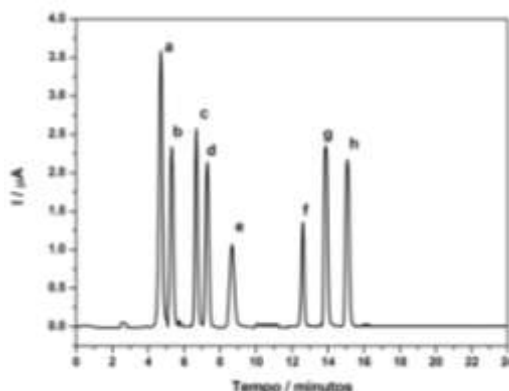
4.8. Aplicação do método nas análises das amostras reais.

Após a otimização do método cromatográfico com detecção eletroquímica utilizando eletrodo de trabalho modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico foram realizadas as análises das amostras reais. Os resultados estão apresentados a seguir.

4.8.1. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Água Natural usando HPLC-ED com Eletrodo Modificado

O método de HPLC-ED com eletrodo modificado por nanotubos de carbono e líquido iônico foi aplicado a seguir para análise de aminas aromáticas em água coletada no Rio Tietê, na cidade de Tietê antes e após estação de tratamento de esgoto (ETE), segundo fluxograma apresentado no **Esquema 1**. A **Figura 33** mostra o cromatograma obtido para a injeção de 20 μL para a amostra de água coletada no Rio Tietê antes da Estação de tratamento de Esgoto (1) para o grupo 1.

Figura 33: Cromatograma obtido da injeção de 20µL da amostra de água do rio Tietê na cidade de Tietê antes do descarte da Estação de tratamento de Esgoto em HPLC-ED com eletrodo modificado para o grupo I. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E= + 0,80V; **a)** 4,4'-diaminodifenilmetano; **b)** 3,3'-dimetilbenzidina; **c)** 4-cloroanilina; **d)** 2,4-diaminotoluidina; **e)** 2-cloro-4-nitroanilina; **f)** 4-aminobifenila; **g)** 4,4'-diaminobifenila; **h)** anilina.



A **Figura 33** apresenta um cromatograma HPLC-ED típico obtido usando MeOH/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v) sob eletrodo modificado com nanotubos sob potencial de +0,80V.

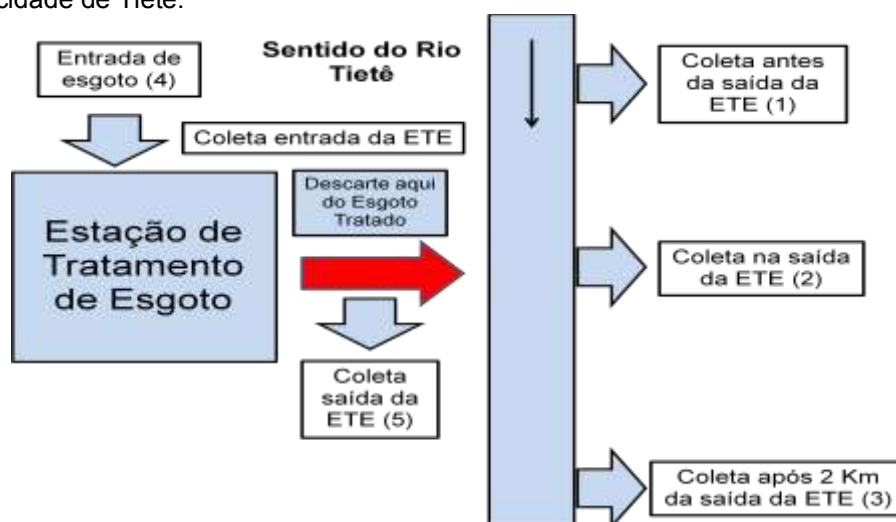
O cromatograma apresenta 10 picos bem definidos, que foram quantificados utilizando a equação da reta e atribuídos à: 4,4'-diaminodifenilmetano (4,70 minutos), 3,3'-dimetilbenzidina (5,32 minutos), 4-cloroanilina (6,69 minutos), 2,4-diaminotoluidina (7,26 minutos), 2-cloro-4-nitroanilina (8,62 minutos), 4-aminobifenila (12,61 minutos), 4,4'-diaminobifenila (13,86 minutos) e anilina (15,09 minutos) estas do grupo 1. Para o grupo 2 sob as condições de detecção do grupo II não foram detectadas nenhuma amina.

As amina detectadas na água coletada no Rio Tietê antes do descarte da estação de tratamento apresentam em sua maioria classificação 2B (3,3'-dimetilbenzidina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 2,4-diaminotoluidina e 4-cloroanilina) que são consideradas pela IARC possível carcinogênico em humanos, ou seja, apresentaram toxicidade em animais, sendo assim pode causar algum dano aos mamíferos. A 2-cloro-4-nitroanilina não apresenta classificação pela IARC. Entretanto, 4-aminobifenila e 4,4'-diaminobifenila são classificadas no grupo 1, ou seja, carcinogênicas em humanos foram detectadas na amostra de água. Foi encontrada também anilina que é classificada no grupo 3, não carcinogênica.

De maneira análoga, foram ainda analisadas as amostras de água coletadas nos seguintes pontos: Água Rio Tietê na saída da Estação de

Tratamento de Esgoto (ETE) (2), Água Rio Tietê depois de 2 Km da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) (3), Esgoto sem tratamento da cidade de Tietê (4) e Esgoto Tratado da cidade de Tietê (5), Água Rio Araraquara, Água Potável da cidade de Araraquara, Esgoto sem Tratamento de Araraquara, Esgoto Tratado da cidade de Araraquara. Essas amostras foram coletadas em garrafas de plástico PET, conforme fluxograma do **Esquema 1** e guardadas em isopor com gelo para conservar a temperatura. Após a chegada no laboratório as mesmas foram acidificadas com ácido acético e em seguida filtradas primeiramente com filtro de papel e filtro de membrana PTFE. Posteriormente foram concentradas em cartucho Phenomenex StrataX-CW (500 mg de base polimérica para compostos básicos), onde 500 mL de água foram eluídas no cartucho e após serem concentradas, foram ressuspensas em 1mL de metanol e 20µL foram injetadas em HPLC-ED usando fase móvel metanol/água 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) sob E= +0,80V.

Esquema 1: Fluxograma representativo dos pontos de coleta de amostras de água do Rio Tietê na cidade de Tietê.



A **Tabela 17** apresenta os resultados obtidos para cada amina detectada nas amostras de água analisadas. Os resultados obtidos indicam que as aminas detectadas na Água do Rio na saída da Estação de Tratamento de Esgoto foram as mesmas que as detectadas nas amostras antes da saída da ETE porém em menores concentrações das mesmas, mostrando que o tratamento não é eficiente para total remoção destas aminas. O mesmo

fenômeno acontece na amostra coletada após 2 Km da saída da ETE, as aminas encontradas foram as mesmas, porém em menores concentrações que nos dois casos anteriores, isto indica que a fonte de poluição destas águas pode ser a mesma e que a distância e o volume de água esta apenas diluindo a amostra. A maioria das aminas presentes nestas amostras pertencem ao grupo 2B (possível carcinogênico), entretanto a 4-aminobifenila e 4,4'-diaminobifenila são consideradas carcinogênicas em humanos e somente a anilina que é classificado no grupo 3 que é considerada não carcinogênica.

Na água coletadas no Rio da cidade de Araraquara foi detectada a presença das seguintes aminas: 2,4-diaminotoluidina (classificação 2B) e anilina (classificação 3). Estas aminas aparentemente tem pequeno impacto nos mamíferos porém devido a possibilidade de bioacumulação pode causar danos irreparáveis ao DNA, causando câncer.

Entretanto no esgoto sem tratamento da cidade d Araraquara foram detectadas um grande número de compostos sendo que a maioria deles pertencem ao grupo 2B da IARC (2-metoxi-5-metilanilina, 4,4'-oxidianilina, 4-cloroanilina, 3,3'-diclorobenzidina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 2-metoxianilina), além da anilina (grupo 3) e 2-metilanilina (grupo 2A). Em adição para a amostra de esgoto sem tratamento da cidade de Tietê foi detectado apenas a 2-metilanilina que é classificada no grupo 2A pela IARC.

Tabela 17: Aminas aromáticas encontradas nas amostras de água coletadas no rio e em estação de tratamento de esgoto e torneira.

Aminas	Antes da ETE	Saída da ETE	Após 2 Km da ETE	Local Coleta
4,4-diaminodifenilmetano	4,72	4,22	3,80	Água de Rio
3,3'-dimetilbenzidina	4,21	3,90	3,70	
4-cloroanilina	4,80	3,90	3,40	
2,4-diaminotoluidina	4,05	4,00	3,80	
2-cloro-4-nitroanilina	6,42	6,10	5,87	
4-aminobifenila	3,52	3,02	2,75	
4,4'-diaminobifenila	4,21	3,89	3,42	
Anilina	4,50	4,10	3,98	
2,4-diaminotoluidina		5,20		Água de Rio de Araraquara
Anilina		4,87		
2-metoxi-5-metilanilina		6,42		Esgoto sem tratamento de Araraquara
4,4'-oxidianilina		4,12		
4-cloroanilina		3,88		
3,3'-diclorobenzidina		6,48		
Anilina		3,57		
3,3'-dimetoxibenzidina		4,28		
2-metoxianilina		4,21		
2-metilanilina		4,35		
2-metilanilina		3,94		Esgoto sem tratamento da cidade de Tietê
Não foram detectadas aminas				Água Potável da cidade de Araraquara
Não foram detectadas aminas				Esgoto Tratado Tietê
Não foram detectadas aminas				Esgoto Tratado Araraquara

* concentração detectada antes da ETE/na saída da ETE/após 2km da ETE.

4.6.3. Análise de Aminas Aromáticas em Amostras de Água de Lavagem de cabelo usando HPLC-ED com Eletrodo Modificado

O método de HPLC-ED com eletrodo modificado por nanotubos de carbono e líquido iônico foi também aplicado para análise de aminas aromáticas em águas de lavagem coletas em salão de beleza após o tempo de espera após aplicação da tintura no cabelo, utilizando-se métodos descritos previamente e otimizados previamente. A **Figura 34** e **Figura 35** abaixo mostram os cromatogramas típicos das amostras de água de lavagem da tinta

da marca X para coloração preta para o grupo 1 e para o grupo 2, respectivamente, coletadas no salão de beleza.

Figura 34: Cromatograma obtido da injeção de 20 μ L da amostra de água de lavagem da marca X, coloração preta em HPLC-ED com eletrodo modificado para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ 70:30 (v/v), E= + 1,00V; **a)** 2,4-diaminotoluidina; **b)** 4,4'-oxidianilina; **c)** 4-aminobifenila; **d)** anilina.

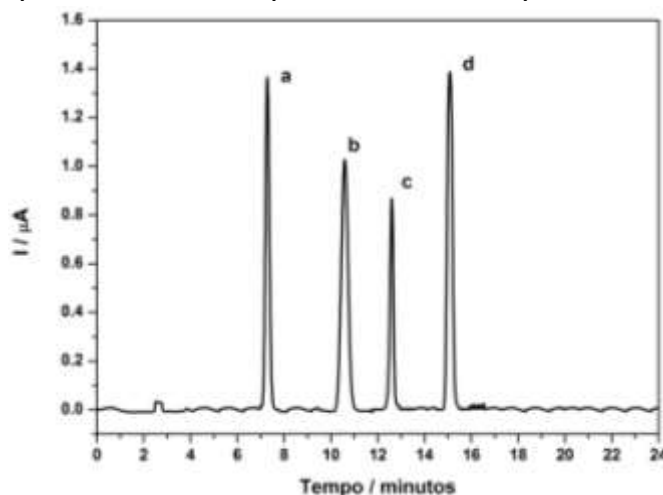
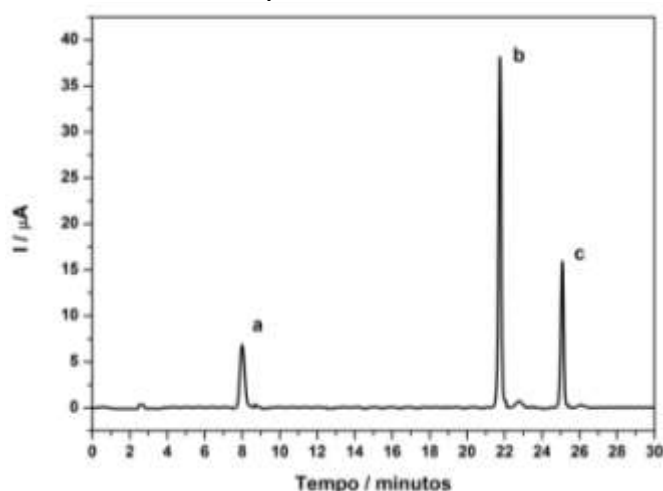


Figura 35: Cromatograma obtido da injeção de 20 μ L da amostra de água de lavagem da marca X, coloração preta em HPLC-ED com eletrodo modificado para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30 mM de BMIm-NTf₂ 60:40 (v/v), E = + 0,80V. **a)** 4-cloro-2-metilanilina; **b)** 1,4-diaminobenzeno; **c)** 2-metilbenzeno-1,4-diamina.



A **Figura 33** e **Figura 34** apresentam um típico cromatograma HPLC-ED para detecção de aminas do grupo 1 e grupo 2, respectivamente, para as amostras de água de lavagem de tinturas da marca X para coloração preta. O cromatograma apresenta 4 picos bem definidos, que foram quantificados

utilizando a equação da reta, atribuídos à: 2,4-diaminotoluidina (7,26 minutos), 4,4'-oxidianilina (10,61 minutos), 4-aminobifenila (12,61 minutos), anilina (15,09 minutos) estas do grupo 1 e para o grupo 2 foram detectadas os seguintes compostos: 4-cloro-2-metilanilina (7,94 minutos), 1,4-diaminobenzeno (21,70 minutos) e 2-metilbenzeno-1,4-diamino (25,2 minutos). As aminas detectadas na água de lavagem coletada no salão para tintura da marca X (coloração preta) tem as aminas: 2,4-diaminotoluidina e 4,4'-oxidianilina classificadas no grupo 2B (possível carcinogênico em humanos), entretanto o composto 4-aminobifenila é classificado no grupo 1 pela IARC (carcinogênico em humanos). Em adição a 1,4-diaminobenzendo, anilina esta classificada no grupo 3 (não carcinogênico) e a 2-metilbenzidina-1,4-diamina não apresentam classificação pela IARC.

De maneira análoga, foram coletadas amostras de água de lavagem de tintura da marca X para coloração loira e das marcas Y e Z para coloração preta e loira, respectivamente. Essas amostras foram coletadas em garrafas de plástico PET e guardadas em isopor com gelo para conservar a temperatura. Após a chegada no laboratório as mesmas foram filtradas primeiramente com filtro de papel e seguido de filtro de membrana PTFE. Posteriormente foi realizada uma extração líquido-líquido como descrito na seção experimental.

Na **Tabela 18** estão resumidos os resultados obtidos para todos as amostras de água de lavagem analisadas. Observa-se que algumas das aminas encontradas nestas amostras analisadas apresentam alta toxicidade em animais e humanos de acordo com a IARC.

Para as 6 amostras de água de lavagem coletadas em salão, todas apresentaram em comum a 1,4-diaminobenzeno. Este composto é um precursor de síntese comumente utilizado nas tinturas, pois o mesmo em presença de peróxido de hidrogênio e outros compostos são oxidados em um produto colorido que adere na fibra do cabelo.

Na coloração preta da marca X houve a maior incidência de aminas detectadas: 2,4-diaminotoluidina (grupo 2B), 4,4'-oxidianilina (grupo 2B), 4-aminobifenila (grupo 1), anilina (grupo 3), 4-cloro-2-metilanilina (grupo 2A), e 2-metilbenzeno-1,4-diamina (sem classificação). Dentre os compostos detectados o mais perigoso é o 4-aminobifenila que é considerado

carcinogênico em humanos, no entanto, as demais pertencem a grupos que podem causar danos em concentrações maiores.

Para a coloração loira da marca X, foi detectada apenas a 1,4-diaminobenzeno. No entanto, para a coloração preta da marca Y foi detectada também a 2-metoxi-5-metilanilina que é classificada no grupo 2B da IARC, sendo que o mesmo se aplica para a coloração loira da marca Y onde detectamos a 4-cloroanilina também classificada no grupo 2B. Em adição para as amostra de tintura da marca Z foi detectada a 4,4'-oxidianilina (grupo 2B) para coloração preta e 4-aminobifenila (grupo 1) para coloração loira.

Na **Tabela 18** pode-se observar resumidamente os compostos detectados e sua concentração em todas as amostras de água de lavagem analisadas neste trabalho.

Tabela 18: Aminas aromáticas encontradas nas amostras de água de lavagem das tinturas comerciais.

Aminas	Concentração detectada (mg L-1)	Marca Tintura e coloração
2,4-diaminotoluidina	4,38	Água Lavagem Marca X, coloração Preta
4,4'-oxidianilina	4,00	
4-aminobifenila	5,10	
Anilina	5,57	
4-cloro-2-metilanilina	3,25	
1,4-diaminobenzeno	4,25	
2-metilbenzeno-1,4-diamina	5,30	
1,4-diaminobenzeno	5,02	Água Lavagem Marca X, coloração Loira
2-metoxi-5-metilanilina	2,41	Água Lavagem Marca Y, coloração Preta
1,4-diaminobenzeno	6,12	
4-cloroanilina	4,85	Água Lavagem Marca Y, coloração Loira
1,4-diaminobenzeno	5,51	
4,4'-oxidianilina	6,18	Água Lavagem Marca Z, coloração Preta
1,4-diaminobenzeno	3,21	
4-aminobifenila	4,28	Água Lavagem Marca Z, coloração Loira
1,4-diaminobenzeno	3,81	

4.8. Determinação de aminas aromáticas utilizando Cromatografia líquida de ultra Eficiência acoplado com Espectrômetro de Massas (UHPLC-MS/MS)

4.8.1. Otimização da Técnica UHPLC-MS/MS

Foram testados dois métodos: on-line (pré concentração em linha, utilizando uma coluna específica), além de um método offline (onde a amostra foi injetada diretamente na coluna analítica). Inicialmente, foram otimizadas as condições cromatográficas para o método offline e para isto, diferentes fases móveis e aditivos foram testados. Água de grau HPLC não tamponada e adição de 0,1% ácido fórmico, foram avaliados como fases móveis para a fase aquosa, enquanto metanol e acetonitrila foram testados como solventes orgânicos, sob um gradiente linear de 5 a 100 % de solvente orgânico, em corrida de 15 min. com vazão de 0,2 mL min⁻¹. Estas foram as condições iniciais. Levando em consideração o tempo de análise, resolução, intensidade e largura do pico, a melhor condição experimental foi: solvente (A): metanol com 0,1 % de ácido fórmico; solvente (B): água com 0,1% de ácido fórmico, com vazão de 0,2 mL min⁻¹. O gradiente de eluição foi: condições iniciais 20 % A; 0-3,0 min, 20-100 % de A; 3,0-6,0 min, 100 % de A; 6,0-6,1 retorno às condições iniciais; 6,1-9,0, o equilíbrio da coluna. O volume da amostra injetada foi de 10µL e a temperatura da coluna foi de 40°C.

Com as condições otimizadas, foi então estudada as condições de pré-concentração no modo on line (EquanTM). Este método consiste em pré concentrar a amostra em uma coluna independente, utilizando um solvente específico. Em seguida, a fase móvel é otimizada para eluir os analitos que seguem diretamente para a coluna analítica onde ocorrerá a separação dos compostos. Nesta etapa foi otimizada a composição e vazão de carregamento na coluna de pré concentração. Foram também otimizados o tempo de eluição e o tempo de transferência que são parâmetros importantes para a obtenção de um cromatograma com boa separação. As melhores condições foram: 100% água, vazão de 1,0 mL min⁻¹, volume de injeção de 250µL, tempo de eluição de 400 segundos e tempo de transferência 20 segundos.

As 23 aminas aromáticas de interesse apresentam picos com boa intensidade, atribuídos a boa ionização dos compostos. O tempo de retenção dos compostos foram: 2-aminonaftaleno (tr = 1,90 min); 4,4'-mtileno-bis-2-cloroanilina (tr = 3,31 min); anilina (tr = 4,00 min) 4,4'-oxidianilina (tr = 1,90 min.); 3,3'-dimetoxibenzidina (tr = 2,96 min.); 2-metoxianilina (tr = 2,71 min.); 3,3'-dimetilbenzidina (tr = 2,99 min.); 2-metoxi-5-metilanilina (tr = 3,11 min.); 4-aminobifenila (tr = 3,53 min.), 4,4'-diaminodifenilmetano (tr = 2,49 min.); 2-metilanilina (tr = 1,32 min.), 4-cloroanilina (tr = 3,15 min.); 2-cloro-4-nitroanilina (tr = 3,93 min.), 1,4-diaminobenzidina (tr = 1,33 min.); 2-metilbenzidina-1,4-diamina (tr = 2,71 min.), 4-aminofenol (tr = 1,33 min.), N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina (tr = 1,58 min.), 2,6-dimetilanilina (tr = 3,28 min.); 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina (tr = 3,98 min.), 4-cloro-2-metilanilina (tr = 3,52 min.), 2,4-diaminotoluidina (tr = 1,68 min.); 4,4'-diaminobifenila (tr = 1,74 min.) e 3,3'-diclorobenzidina (tr = 3,93 min.). Embora, houvesse co-eluição de alguns compostos (mesmo tempo de retenção) a técnica permite quantificar as aminas pela relação de massas de cada composto que são diferentes.

Deste modo, a **Tabela 19** apresenta as respectivas transições do espectro de primeira ordem, ou seja, o pico de maior intensidade para cada composto (ESI-MS/MS), e seus sinais relativos a uma carga positiva ($[M+H]^+$), correspondente às transições dos dois fragmentos mais intensos correspondentes a relação $[M+H]^+$. Na **Tabela 19** estão apresentadas ainda as energias de colisão (CE) para cada transição monitorada. Esta é a energia necessária para fragmentação da molécula.

Tabela 19: Íon molecular, fragmentos e energia DE colisão das aminas aromáticas.

Composto	$[M+H]^+$	Fragmentos	CE (V)
Anilina	94,0	94,0 → 77,0 (94,0 → 51,0)	17 30
2-metilbenzidina-1,4-diamina	123,1	123,1 → 109,1 (123,1 → 78,1)	14 29
N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina	151,1	151,1 → 109,1 (151,1 → 92,1)	14 21
4-aminofenol	110,1	110,1 → 65,1 (110,1 → 93,1)	20 14
4,4'-metilenebis-(2-cloroanilina)	267,1	267,1 → 231,1 (267,1 → 195,1)	20 29
3,3'-dimetilbenzidina	213,2	213,2 → 180,2 (213,2 → 198,2)	34 20
3,3'-diclorobenzidina	254,1	254,1 → 218,1 (254,1 → 183,1)	20 28

4,4'-diaminodifenilmetano	199,3	199,3 → 106,1 (199,3 → 77,1)	23 46
3,3'-dimetoxibenzidina	245,1	245,1 → 187,1 (245,1 → 230,1)	32 17
2,4-diaminotoluidina	123,1	123,1 → 108,1 (123,1 → 106,1)	16 14
4-cloro-2-metilanilina	142,0	142,0 → 107,0 (142,0 → 106,0)	16 26
4-cloroanilina	128,1	128,1 → 93,1 (128,1 → 74,1)	17 47
2-aminonaftaleno	144,1	144,1 → 127,1 (144,1 → 77,1)	22 34
4,4'-oxidianilina	201,1	201,1 → 80,1 (201,1 → 108,1)	33 19
4-aminobifenilina	170,1	170,1 → 152,1 (170,1 → 153,1)	30 19
1,4-diaminobenzidina	109,1	109,1 → 92,1 (109,1 → 65,1)	13 22
2-cloro-4-nitroanilina	173,1	173,1 → 156,0 (173,1 → 126,0)	14 22
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	227,2	227,2 → 120,2 (227,2 → 178,2)	22 20
2-metoxi-5-metilanilina	138,1	138,1 → 123,1 (138,1 → 122,1)	15 25
4,4'-diaminobifenila	185,1	185,1 → 168,1 (185,1 → 167,1)	17 27
2-metilanilina	108,1	108,1 → 91,0 (108,1 → 93,1)	17 14
2-metoxianilina	124,0	124,0 → 109,0 (124,0 → 80,0)	14 29
2,5-dimetilanilina	122,1	122,1 → 77,0 (122,1 → 105,1)	28 14

A primeira transição foi utilizada para quantificação, enquanto a segunda foi utilizada para confirmar a identidade dos compostos. A fim de obter maior sensibilidade, precisão e reprodutibilidade, otimizou-se o tempo de ciclagem e o tempo de permanência utilizando SRM automático, em que as transições são monitorizados apenas em torno do tempo de retenção esperado. Assim, o SRM automatizado diminuiu o número de transições SRM simultâneas.

Em seguida, usando a condição otimizada de fase móvel para o método offline e online, construiu-se as curvas analíticas para as 23 aminas usando metanol como solvente. Os respectivos parâmetros da curva analítica são apresentados na **Tabela 20**. Analisando-se o coeficiente de correlação (r^2) de cada curva, observa-se valores de no mínimo 0,99, tanto para o método online, quanto offline, demonstrando uma boa relação linear entre 4,8 ng L⁻¹ e 0,1 µg L⁻¹ para todos os compostos. O limite de detecção obtido estatisticamente para o método online apresentou valores entre 0,97 e 52,8 pg mL⁻¹ e para o método

off-line os valores variaram entre 0,81 e 44,0 pg mL⁻¹. O limite de quantificação para o método off line variou de 2,9 e 159 pg mL⁻¹ e para o método on line os valores variou de 2,6 e 145 pg mL⁻¹. Todos os valores estão resumidos na **Tabela 20**, e os resultados referem-se a análise das aminas em metanol como solvente.

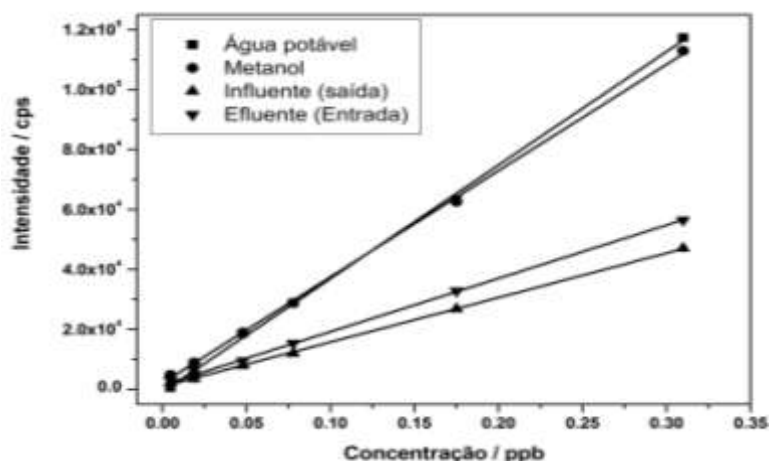
Tabela 20: Parâmetros analíticos obtidos a partir da curva analítica para o método on line e off line usando metanol como solvente.

Compostos	Off line					On Line (EQUAN)				
	A	B	R	Limite detecção*	Limite Quantificação*	A	B	R	Limite detecção*	Limite Quantificação*
Anilina	553231,7	1,66x10 ⁵	0,999	43,2	129	13013,2	666950,1	0,999	36,0	118
2-metilbenzeno-1,4-diamina	49274,9	9,83x10 ⁵	0,999	2,90	8,7	-59947,2	2,31x10 ⁶	0,999	2,42	7,9
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	99111,2	9,69x10 ⁴	0,999	3,34	10,0	2403,5	702575,3	0,999	2,78	9,1
4-aminofenol	-15409,5	1,82x10 ⁵	0,999	8,57	26,4	1201,5	107759,1	0,999	7,14	24,0
4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina)	-15045,1	3,08x10 ⁵	0,999	6,53	19,8	-32,6	58691,7	0,999	5,46	18,0
3,3'-dimetilbenzidina	-26500,1	1,05x10 ⁶	0,999	6,65	19,8	350,8	1,93x10 ⁶	0,999	5,54	18,0
3,3'-diclorobenzidina	3013,6	3,89x10 ⁴	0,999	4,98	15,4	611,5	79618,7	0,999	4,15	14,0
4,4'-diaminodifenilmetano	137075,1	1,79x10 ⁶	0,999	3,32	10,0	-13492,6	2,02x10 ⁶	0,999	2,77	9,1
3,3'-dimetoxibenzidina	-85167,8	2,52x10 ⁶	0,999	6,64	19,8	-718,5	2,79x10 ⁶	0,999	5,53	18,0
2,4-diaminotoluidina	-16024,4	1,19x10 ⁶	0,999	0,97	2,9	7875,8	1,72x10 ⁶	0,999	0,81	2,6
4-cloro-2-metilanilina	6214,9	8221,9	0,999	9,38	28,6	-65,8	36009,5	0,999	7,82	26,0
4-cloroanilina	-41394,4	4,13x10 ⁵	0,999	3,38	10,2	8271,7	449384,7	0,999	2,82	9,3
2-aminonaftaleno	995536,9	8,60x10 ⁵	0,999	1,12	3,2	-15552,3	3,72x10 ⁶	0,999	0,93	2,9
4,4'-oxidianilina	-33979,8	1,58x10 ⁶	0,999	6,25	18,7	-4531,7	3,56x10 ⁶	0,999	5,21	17,0
4-aminobifenilina	-38505,9	3,04x10 ⁶	0,999	3,61	11,4	4870,3	3,16x10 ⁶	0,999	3,01	10,0
1,4-diaminobenzeno	-35942,7	4,36x10 ⁵	0,998	52,8	159	-1684,9	13235,9	0,997	44,0	145
2-cloro-4-nitroanilina	30198,9	2,00x10 ⁵	0,995	7,51	22,5	5610,1	747619,1	0,996	6,25	20,0
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	255300,5	6,44x10 ⁶	0,996	13,2	38,5	2643,7	999963,8	0,998	11,0	35,0
2-metoxi-5-metilanilina	658812,5	1,82x10 ⁶	0,998	2,71	8,14	-13152,5	4,26x10 ⁶	0,998	2,26	7,4
4,4'-diaminobifenila	-81299,9	1,26x10 ⁶	0,997	7,66	23,1	1048,3	3356,9	0,997	6,38	21,0
2-metilanilina	28545	1,54x10 ⁶	0,997	3,01	9,24	14024,8	3,07x10 ⁶	0,999	2,51	8,4
2-metoxianilina	24219,4	8,01x10 ⁵	0,998	10,6	33,6	-23408,4	599922,1	0,998	8,81	30,0
2,5-dimetilanilina	-33062,4	8,51x10 ⁵	0,998	3,62	11,4	10727,4	379132,5	0,998	3,02	10,0

A: coeficiente linear; B: coeficiente angular; R: coeficiente de correlação; *concentração em pg mL⁻¹; L.D. e L.Q. são limites de método.

A fim de verificar o efeito da matriz nas curvas analíticas foram realizadas calibrações para as 23 aminas aromáticas concomitantemente em: água potável, efluente e influente. Após filtração das matrizes citadas as mesmas foram fortificadas com solução padrão das aminas aromáticas como descrito na seção experimental. A **Figura 36** apresenta uma curva analítica representativa da análise de 20µL de 2,5-dimetilanilina entre 0,05 e 0,30 µg mL⁻¹.

Figura 36: Curva analítica obtida para 2,5-dimetilanilina em metanol, em água potável, efluente (entrada da estação de tratamento de esgoto) e influente (saída da estação de tratamento de esgoto).



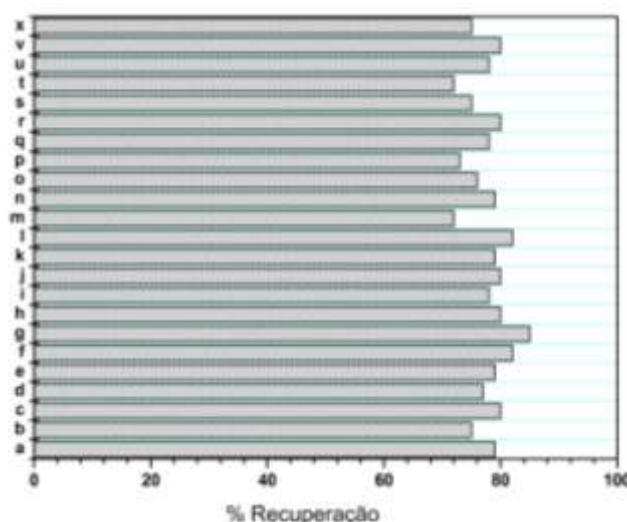
Fonte: próprio autor.

Analisando-se a **Figura 36** acima, para metanol e água potável as curvas apresentam uma relação linear com inclinação aproximada de $3,79 \times 10^5$. Entretanto, para influente (entrada da estação de tratamento de esgoto) e efluente (saída da estação de tratamento de esgoto) a inclinação da curva diminui para $8,28 \times 10^4$ e $9,24 \times 10^4$, respectivamente. Tendo em vista esses dados, pode-se afirmar que a matriz tem grande influencia na resposta da 2,5-dimetilanilina. Este comportamento é a evidência de que a matriz apresenta grande complexidade, devido provavelmente a grande quantidade de matéria orgânica, as quais podem interagir com as aminas aromáticas e, assim, prejudicar a ionização e, conseqüentemente, a sensibilidade.

A fim de tentar diminuir a influencia da matriz, as amostras de água foram fortificadas com 100 ng L⁻¹ de uma mistura de padrão das aminas

aromáticas de interesse e submetidos a extração em fase sólida utilizando cartuchos phenomenex StrataX-CW (500 mg de base polimérica para compostos básicos). A **Figura 37** mostra a recuperação obtida para as 23 aminas estudadas em água potável.

Figura 37: % de recuperação das aminas aromáticas em água potável. a) anilina; b) 2-metilanilina; c) 1,4-diaminobenzeno; d) 4-aminofenol; e) 2,5-dimetilanilina; f) 2,4-diaminotoluidina; g) 2-metilbenzeno-1,4-diamina; h) 2-metoxianilina; i) 4-cloroanilina; j) 2-metoxi-5-metilanilina; k) 4-cloro-2-metilanilina; l) 2-aminonaftaleno; m) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno; n) 4-aminobifenila; o) 4,4'-diaminobifenila; p) 4,4'-diaminodifenilmetano; q) 4,4'-oxidianilina; r) 3,3'-dimetilbenzidina; s) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina; t) 3,3'-dimetoxibenzidina; u) 3,3'-diclorobenzidina; v) 2-cloro-4-nitroanilina; x) 4,4'-metileno-bis-2-cloroaniline.



Os resultados indicam uma porcentagem de recuperação média de 72 a 82 % (média de três repetições $\pm$ RSD), utilizando as condições otimizadas. As aminas aromáticas apresentaram boa recuperação usando cartuchos Strata XL-CW uma vez que houve uma melhor interação entre os grupos amino protonados das aminas aromáticas e os grupos silanóis presentes na fase estacionária do cartucho que estão carregadas negativamente. Na **Tabela 21** estão os dados de recuperação para as outras matrizes estudadas.

Tabela 21: Recuperação das aminas aromáticas nas amostras ambientais.

Compostos	% Recuperação (%RSD) (n=3)		
	Influente	Efluente	Água Superficial
Anilina	82 (± 5,2)	90 (± 10,0)	102 (± 1,2)
2-metilbenzeno-1,4-diamina	72 (± 6,2)	85 (± 2,6)	94 (± 7,6)
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	91 (± 2,7)	93 (± 8,1)	102 (± 8,1)
4-aminofenol	78 (± 2,7)	88 (± 4,6)	94 (± 6,8)
4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina)	114 (± 2,5)	102 (± 1,8)	91 (± 6,8)
3,3'-dimetilbenzidina	115 (± 8,3)	88 (± 9,2)	97 (± 9,2)
3,3'-diclorobenzidina	86 (± 4,2)	92 (± 4,4)	105 (± 9,9)
4,4'-diaminodifenilmetano	93 (± 3,4)	97 (± 6,4)	89 (± 6,2)
3,3'-dimetoxibenzidina	75 (± 1,5)	83 (± 2,4)	91 (± 3,8)
2,4-diaminotoluidina	86 (± 5,6)	90 (± 3,7)	91 (± 8,2)
4-cloro-2-metilanilina	88 (± 22,5)	90 (± 16,4)	92 (± 15,4)
4-cloroanilina	80 (± 2,8)	89 (± 14,8)	94 (± 21,9)
2-aminonaftaleno	85 (± 2,5)	93 (± 4,8)	108 (± 8,4)
4,4'-oxidianilina	79 (± 2,7)	88 (± 6,4)	97 (± 3,3)
4-aminobifenilina	88 (± 5,6)	92 (± 6,7)	98 (± 2,7)
1,4-diaminobenzeno	85 (± 2,9)	93 (± 4,8)	98 (± 5,1)
2-cloro-4-nitroanilina	106 (± 7,4)	110 (± 5,8)	95 (± 9,2)
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	94 (± 2,4)	100 (± 5,8)	82 (± 12,2)
2-metoxi-5-metilanilina	76 (± 2,8)	83 (± 6,2)	99 (± 1,9)
4,4'-diaminobifenila	82 (± 6,6)	94 (± 2,1)	88 (± 11,6)
2-metilanilina	91 (± 2,4)	95 (± 6,8)	98 (± 7,5)
2-metoxianilina	87 (± 2,9)	98 (± 3,8)	90 (± 4,9)
2,5-dimetilanilina	79 (± 11,6)	82 (± 16,4)	94 (± 19,2)

Como pode-se observar na **Tabela 21** o intervalo de recuperação para influente foi de 72 a 115% entretanto para efluente e água superficial o intervalo de recuperação foi de 82 a 110% e 82 a 108%, respectivamente.

Na **Tabela 22** está representado o limite de detecção e quantificação das aminas aromáticas em metanol para o método off line e on line (Equan™). Os resultados confirmam claramente que o método Equan™ é mais sensível que o método off line. Na **Tabela 23** estão os dados de limite de detecção e quantificação para as outras matrizes estudadas e neste caso novamente o método on line (Equan™) foi mais sensível.

Tabela 22: Parâmetros analíticos (limite detecção e quantificação) obtido para o método off line.

Compostos	Limite detecção				Limite Quantificação			
	Influente	Efluente	Água Superficial	Água Potável	Influente	Efluente	Água Superficial	Água Potável
Anilina	54,8	47,7	37,4	36,8	168	138	140	130
2-metilbenzeno-1,4-diamina	356	336	50,6	6,90	1279	1102	157	8,72
N-monoacetil-1,4-diaminobenzene	67,6	60,2	49,5	4,41	222	199	178	10,0
4-aminofenol	756	640	14,9	17,8	2551	2152	50,4	26,4
4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina)	21,8	30,5	22,2	37,8	71,6	100	79,2	19,8
3,3'-dimetilbenzidina	62,9	46,6	12,6	10,3	205	157	45,7	19,8
3,3'-diclorobenzidina	76,1	168	24,2	18,9	249	546	87,6	15,4
4,4'-diaminodifenilmetano	216	325	90,2	43,0	712	1071	324	10,0
3,3'-dimetoxibenzidina	47,1	80,9	57,2	24,1	151	273	206	19,8
2,4-diaminotoluidina	251	304	93,5	77,7	313	997	337	2,90
4-cloro-2-metilnilina	556	1113	385	131	2494	3717	1386	28,6
4-cloroanilina	57,2	74,8	8,5	9,7	170	252	27,6	10,2
2-aminonaftaleno	32,7	81,7	14,1	22,9	106	262	50,8	3,19
4,4'-oxidianilina	276,7	462	176	131	913	1533	636	18,7
4-aminobifenilina	30,2	66,8	10,8	12,4	99,8	210	38,8	11,7
1,4-diaminobenzene	27,2	18,9	55,1	61,3	86,4	64,1	181	159
2-cloro-4-nitroanilina	12,4	11,9	27,9	34,1	41,8	39,9	101	22,1
4,4'-metileno-bis-2-metilnilina	39,7	60,9	70,4	93,4	129	199	253	38,5
2-metoxi-5-metilnilina	8,38	30,0	11,6	14,9	25,1	96,6	44,5	8,14
4,4'-diaminobifenila	35,6	75,7	8,9	9,7	117	2530	35,0	23,1
2-metilnilina	67,5	189	3,3	2,9	229	630	11,2	9,24
2-metoxianilina	33,1	420	10,3	10,1	84,8	1386	46,3	33,4
2,5-dimetilnilina	34,0	136	13,2	16,2	111	441	51,4	11,3

Concentração em ppt (pg mL⁻¹)

Tabela 23: Parâmetros analíticos (limite de detecção e quantificação para o método) obtido para método on line (EQUAN).

Compostos	Limite DEtecção				Limite Quantificação			
	Influente	Efluente	Água Superficial	Água potável	Influente	Efluente	Água Superficial	Água potável
Aniline	40,6	45,4	34,0	35,0	125	132	117	118
2-metilbenzeno-1,4-diamina	264	320	46,0	58,0	948	1050	13,1	203
N-monoacetil-1,4-diaminobenzene	50,1	57,3	45,0	42,0	165	190	149	138
4-aminofenol	560	610	13,5	17,0	1890	2050	42,0	60,0
4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina)	16,2	29,0	20,0	36,0	53	96	66	119
3,3'-dimetilbenzidina	46,6	44,4	11,5	9,8	152	150	38,1	32,3
3,3'-diclorobenzidina	56,4	160	22,0	18,0	185	520	73	59
4,4'-diaminodifenilmetano	160	310	82,0	41,0	528	1020	270	135
3,3'-dimetoxibenzidina	34,9	77,1	52,0	23,0	112	260	172	76
2,4-diaminotoluidina	186	290	85,0	74,0	232	950	281	244
4-cloro-2-metilnilina	560	1060	350	125	1848	3540	1155	412
4-cloroanilina	42,4	71,2	7,8	9,2	126	240	23,0	27,6
2-aminonaftaleno	24,2	77,8	12,8	21,8	79,2	250	42,3	71,9
4,4'-oxidianilina	205	440	160	125	676,5	1460	528	412

4-aminobifenilina	22,4	63,6	9,8	11,8	73,9	200	32,3	38,9
1,4-diaminobenzeno	20,0	18,0	50,0	58,4	64,0	61,0	151	169
2-cloro-4-nitroanilina	9,2	11,4	25,4	32,5	31	38	84	107
4,4'-metileno-bis-2-metilnilina	29,4	58	64,0	89,0	96	190	211	294
2-metoxi-5-metilnilina	6,21	28,6	10,6	14,2	18,6	92,0	37,1	50,0
4,4'-diaminobifenila	26,4	72,1	8,1	9,2	87,1	2410	29,2	30,4
2-metilnilina	50,0	180	3,0	2,8	170	600	9,3	9,0
2-metoxianilina	24,5	400	9,4	9,6	62,8	1320	38,6	41,2
2,5-dimetilanilina	25,2	130	12,0	15,4	82,9	420	42,8	58,4

Concentração em ppt (pg mL⁻¹)

Testes de recuperações para amostras de água superficial, águas residuais (influyente e efluente) e água potável foi realizado fortificando as mesmas com a mistura de solução padrão das amins aromáticas em metanol em concentração final de 100 ng L⁻¹, com o objetivo de simular nível de concentração permitido pelo CONAMA que é de cerca de 0,0002 µg L⁻¹ para 4,4'-diaminobifenila, 2-aminonaftaleno e 4-aminobifenila. Para as outras amins aromáticas em água superficial é cerca de 0,001 µg L⁻¹ [33]. Todas as análises foram realizadas em triplicatas e as recuperações representam os valores obtidos após a extração SPE, pela adição de padrão. Os resultados mostraram recuperações no intervalo de 72 a 105%, indicando que o método de extração apresentam valores aceitáveis para todos os compostos, uma vez que os valores foram superiores a 70 %.

Os limites de detecção para todas as amostras estudadas variaram entre 0,97 a 1113 ng L⁻¹ no método off line e o limite de quantificação variaram entre 2,9 a 3717 ng L⁻¹ no método off line. Entretanto, para o modo on line (Equan™) o limite de detecção variaram entre 0,81 a 1060 ng L⁻¹ e limite de quantificação variaram entre 2,6 a 3540 ng L⁻¹. Isso reflete a grande influência da matriz na detecção e quantificação de amins aromáticas. A matriz, que apresentou a maior interferência foram as águas residuais, provavelmente, devido à grande quantidade de matéria orgânica. Deste ponto de vista, o método desenvolvido indica uma supressão de íons para todos os compostos, com a exceção de anilina, 2-metilbenzeno-1,4-diamina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 2-metoxianilina, 3,3'-dimetilnilina. Além disso, 3,3'-diclorobenzidina, 4-cloroanilina e 2-naftilamina apresentaram aumento de sinal para águas residuais (influyente e efluente), ou seja, ocorreu um efeito positivo da matriz para esses analitos. A amins aromáticas apresentaram supressão de íons, ou seja, apresentaram

redução de sinal em águas residuais (influentes e efluentes) e água superficial. Estes resultados mostram que é necessário corrigir esses efeitos, com a finalidade de evitar a quantificação imprecisa (superestimação ou subestimação) nas análises de amostras reais.

Em seguida foram realizadas análises das amostras ambientais: água superficial, esgoto (influentes e efluentes) e água potável coletadas em Girona/Catalunha/Espanha e Araraquara/São Paulo/Brasil. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 24.**

Tabela 24: Aplicação do método on line (EQUAN) para amostra real de Araraquara/SP/Brasil e Girona/Catalonia/Espanha.

Compostos	Brasil				Espanha			
	Efluente*	Influente*	Água Potável*	Água Superficial*	Efluente*	Influente*	Água Potável*	Água Superficial*
Anilina	0,28	0,17	n.d.	0,09	0,29	n.d.	n.d.	0,09
2-metilbenzeno-1,4-diamina	0,14	n.d.	n.d.	n.d.	0,01	n.d.	n.d.	n.d.
N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4-aminofenol	0,13	0,04	n.d.	0,07	0,27	0,30	n.d.	n.d.
4,4'-metilene-bis-(2-cloroanilina)	0,20	n.d.	n.d.	0,20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,3'-dimetilbenzidina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,3'-diclorobenzidina	0,05	0,03	n.d.	0,21	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-diaminodifenilmetameno	0,25	0,09	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,3'-dimetoxibenzidina	0,13	0,14	n.d.	0,25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2,4-diaminotoluidina	0,22	n.d.	n.d.	0,21	0,01	n.d.	n.d.	0,05
4-cloro-2-metilnilina	0,12	0,18	n.d.	0,14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4-cloroanilina	0,07	0,01	n.d.	0,03	0,17	n.d.	n.d.	n.d.
2-aminonaftalena	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-oxidianilina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4-aminobifenilina	0,24	0,07	n.d.	0,24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1,4-diaminobenzeno	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2-cloro-4-nitroanilina	0,22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-metileno-bis-2-metilnilina	0,11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2-metoxi-5-metilnilina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4,4'-diaminobifenila	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2-metilnilina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,07	n.d.	n.d.	n.d.
2-metoxibenzidina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2,5-dimetilnilina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

* concentração em ppb

Em relação à água potável coletadas em Girona/Catalunha/Espanha e Araraquara/SP/Brasil nenhum composto foi encontrado considerando o limite de detecção do método proposto on line que esta entre 2,8 à 1060 pg mL⁻¹ (ppt). Entretanto, para as águas superficiais coletadas em rio da Espanha, foram detectadas as seguintes compostos: anilina (0,09 ppb), 2,4-diaminotoluidina (0,05 ppb). Segundo legislação o limitado máximo permitido de 4,4'-diaminobifenila em água superficial é 0,1 µg L⁻¹.

Nas amostras do Brasil foram encontradas 0,09 ppb para anilina e 0,21 ppb para 2,4-diaminotoluidina. Em adição, foram detectadas mais sete aminas aromáticas: 4-aminofenol (0,07 ppb); 4,4'-metilene-bis-(2-cloroanilina) (0,20 ppb); 3,3'-diclorobenzidina (0,21 ppb); 3,3'-dimetoxibenzeno (0,25 ppb); 4-cloro-2-metilanilina (0,14 ppb); 4-cloroanilina (0,03 ppb); 4-aminobifenila (0,24 ppb), que compromete a qualidade da água.

Na amostra de influente do Brasil foram detectadas as seguintes aminas: anilina, 4-aminofenol, 3,3'-diclorobenzidina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetoxibenzeno, 4-cloro-2-metilanilina, 4-cloroanilina, 4-aminobifenila onde as concentrações variam entre 0,03 à 0,18 µg L⁻¹. Entretanto, para as amostras de influente da Espanha foi detectada apenas a 4-aminofenol (0,30 µg L⁻¹)

Para as amostras de efluente no Brasil foram detectadas as seguintes aminas: anilina, 2-metilbenzeno-1,4-diamina, 4-aminofenol, 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), 3,3'-diclorobenzidina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-dimetoxibenzeno, 2,4-diaminotoluidina, 4-cloro-2-metilanilina, 4-cloroanilina, 4-aminobifenila, 2-cloro-4-nitroanilina e 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina onde as concentrações variaram entre 0,05 à 0,28 µg L⁻¹. Entretanto para a amostra de efluente da Espanha foram detectadas as aminas: anilina, 2-metilbenzeno-1,4-diamina, 4-aminofenol, 2,4-diaminotoluidina, 4-cloroanilina, 2-metilanilina onde a concentração variam entre 0,01 à 0,29 ppb.

Na **Tabela 24** observa-se que houve redução na concentração das aminas encontradas. Observando-se os resultados dos efluentes e influente verifica-se que houve diminuição da concentração dos compostos, exceto 3,3'-dimetoxibenzeno e 4-cloro-2-metilanilina que tiveram um pequeno aumento na concentração encontrada. Para os compostos 2-metilbenzeno-1,4-diamina, 4,4'-metilene-bis-(2-cloroanilina), 2,4-diaminotoluidina, 2-cloro-4-nitroanilina e 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina a concentração foi menor que o limite de detecção

desses compostos neste método. A mesma conclusão se pode observar para os compostos detectados na amostra de efluente e influente da Espanha sendo que os compostos anilina, 2-metilbenzeno-1,4-diamina, 2,4-diaminotoluidina 4-cloroanilina e 2-metilanilina a concentração desse compostos foi menor que o limite de detecção do método e no caso do composto 4-aminofenol a concentração do influente houve um pequeno aumento.

Os resultados mostram que as aminas aromáticas cancerígenas não estão presentes na água potável, mas eles estão presentes na água superficial e efluente e influente de águas residuais em Girona, Espanha, bem como em Araraquara, Brasil. Podemos destacar a 4-aminobifenila, que foi encontrado em amostras de água de superfície de Araraquara/SP/Brasil é classificado pelo IARC no grupo 1 para ser cancerígeno em humanos. No entanto, as amostras coletadas em Girona/Catalunha/Espanha exibiu outros grupos de aminas que são tóxicos em animais, mas não tóxico em humanos.

Portanto, de acordo com o método proposto as aminas aromáticas: 4-aminobifenila, 4,4'-diaminobifenila, 4-cloro-2-metilanilina, 2-aminonaftaleno, 4-cloroanilina, 4,4'-diaminodifenilmetano, 3,3'-diclorobenzidina, 3,3'-dimetilbenzidina, 3,3'-dimetoxibenzidina, 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), 4,4'-oxidianilina, 2-metilaniline, 2-metoxianiline, 2-metoxi-5-metilanilina, 2,4-diaminotoluidine, 2-cloro-4-nitroanilina considerados carcinogênicos, possivelmente ou provavelmente cancerígena (classificação 1, 2B ou 2A) pela IARC podem ser detectadas na faixa de 9,3 à 1155 ppb usando a pré-concentração on line (Equan™), acoplado ao sistema de UHPLC-MS/MS.

O potencial do sistema Equan™ para a determinação de aminas aromáticas contaminantes em matrizes ambientais complexas apresentou boa sensibilidade. O método mostrou limites muito baixos de detecção em análise realizados em água potável, águas residuais e das águas superficiais e oferecer ferramenta confiável e robusta que pode ser usado para análise de rotina de aminas aromáticas em amostras aquosas.

4.9. Ensaio de Toxicidade

A toxicidade aguda de cada amina aromática foi testada usando a bactéria marinha bioluminescente (*Vibrio fischeri*). Os resultados obtidos encontram-se resumidos na **Tabela 25**. As aminas aromáticas com toxicidade mais elevado foi a 2-aminonaftaleno que apresentou um EC_{50} de $5,05 \text{ mg L}^{-1}$, bem como a 2-cloro-4-nitroanilina com EC_{50} de $17,2 \text{ mg L}^{-1}$ e $18,9 \text{ mg L}^{-1}$ para 4-cloroanilina. A elevada toxicidade de 2-aminonaftaleno pode ser atribuída à sua configuração estrutural que contribui para a redução da luminescência do micro organismo. O substituinte cloreto em 2-cloro-4-nitroanilina e 4-cloroanilina podem aumentar a toxicidade em relação a outras aminas. Embora, 4,4'-diaminobifenila apresenta uma EC_{50} de $79,6 \text{ mg L}^{-1}$, é prejudicial à saúde devido a sua classificação como cancerígenas em humanos segundo a IARC (grupo 1). 2-metilanilina, 2,5-dimetilanilina, 4-cloro-2-metilanilina, 2-metoxyanilina, anilina e 3,3'-dimetoxibenzidina foram as aminas aromáticas que apresentaram toxicidade mais baixa, com EC_{50} de 461,0, 452,0, 408,0, 397,0, 390,0 e 268,0 mg L^{-1} , respectivamente.

Finalmente, estudou-se a mistura de todas as aminas aromáticas em conjunto e o valor de EC_{50} foi de $5,25 \text{ mg L}^{-1}$. O resultado sugere que não há efeito adicional, pois a mistura apresentou EC_{50} maior que aquele obtido para o 2-aminonaftaleno. Não foram realizados estudos de toxicidade em amostras de água coletadas nos rios porque não seria possível distinguir o efeito das aminas aromáticas e de outros compostos que poderiam estar presentes na matriz. Os resultados estão resumidos na **Tabela 25**.

Tabela 25: Dados de toxicidade das aminas aromáticas pelo teste de Microtox.

Compostos	Intervalo DE concentração (mg L^{-1})	Tempo (minutos)	EC_{50} (mg L^{-1})
Anilina	501-62,5	15	390
2-metilbenzidina-1,4-diamina	125-16,2	15	42,3
N-monoacetil-1,4-diaminobenzidina	500-62,5	15	194
p-aminofenol	125-16,2	15	60,3
4,4'-metilene-bis-(2-cloroanilina)	502-62,5	15	63,3

3,3'-dimetilbenzidina	505-62,5	15	113
3,3'-diclorobenzidina	125-16,2	15	72,3
4,4'-diaminodifenilmetano	498-62,5	15	106
3,3'-dimetoxibenzidina	504-62,5	15	268
2,4-diaminotoluidina	125-16,2	15	93,5
4-cloro-2-metilanilina	500-62,5	15	408
4-cloroanilina	125-16,2	15	18,9
2-aminonaftaleno	31,4-3,48	15	5,05
4,4'-oxidianilina	506-62,5	15	35,6
4-aminobifenila	501-62,5	15	85,1
1,4-diaminobenzidina	500-62,5	15	105
2-cloro-4-nitroanilina	500-62,5	15	17,2
4,4'-metileno-bis-2-metilanilina	502-62,5	15	110
2-metoxi-5-metilanilina	502-62,5	15	101
4,4'-diaminobofenila	500-62,5	15	79,6
2-metilanilina	507-62,5	15	461
2-metoxianilina	508-62,5	15	397
2,5-dimetilanilina	510-62,5	15	452
Mistura	31,4-3,90	15	5,25

5. Conclusões

Os resultados obtidos mostram que a adição de líquido iônico à fase móvel melhora significativamente a resolução cromatográfica. Na maioria das aminas estudadas o tempo de retenção foram menores devido provavelmente a mudança no mecanismo de separação que ocorre no interior da coluna cromatográfica. Para a detecção eletroquímica o líquido iônico diminui a corrente de fundo do sistema, além de minimizar a adsorção desses compostos na superfície eletródica. Observa-se após a adição do líquido iônico à fase móvel que a assimetria torna-se mais próxima a 1 para ambos os detectores (DAD e ED). O mesmo pode-se observar em relação ao número de pratos teóricos que na maioria dos casos ocorre uma diminuição desses valores devido aos menores tempo de retenção e também menores larguras de pico proporcionadas pelo líquido iônico adicionados à fase móvel.

Comparando os detectores de arranjos de diodos e eletroquímico observa-se que a detecção eletroquímica apresenta menores limites de quantificação, como se segue: 2,4-diaminotoluidina ($LQ_{DE} = 20,1 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 34,0 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-oxidianilina ($LQ_{DE} = 4,59 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 17,2 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-diaminobifenila ($LQ_{DE} = 6,64 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 13,2 \text{ mg L}^{-1}$); 3,3'-dimetoxibenzidina ($LQ_{DE} = 10,3 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 17,0 \text{ mg L}^{-1}$); 2-metoxianilina ($LQ_{DE} = 7,48 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 11,6 \text{ mg L}^{-1}$); 2-metilanilina ($LQ_{DE} = 5,97 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 29,3 \text{ mg L}^{-1}$); 2-aminonaftaleno ($LQ_{DE} = 10,2 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 26,0 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina ($LQ_{DE} = 6,71 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 11,9 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4-diaminodifenilmetame ($LQ_{DE} = 4,44 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 12,3 \text{ mg L}^{-1}$); 3,3'-dimetilbenzidina ($LQ_{DE} = 10,0 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 14,5 \text{ mg L}^{-1}$); 2-metoxi-5-metilanilina ($LQ_{DE} = 9,42 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 19,7 \text{ mg L}^{-1}$); 4-cloroanilina ($LQ_{DE} = 9,81 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 17,3 \text{ mg L}^{-1}$); 2-cloro-4-nitroanilina ($LQ_{DE} = 19,5 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 26,8 \text{ mg L}^{-1}$); 4-aminobifenila ($LQ_{DE} = 10,0 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 14,8 \text{ mg L}^{-1}$); 3,3'-diclorobenzidina ($LQ_{DE} = 6,98 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 19,0 \text{ mg L}^{-1}$); 2,5-dimetilanilina ($LQ_{DE} = 12,0 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 26,9 \text{ mg L}^{-1}$); 4-cloro-2-metilanilina ($LQ_{DE} = 11,9 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 24,6 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina ($LQ_{DE} = 13,8 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 19,8 \text{ mg L}^{-1}$); 1,4-diaminobenzeno ($LQ_{DE} = 10,5 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 21,5 \text{ mg L}^{-1}$); p-aminofenol ($LQ_{DE} = 10,9 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 24,3 \text{ mg L}^{-1}$);

2-metilbenzeno-1,4-diamino ($LQ_{DE} = 8,28 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 12,2 \text{ mg L}^{-1}$); N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno ($LQ_{DE} = 5,03 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 27,7 \text{ mg L}^{-1}$), exceto para a anilina ($LQ_{DE} = 5,32 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DAD} = 4,24 \text{ mg L}^{-1}$) o qual apresenta limite de quantificação ligeiramente maior que o detecção de arranjos de diodos.

O método desenvolvido com detecção eletroquímica foi aplicado para uma amostra de tonalizante masculino na qual foram detectadas as seguintes aminas: 4,4'-diaminodifenilmetano ($5,21 \text{ mg L}^{-1}$), 2,4-diaminotoluidina ($4,32 \text{ mg L}^{-1}$), 4,4'-oxidianilina ($3,96 \text{ mg L}^{-1}$), 4-aminobifenila ($5,02 \text{ mg L}^{-1}$), anilina (10 mg L^{-1}) and 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina ($4,56 \text{ mg L}^{-1}$).

A seguir o detector acoplado ao sistema HPLC foi modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico de modo simples e eficiente. Os respectivos limites de quantificação obtidos foram: 2,4-diaminotoluidina ($LQ_{MOD} = 5,73 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 20,1 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-oxidianilina ($LQ_{MOD} = 2,89 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 4,59 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-diaminobifenila ($LQ_{MOD} = 2,40 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 6,64 \text{ mg L}^{-1}$); 3,3'-dimetoxibenzidina ($LQ_{MOD} = 9,75 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 10,3 \text{ mg L}^{-1}$); 2-metoxianilina ($LQ_{MOD} = 3,73 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 7,48 \text{ mg L}^{-1}$); 2-metilanilina ($LQ_{MOD} = 3,23 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 5,97 \text{ mg L}^{-1}$); 2-aminonaftaleno ($LQ_{MOD} = 8,53 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 10,2 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina ($LQ_{MOD} = 3,15 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 6,71 \text{ mg L}^{-1}$); 3,3'-dimetilbenzidina ($LQ_{MOD} = 2,65 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 10,0 \text{ mg L}^{-1}$); 2-metoxi-5-metilanilina ($LQ_{MOD} = 2,90 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 9,42 \text{ mg L}^{-1}$); 4-cloroanilina ($LQ_{MOD} = 3,81 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 9,81 \text{ mg L}^{-1}$); 2-cloro-4-nitroanilina ($LQ_{MOD} = 4,42 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 19,5 \text{ mg L}^{-1}$); 4-aminobifenila ($LQ_{MOD} = 3,04 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 10,0 \text{ mg L}^{-1}$); 3,3'-diclorobenzidina ($LQ_{MOD} = 4,57 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 6,98 \text{ mg L}^{-1}$); 2,5-dimetilanilina ($LQ_{MOD} = 6,58 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 12,0 \text{ mg L}^{-1}$); 4-cloro-2-metilanilina ($LQ_{MOD} = 8,60 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 11,9 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina ($LQ_{MOD} = 2,95 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 13,8 \text{ mg L}^{-1}$); 1,4-diaminobenzeno ($LQ_{MOD} = 5,46 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 10,5 \text{ mg L}^{-1}$); p-aminofenol ($LQ_{MOD} = 2,95 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 10,9 \text{ mg L}^{-1}$); 4,4'-metilbenzeno-1,4-diamino ($LQ_{MOD} = 2,55 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 8,28 \text{ mg L}^{-1}$); N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno ($LQ_{MOD} = 2,92 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 5,03 \text{ mg L}^{-1}$), exceto para anilina ($LQ_{MOD} = 5,97 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 5,32 \text{ mg L}^{-1}$) e 4,4'-diaminodifenilmetano ($LQ_{MOD} = 4,60 \text{ mg L}^{-1}$; $LQ_{DE} = 4,44 \text{ mg L}^{-1}$), que foram ligeiramente menores no eletrodo modificado.

O método foi aplicado na análise de 13 amostras de tinturas comerciais sendo 4 amostras de tonalizantes masculino e 9 amostras de tinturas femininas. Nessas amostras comerciais foram detectados compostos classificados no grupo 1 segundo a IARC. Além disso foi detectada 1,4-diaminobenzeno (precursor de síntese) que provavelmente está em excesso na formulação. Em adição foram analisadas 9 amostras de água natural: água de Rio Tiete (cidade de Tietê) coletadas antes, na saída e após 2Km da saída da estação de tratamento de esgoto da cidade, água de Rio da cidade de Araraquara, esgoto sem tratamento da cidade de Araraquara e Tietê, água potável da cidade de Araraquara e esgoto tratado da cidade de Tietê e Araraquara. Em todas essas amostras foram detectadas aminas aromáticas exceto para água potável da cidade de Araraquara e esgoto tratado da cidade de Tietê e Araraquara.

Os compostos detectados nessas amostras apresentam toxicidade relativamente alta, como por exemplo, a 4-aminobifenila (grupo 1) pela IARC. Nas amostras coletadas na saída da estação de tratamento de esgoto de Tietê e Araraquara não foram detectadas aminas. Foram também coletadas água de lavagem após o tingimento do cabelo, sendo assim os compostos detectados nestas amostras mostram que alguns compostos são adicionados em excesso na formulação como por exemplo a 1,4-diaminobenzeno (precursor de síntese) que deveria ser totalmente consumido durante a oxidação com peróxido de hidrogênio.

Posteriormente, foi desenvolvido um método de cromatografia de ultra eficiência (UHPLC-MS/MS) com detector de espectrometria de massas. Nesta etapa o objetivo foi alcançar níveis compatíveis para detecção das aminas de interesse em água, onde a matriz é mais diluída. Sendo assim, foram obtidos limites de quantificação significativamente menores para todas as aminas e devido ao grande efeito de matriz que foi observado foi construído curvas analíticas para cada matriz de interesse, no modo online e offline. Os valores de limites de quantificação em solvente para o modo offline variaram entre 2,9 a 159 pg mL. Os limites de quantificação em matriz para o modo offline variou de 25,1 a 2551 pg mL⁻¹ para o influente e entre 64,1 a 3717 pg mL⁻¹, para água superficial variou entre 11,2 a 1386 pg mL⁻¹ e para água potável variou entre 2,90 a 130 pg mL⁻¹. Entretanto para o modo on-line o limite de quantificação em

solvente variaram entre 2,6 a 145 ng mL; para o influente ficaram entre 31 a 1890 pg mL⁻¹, o efluente variou-se entre 38 a 3540 pg mL⁻¹, no entanto para água potável variou entre 9,0 a 412 pg mL⁻¹ e finalmente para água superficial ficou entre 9,3 a 1155 pg mL⁻¹. Observando-se esses valores de limite de quantificação verifica-se uma grande variação, mostrando que a matriz tem uma grande influencia no resultado.

O método foi aplicado para a detecção de amins aromáticas em água potável, água superficial, influente e efluente para amostras do Brasil e Espanha. Os resultados obtidos mostraram que os tratamentos de esgoto no Brasil e na Espanha são eficientes, embora tenha sido detectada amins no esgoto tratado de ambos os locais os mesmos apresentaram menores concentrações que as iniciais. Na amostra de água potável do Brasil e da Espanha não foram detectadas amins aromáticas. Na água superficial do Brasil foram detectadas amins embora estejam em baixas concentrações podem causar danos a saúde devido a possibilidade de bioacumular no organismo.

Finalmente foi realizado o teste da toxicidades desses compostos em micro-organismos, e os resultados obtidos estão de acordo com a classificação IARC, como por exemplo, o 2-aminonaftaleno é classificado no grupo 1 da IARC e obteve-se um EC₅₀ de 5,05 mg L⁻¹, ou seja, mostrou altamente tóxico ao micro-organismo, entretanto, a 4,4'-diaminobifenila também classificada no grupo 1, apresentou um EC₅₀ bem maior 79,6 mg L⁻¹. Essa diferença pode ser explicada pela diferença na estrutura química dos dois compostos que torna-se mais fácil a interação da 2-aminonaftaleno em relação a 4,4'-diaminobifenila.

Os demais compostos analisados e a mistura deles apresentaram resultados coerentes. Os esperado para os compostos clorados seria um EC₅₀ baixo, porém a 4-cloro-2-metilanilina apresentou um EC₅₀ de 408 mg L⁻¹, porém a 4,4'-metileno-bis-(2-cloroanilina), 3,3'-diclorobenzidina, 4-cloroanilina, 2-cloro-4-nitroanilina apresentaram EC₅₀ mais baixos, ou seja, mais tóxicos, tendo EC₅₀ de 63,3; 72,3; 18,9 e 17,2 mg L⁻¹. Anilina, 2-metilanilina, 2-metoxianilina e 2,5-dimetilanilina apresentaram maiores EC₅₀, ou seja, são menos tóxicos ao micro-organismo.

Conclui-se que com o uso de líquido iônico utilizado como aditivo à fase móvel em métodos de cromatografia líquida pode ser uma excelente

alternativa para determinação de aminas usando detectores DAD ou eletroquímico. Observou-se uma significativa diminuição do limite de quantificação destes compostos bem como melhor definição e resolução dos picos cromatográficos. A modificação do detector com nanotubos de carbono também mostrou uma alternativa viável para detecção destes compostos em amostras de corantes comerciais, águas de lavagem e em amostras de águas onde a concentração é relativamente alta.

No entanto, embora menos econômico o método de UHPLC-MS/MS apresentou limites de quantificação extremamente baixos compatíveis com o requerido para detecção de aminas em águas superficiais, o que confirma sua superioridade para análise de aminas aromáticas em matrizes extremamente diluídas, presente na maioria em níveis de traços.

Referencias

- 1 PINHEIRO, H. M.; TOURAUD, E.; THOMAS, O. Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. **Dyes and Pigments**, v. 61, n. 2, p. 121-139, 2004.
- 2 BOUILLON, C.; WILKINSON, J. **The science of hair care**. 2nd. ed. London: CRC Press, 2005. 727 p.
- 3 ROBBINS, C. **Chemical and physical behavior of human hair**. 4th. ed. New York: Spring, 2002. 724 p.
- 4 MASUKAWA, Y. Separation and determination of basic dyes formulated in hair care products by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v.1108, n. 1, p.140-144, 2006.
- 5 LADEMAN, J.; RICHTER, H.; JACOBI, U.; PATZELT, A.; HUEBER-BECKER, F.; RIBAUD, C.; BENECH-KIEFFER, F.; DUFOUR, E. K.; STERRY, W.; SCHAEFER, H.; LECLAIRE, J.; TOUTAIN, H.; NOHYNEK, G. J. Human percutaneous absorption of a direct hair dye comparing *in vitro* and *in vivo* results: implications for safety assessment and animal testing. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 6, p. 2214-2223, 2008.
- 6 CORBETT, J. F. An historical review of the use of dye precursors in the formulation of commercial oxidation hair dyes. **Dyes and Pigments**, v. 41, n. 1/2, p. 127-136, 1999.
- 7 NOHYNEK, G. J.; FAUTZ, R.; KIEFFER, F. B.; TOUTAIN, H. Toxicity and human health risk of hair dyes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 517-543, 2004.
- 8 YAMAUCHI, C.; OKAZAKI, W. Application of an enzymatic method for iDentifying hair treatments. **Journal of Health Science**, v. 56, n. 6, p.708-714, 2007.
- 9 BRACHER, M.; FALLER, C.; GROTSCH, W.; MARSHALL, R.; SPENGLER, J. Studies on the potential mutagenicity of para-phenylenediamine in oxidative hair dye mixtures. **Mutation Research: Genetic Toxicology**, v. 241, n. 3, p. 313-323, 1990.
- 10 WEISBURGER, J. H. A perspective on the history and significance of carcinogenic and mutagenic N-substituted aryl compounds in human health. **Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 376, n. 1/2, p. 261-266, 1997.
- 11 CHUNG, K. T.; CERNIGLIAB, C. E. Mutagenicity of azo dyes: structure activity relationships. **Mutation Research: Reviews in Genetic Toxicology**, v. 277, n. 3, p. 201-220, 1992.

12BAJAJ, A. K.; GUPTA, S. C.; CHATTERJEE, A. K. Contact depigmentation from free para-tertiary-butylphenol in bindi adhesive. **Contact Dermatitis**, v. 22, n. 2, p. 99-102, 1990.

13WANG, S. P.; HUANG, T. H. Separation and determination of aminophenols and phenylenediamines by liquid chromatography and micellar electrokinetic capillary chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 534, n. 2, p. 207-214, 2005.

14ZHOU, J.; XU, H.; WAN, G. H.; DUAN, C. F.; CUI, H. Enhancing and inhibiting effects of aromatic compounds on luminol-dimethylsulfoxide-OH-chemiluminescence and determination of intermediates in oxidative hair dyes by HPLC with chemiluminescence detection. **Talanta**, v. 64, n. 2, p. 467-477, 2004.

15EGGENREICH, K.; GOLOUCH, S.; TOSCHER, B.; BECK, H.; KUEHNELT, D.; WINTERSTEIGER, R. Determination of 4-amino-m-cresol and 5-amino-o-cresol and metabolites in human keratinocytes (HaCaT) by high-performance liquid chromatography with DAD and MS Detection. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 61, n. 1/2, p. 23-34, 2004.

16TURESKY, R. J.; FREEMAN, J. P.; HOLLAND, R. D.; NESTORICK, D. M.; MILLER, D. W.; RATNASINGHE, D. L.; KADLUBAR, F. F. Identification of aminobiphenyl derivatives in commercial hair dyes. **Chemical Research in Toxicology**, v. 16, n. 9, p. 1162-1173, 2003.

17RASTOGI, S. C. A method for the analysis of intermediates of oxidative hair dyes in cosmetic products. **Journal of Separation Science**, v. 24, n. 3, p. 173-178, 2001.

18SCARPI, C.; NINCI, F.; CENTINI, M.; ANSELM, C. High-performance liquid chromatography determination of direct and temporary dyes in natural hair colourings. **Journal of Chromatography A**, v. 796, n. 2, p. 319-325, 1998.

19LIN, C. E.; CHEN, Y. T.; WANG, T. Z. Separation of benzenediamines, benzenediols and aminophenols in oxidative hair dyes by micellar electrokinetic chromatography using cationic surfactants. **Journal of Chromatography A**, v. 837, n. 1/2, p. 241-252, 1999.

20GENNARO, M. C.; BERTOLO, P. L.; MARENGO, E. DEtermination of aromatic-amines at trace levels by ion interaction reagent reversed-phase high-performance liquid-chromatography-analysis of hair-dyes and other water-soluble dyes. **Journal of Chromatography**, v. 518, n. 1, p. 149-156, 1990.

21GATTI, R.; GIOIA, M. G. Liquid chromatographic determination with fluorescence detection of B-6 vitamers and riboflavin in milk and pharmaceuticals. **Analytica Chimica Acta**, v. 538, n. 1/2, p. 143-148, 2005.

22TOKUDA, H.; KIMURA, Y.; TAKANO, S. Determination of dye intermediates in oxidative hair-dyes by fused-silica capillary gas-chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 367, n. 2, p. 345-356, 1986.

23ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Subject to the Emergency Planning and Community Right- To-Know Act (EPCRA), Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act (CERCLA) and Section 112(r) of the Clean Air Act. **Office of Environmental Information**, Washington, DC, 10 Oct. 2012. Disponível em: <http://www.epa.gov/osweroe1/docs/chem/list_of_lists.pdf>. Acesso em: 24 set. 2013.

24WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Agency for Research on Cancer. Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures. **Overall evaluations of carcinogenicity to humans**. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 2010. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol99/mono99.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2013.

25TETA, M. J.; WALRATH, J.; MEIGS, J. W.; FLANNERY, J. T. Cancer incidence among cosmetologists. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 72, n. 5, p. 1051-1057, 1984.

26INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants, some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Lyon, 1993.

27CANTOR, K. P.; BLAIR, A.; EVERETT, G.; VANLIER, S.; BURMEISTER, L.; DICK, F. R.; GIBSON, R. W.; SCHUMAN, L. Hair dye use and risk of leukemia and lymphoma. **American Journal of Public Health**, v. 78, n. 5, p. 570-571, 1988.

28ZAHM, S. H.; WEISENBURGER, D. D.; BABBITT, P. A.; SAAL, R. C.; VAUGHT, J. B.; BLAIR, A. Use of hair coloring products and the risk of lymphoma, multiple-myeloma, and chronic lymphocytic-leukemia american. **Journal of Public Health**, v. 82, n. 7, p. 990-997, 1992.

29ZHANG, Y. W.; HOLFORD, T. R.; LEADERER B.; BOYLE, P.; ZAHM, S. H.; FLYNN, S.; TALLINI, G.; OWENS, P. H.; ZHENG, T. Z. Hair-coloring product use and risk of non-Hodgkin's lymphoma: a population-based case-control study in Connecticut. **American Journal of Epidemiology**, v. 159, n. 2, p. 148-154, 2005.

30TAKKOUCHE, B.; ETMINAN, M.; MONTES-MARTINEZ, A. Personal use of hair dyes and risk of cancer-A meta-analysis. **JAMA: Journal of the American Medical Association**. v. 293, n. 20, p. 2516-2525, 2005.

31EVE, M.; COULTER, J. F.; KAREN, L.; MATHEWS, J. L.; MAGGS, C. K.; PEASE, D. J.; LOCKLEY, D. A.; BASKETTER, B.; KEVIN P.; DEAN, J. N. The Activation of Human dendritic Cells by *p*-Phenylenediamine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 320, n. 2, p. 885-892, 2007.

32HO, S. G. Y.; BASKETTER, D. A.; JEFFERIES, D.; RYCROFT, R. J. G.; WHITE, I. R.; MCFADDEN, J. P. Analysis of para-phenylenediamine allergic patients in relation to strength of patch test reaction. **British Journal of Dermatology**, v. 153, n. 1, p. 364-367, 2005.

33SANJOSÉ, S. DE.; BENAVENTE, Y.; NIETERS, A.; FORETOVA, L.; MAYNADIÉ, M.; COCCO, P. L.; STAINES, A.; Vornanen, M.; BOFFETTA, P.; Becker, N.; ALVARO, T.; BRENNAN, P. Association between personal use of hair dyes and lymphoid neoplasms in Europe. **American Journal of Epidemiology**. v. 164, n. 1, p. 47-55, 2006.

34AKYÜZ, M.; ATU, S. Simultaneous determination of aliphatic and aromatic amines in water and sediment samples by ion-pair extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1129, n. 1, p. 88-94, 2006.

35AKYÜZ, M. Simultaneous determination of aliphatic and aromatic amines in indoor and outdoor air samples by gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 486-492, 2007.

36SHELKE, M.; SANGHI, S. K.; ASTHANA, A.; LAMBA, S.; SHARMA, M. J. Fast separation and sensitive detection of carcinogenic aromatic amines by reversed-phase liquid chromatography coupled with electrochemical detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1/2, p. 52-58, 2005.

37MORTENSEN, S. K.; TRIER, X. T.; FOVERSKOV, A.; PETERSEN, J. H. Specific determination of 20 primary aromatic amines in aqueous food simulants by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1091, n. 1/2, p. 40-50, 2005.

38BREDE, C.; SKJEVRAK, I.; HERIKSTAD, H. Determination of primary aromatic amines in water food simulant using solid-phase analytical derivatization followed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 983, n. 1/2, p. 35-42, 2003.

39WANG, L. H.; TSAI, S. J. Simultaneous determination of oxidative hair dye *p*-phenylenediamine and its metabolites in human and rabbit biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 312, n. 2, p. 201-207, 2003.

40WEISS, T.; ANGERER, J. Simultaneous determination of various aromatic amines and metabolites of aromatic nitro compounds in urine for low level exposure using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 778, n. 1/2, p. 179-192, 2002.

41 GRIMMER, G.; DETTBARN, G.; SEIDEL, A.; JACOB, J. Detection of carcinogenic aromatic amines in the urine of non-smokers. **Science of the Total Environment**, v. 247, n. 1, p. 81-90, 2000.

42 AHLSTRÖM, L. H.; ESKILSSON, C. S.; BJÖRKLUND, E. Determination of banned azo dyes in consumer goods. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 49-56, 2005.

43 AHLSTRÖM, L. H.; RAAB, J.; MATHIASSEN, L. Application of standard addition methodology for the determination of banned azo dyes in different leather types. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, n. 1/2, p. 76-80, 2005.

44 BHASKAR, M.; GNANAMANI, A.; GANESHJEEVAN, R. J.; CHANDRASEKAR, R.; SADULLA, S.; RADHAKRISHNAN, G. Analyses of carcinogenic aromatic amines released from harmful azo colorants by *Streptomyces* SPSS07. **Journal of Chromatography A**, v. 1018, n. 1, p. 111-123, 2003.

45 GARRIGÓS, M. C.; RECHE, F.; MARÍN, M. L.; JIMÉNEZ, A. Determination of aromatic amines formed from azo colorants in toy products. **Journal of Chromatography A**, v. 976, n. 1/2, p. 309-317, 2002.

46 OH, S. W.; KANG, M. N.; CHO, C. W.; LEE, M. W. Detection of carcinogenic amines from dyestuffs or dyed substrates. **Dyes and Pigments**, v. 33, n. 2, p. 119-135, 1997.

47 BHASKAR, M.; ARUNA, P.; JEEVAN, R. J. G.; RADHAKRISHNAN, G. Beta-cyclodextrin-polyurethane polymer as solid phase extraction material for the analysis of carcinogenic aromatic amines. **Analytica Chimica Acta**, v. 509, n. 1, p. 39-45, 2004.

48 MESEGUER-LLORET, C.; MOLINS-LEGUA, P.; CAMPÍNS-FALCÓ, J. Preconcentration and dansylation of aliphatic amines using C18 solid-phase packings. Application to the screening analysis in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 978, n. 1/2, p. 59-69, 2002.

49 KATAOKA, H. Derivatization reactions for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 733, n. 1/2, p. 19-34, 1996.

50 MARIE-LOUISE, L.; ANDERS, B.; JAN, S.; STINA, J.; GUNNEL, H.; BIRGITTA, M. Occupational dermal exposure to permanent hair dyes among hairdressers. **The Annals of Occupational Hygiene**, v. 49, n. 6, p. 473-480, 2005.

51 GAGO-DOMINGUEZ, M.; CASTELAO, J. E.; YUAN, J. M.; YU, M. C.; ROSS, R. K. Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk **International Journal of Cancer**, v. 91, n. 4, p. 575-579, 2001.

52ORTONNE, J. P.; BAHADORAN, P.; FITZPATRICK, T. B. Hypomelanoses and hypermelanoses. In: FREEBERG, I. M.; EISEN, A. Z.; WOLFE, K.; AUSTEN, K. F.; GOLDSMITH, L. A.; KATZ, S. I. **Fitzpatrick's Dermatology in general**. New York: McGraw Hill, 2003. p. 836-881.

53JIMBOW, K.; JIMBOW, M. Chemical and pharmacologic agents. In: NORLUND, J. J.; BOISSY, R. E.; HEARING, V. J. **Pigmentary system: physiology and pathophysiology**. New York: Oxford University Press, 1998. p. 618-624.

54BAJAJ, A. K. **Chemical leukoerma**. In: VALIA, R. G.; VALIA, A. **What's new in Dermatology**: STDs and Leprosy. Mumbai: Fulford, 2004. p. 3-5.

55PIRILA, V.; FREGERT, S.; BANDMANN, H. J.; CALAN, C. D.; CRONIN, E.; HJORTH, N.; MAGNUSSO, B.; MAIBACH, H. I.; MALTEN, K. E.; MENECHIN, C. L.; WILKINSO, D. S. Legislation on occupational Dermatoses. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 51, n. 2, p. 141-150, 1971.

56PANDHI, R. K.; KUMAR, A. S. Contact leukoderma due to bindi and footwear. **Dermatologica**, v. 170, n. 5, p. 260-262, 1985.

57MUNIRAJ, S.; SHIH, H-K.; CHEN, Y-F.; Hsieh, C.; Ponnusamy, V. K.; JEN, J-F. Novel one-step headspace dynamic in-syringe liquid phase derivatization-extraction technique for the determination of aqueous aliphatic amines by liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1296, n. 1, p. 104-110, 2013.

58SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. I. **Practical HPLC method development**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. p. 765.

59SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. I. **Introduction to modern liquid chromatography**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979. p. 896.

60KISSINGER, P. T. Electrochemical DETectors. In: VICKREY, T. H. **Liquid chromatography detectors**. New York: Marcel dekker, 1986. v. 23, cap. 4, p. 125-164.

61CASELLA, I. G.; PICERNO, F. Determination of tetracycline residues by liquid chromatography coupled with electrochemical detection and solid phase extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 19, p. 8735-8741, 2009.

62MARTINS, I.; CANAES, L. S.; DORETTO, K. M.; RATH, S. Boron-doped diamond electrode coupled to liquid chromatography: application to simultaneous determination of benzodiazepines. **Electroanalysis**, v. 22, n. 4, p. 455-462, 2010.

63CASSIANO, N. M.; BARREIRO, J. C.; MORAES, M. C.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Restricted access media supports for direct high-throughput analysis of biological fluid samples: review of recent applications. **Analytica Chimica Acta**, v. 654, n. 3, p. 127-132, 2009.

64MEYER, A.; BLÖMEKE, B.; FISCHER, K. Determination of p-phenylenediamine and its metabolites MAPPD and DAPPD in biological samples using HPLC-DAD and amperometric detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 877, n. 16/17, p. 1627-1633, 2009.

65PAN, Y.; CHEN, F.; ZHANG, M.; WANG, T.; XU, Z.; ZHANG, W.; CHU, Q.; YE, J. Sensitive determination of chloroanilines in water samples by hollow fiber-based liquid-phase microextraction prior to capillary electrophoresis with amperometric detection. **Electrophoresis**, v. 34, n. 8, p. 1241-1248, 2013.

66AL-KINDY, S. M. Z.; AL-KALBANI, A.; AL-HARASI, A. F.; SULIMAN, F. E. O.; AL-LAWATI, H. J.; AL-HAMADI, A. High-performance liquid chromatography determination of anilines with fluorescent detection and pre-column derivatization. **Instrumentation Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 48-59, 2013.

67RAMKUMAR, A.; PONNUSAMY, V. K.; JEN, J. Rapid determination of indapamide in human urine using novel low-density solvent based ultrasound assisted emulsification microextraction coupled with high performance liquid chromatography-variable wavelength detection. **Analytical Methods**, v. 5, n. 10, p. 2572-2577, 2013.

68BAREK, J.; PACÁKOVÁ, V.; STULÍK, K.; ZIMA, J. Monitoring of aromatic-amines by hplc with electrochemical detection - comparison of methods for destruction of carcinogenic aromatic-amines in laboratory wastes. **Talanta**, v. 32, n. 4, p. 279-283, 1985.

69VISSER, A. E.; SWATLOSKI, R. P.; REICHERT, W. M.; MAYTON, R.; SHEFF, S.; WIERZBICKI, A.; DAVIS, J. H.; ROGERS, R. D. Task-specific ionic liquids incorporating novel cations for the coordination and extraction of Hg^{2+} and Cd^{2+} : synthesis, characterization, and extraction studies. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 11, p. 2523-2529, 2002.

70WELTON, T. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 8, p. 2071-2084, 1999.

71PANDEY, S. Analytical applications of room-temperature ionic liquids: a review of recent efforts. **Analytica Chimica Acta**, v. 556, n. 1, p. 38-45, 2006.

72LIU, J. F.; JONSSON, J. A.; JIANG, G. B. Application of ionic liquids in analytical chemistry. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 20-27, 2005.

73MARSH, K. N.; BOXALL, J. A.; LICHTENTHALER, R. Room temperature ionic liquids and their mixtures-a review. **Fluid Phase Equilibria**, v. 219, n. 1, p. 93-98, 2004.

74OLIVIER-BOURBIGOU, H.; MAGNA, L. Ionic liquids: perspectives for organic and catalytic reactions. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 182, n. 1, p. 419-437, 2002.

75KOEL, M. Ionic liquids in chemical analysis. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 177-192, 2005.

76FORSYTH, S. A.; PRINGLE, J. M.; MacFARLANE, D. R. Ionic liquids-An overview. **Australian Journal of Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 113-119, 2004.

77CARMICHAEL, A. J.; EARLE, M. J.; HOLBREY, J. D.; McCORMAC, P. B.; SDEDON, K. R. The Heck reaction in ionic liquids: a multiphasic catalyst system. **Organic Letters**, v. 1, n. 7, p. 997-1000, 1999.

78WILKES, J. S. A short history of ionic liquids-from molten salts to neoteric solvents. **Green Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 73-80, 2002.

79KRUPCZYNSKA, K.; BUSZEWSKI, B. Characterizing HPLC stationary phases. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 13, p. 226A-234A, 2004.

80VERVOORT, R. J. M.; MARIS, F. A.; HINDRIKS, H. Comparison of high-performance liquid-chromatographic methods for the analysis of basic drugs. **Journal of Chromatography**, v. 623, n. 2, p. 207-220, 1992.

81CLAESSENS, H. A. Trends and progress in the characterization of stationary phases for reversed-phase liquid chromatography. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 10, p. 563-583, 2001.

82RETA, M.; CARR, P. W. Comparative study of divalent metals and amines as silanol-blocking agents in reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 855, n. 1, p. 121-127, 1999.

83RIGHETTI, P. G.; GELFI, C.; VERZOLA, B.; CASTELLETTI, L. The state of the art of dynamic coatings. **Electrophoresis**, v. 22, n. 4, p. 603-611, 2001.

84BERTHOD, A.; RUIZ-ANGEL, M. J.; HUGUET, S. Nonmolecular solvents in separation methods: dual nature of room temperature ionic liquids. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 13, p. 4071-4080, 2005.

85PAN, L.; LOBRUTTO, R.; KAZAKEVICH, Y.; THOMPSON, R. Influence of inorganic mobile phase additives on the retention, efficiency and peak symmetry of protonated basic compounds in reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1049, n. 1/2, p. 63-73, 2004.

86WAICHIGO, M. M.; RIECHEL, T. L.; DANIELSON, N. D. Ethylammonium acetate as a mobile phase modifier for reversed phase liquid chromatography. **Chromatographia**, v. 61, n. 1/2, p. 17-23, 2005.

87HE, L. J.; ZHANG, W. Z.; ZHAO, L.; LIU, X.; JIANG, S. X. Effect of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the eluent on the separation of ephedrine by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1007, n. 1/2, p. 39-45, 2003.

88HE, L. J.; ZHANG, W. Z.; GU, Y. L.; LIU, X.; JIANG, S. X. Effect of ionic liquids as mobile phase additives on retention of catecholamines in reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Analytical Letters**, v. 36, n. 4, p. 827-838, 2003.

89KALISZAN, R.; MARSZAŁŁ, M. P.; MARKUSZEWSKI, M. J.; BACZEK, T.; PERNAK, J. Suppression of deleterious effects of free silanols in liquid chromatography by imidazolium tetrafluoroborate ionic liquids. **Journal of Chromatography A**, v. 1030, n. 1/2, p. 263-271, 2004.

90POLYAKOVA, Y.; JIN, Y. Z.; ZHENG, J. Z.; ROW, K. H. Effect of concentration of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium, tetrafluoroborate, for retention and separation of some amino and nucleic acids. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 29, n. 12, p. 1687-1701, 2006.

91MARSZAŁŁ, M. P.; BACZEK, T.; KALISZAN R. Reduction of silanophilic interactions in liquid chromatography with the use of ionic liquids. **Analytical Chimica Acta**, v. 547, n. 2, p. 172-178, 2005.

92RUIZ-ANGEL, M. J.; CARDA-BROCH, S.; BERTHOD, A. Ionic liquids versus triethylamine as mobile phase additives in the analysis of beta-blockers. **Journal of Chromatography A**, v. 1119, n. 1/2, p. 202-208, 2006.

93POLYAKOVA, Y.; JIN, Y.; ZHENG, J.; ROW, K. H. Effect of concentration of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium, tetrafluoroborate, for retention and separation of some amino and nucleic acids. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 29, n. 12, p. 1687-1701, 2006.

94ZHENG, J.; POLYAKOVA, Y.; ROW, K. H. Effects of ionic liquid as additive and the pH of the mobile phase on the retention factors of amino benzoic acids in RP-HPLC. **Journal of Chromatography Science**, v. 45, n. 5, p. 256-262, 2007.

95ZHENG, J.; POLYAKOVA, Y.; ROW, K. H. Retention factors and resolutions of amino benzoic acid isomers with some ionic liquids. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 11, n. 6, p. 477-483, 2006.

96HUA, J. C.; POLYAKOVA, Y.; ROW, K. H. Effect of concentration of ionic liquids on resolution of nucleotides in reversed-phase liquid chromatography. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 28, n. 4, p. 601-606, 2007.

97BUSZEWSKI, B.; STUDZINSKA, S. A review of ionic liquids in chromatographic and electromigration techniques. **Chromatographia**, v. 68, p. 1-10, 2008.

98ROGERS, S. D.; DORSEY, G. Chromatographic silanol activity test procedures: the quest for a universal test. **Journal of Chromatography A**, v. 892, n. 1/2, p. 57-65, 2000.

99WEI, D.; IVASKA, A. Applications of ionic liquids in electrochemical sensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 607, n. 2, p. 126-135, 2008.

100 ZHANG, J.; BOND, A. M. Comparison of voltammetric data obtained for the trans-[Mn(CN)(CO)(2){P(OPh)3}(Ph2PCH2PPh2)](0/+) process in BMIM center dot PF₆ ionic liquid under microchemical and conventional conditions. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 24, p. 6938-6948, 2003.

101 BROOKS, C. A.; DOHERTY, A. P. Concentration-dependent diffusion in room temperature ionic liquids: a microelectrode study. **Electrochemistry Communications**, v. 6, n. 8, p. 867-871, 2004.

102 YANES, E. G.; GRATZ, S. R.; BALDWIN, M. J.; ROBISON, S. E.; STALCUP, A. M. Capillary electrophoretic application of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids. **Analytical Chemistry**, v. 73, n. 16, p. 3838-3844, 2001.

103 HE, L. J.; ZHANG, W. Z.; ZHAO, L.; LIU, X.; JIANG, S. X. Effect of 1-alkyl-3-methylimidazolium-based ionic liquids as the eluent on the separation of ephedrine by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1007, n. 1/2, p. 39-45, 2003.

104 WANG, Y.; TIAN, M. L.; BI, W. T.; ROW, K. H. Application of ionic liquids in high performance reversed-phase chromatography. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 6, p. 2591-2610, 2009.

105 MARTIN, A. C.; TEJRAL, G.; AYALA, J. H.; GONZALEZ, V.; AFONSO, A. M. Suitability of ionic liquids as mobile-phase additives in HPLC with fluorescence and UV detection for the determination of heterocyclic aromatic amines. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 2, p. 182-190, 2010.

106 O'MAHONY, A. M.; SILVESTER, D. S.; ALDOUS, L.; HARDACRE, C.; COMPTON, R. G. Effect of water on the electrochemical window and potential limits of room-temperature ionic liquids. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 53, n. 12, p. 2884-2891, 2008.

107 JARA-ULLOA, P.; BOLLO, S.; NUNEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A. Voltammetric reduction of a 4-nitroimidazole derivative on a multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 20, n. 13, p. 1470-1474, 2008.

108 HERBST, M. H.; MACDEO, M. L. F.; ROCCO, A. M. Technology of carbon nanotubes: trends and perspectives of a multidisciplinary area. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 986-992, 2004.

109 ZANONI, M. V. B.; ROGERS, E. I.; HARDACRE, C.; COMPTON, R. G. Using room temperature ionic liquids as solvents to probe structural effects in electro-reduction processes. Electrochemical behavior of mutagenic disperse nitroazo dyes in room temperature ionic liquids. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 4, n. 12, p. 1607-1627, 2009.

110 MALEKI, N.; SAFAVI, A.; TAJABADI, F. High-performance carbon composite electrode based on an ionic liquid as a binder. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 3820-3826, 2006.

111 IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, n. 6358, p. 56-58, 1991.

112 GEORGE, S.; LEE, H. K. Simultaneous electrochemical detection of carcinogenic polycyclic aromatic amines in environmental samples using single-walled carbon nanotube-gold nanoparticle composite. **Analytical Methods**, v. 2, n. 4, p. 326-334, 2010.

113 BANKS, C. E.; COMPTON, R. G. Exploring the electrocatalytic sites of carbon nanotubes for NADH detection: an edge plane pyrolytic graphite electrode study. **Analyst**, v. 130, n. 9, p. 1232-1239, 2005.

114 BANKS, C. E.; CROSSLEY, A.; SALTER, C.; WILKINS, S. J.; COMPTON, R. G. Carbon nanotubes contain metal impurities which are responsible for the "electrocatalysis" seen at some nanotube-modified electrodes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 16, p. 2533, 2006.

115 VINEIS, P.; PIRASTU, R. Aromatic amines and cancer. **Cancer Causes and Control**, v. 8, n. 3, p. 346-355, 1997.

116 WIRTS, M.; SALTHAMMER, T. Isocyanate emission from PUR adhesives: influence of temperature, monomer content, and curing mechanism. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 8, p. 1827-1832, 2002.

117 BAILEY, J. E. Determination of unsulfonated aromatic-amines in d-and-c red no 33 by the diazotization and coupling procedure followed by reversed-phase liquid-chromatographic analysis. **Analytical Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 189-196, 1985.

118 BAILEY, J. E.; BAILEY, C. J. Determination of aromatic-amines in fd-yellow and c-yellow no-5 by diazotization and coupling followed by reversed-phase hplc. **Talanta**, v. 32, n. 9, p. 875-882, 1985.

119 OH, S. W.; KANG, M. N.; CHO, C. W.; LEE, M. W. Detection of carcinogenic amines from dyestuffs or dyed substrates. **Dyes and Pigments**, v. 33, n. 2, p. 119-135, 1997.

120 CHUNG, K. T. Mutagenicity and carcinogenicity of aromatic amines metabolically produced from azo dyes. **Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews-Part C: Journal of Environmental Science and Health**. v. 18, n. 1, p. 51-74, 2000.

121 CHUNG, K. T.; CERNIGLIAB, C. E. Mutagenicity of azo dyes: structure activity relationships. **Mutation Research Reviews: Genetic Toxicology**, v. 277, n. 1, p. 201-220, 1992.

122 LIZIER, T. M.; ZANONI, M. V. B. Effect of ionic liquid on the determination of aromatic amines as contaminants in hair dyes by liquid chromatography coupled to electrochemical detection. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 7961-7979, 2012.

123 OLIVEIRA, D. P.; CARNEIRO, P. A.; SAKAGAMI, M. K.; ZANONI, M. V. B.; UMBUZEIRO, G. A. Chemical characterization of a dye processing plant effluent - identification of the mutagenic components. **Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 626, n. 1/2, p.135-142, 2007.

124 VOYKSNER, R. D.; STRAUB, R.; KEEVER, J. T.; FREEMAN, H. S.; HSU, W. N. Determination of aromatic-amines originating from azo dyes by chemical-reduction combined with liquid-chromatography mass-spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v, 27, n. 8, p. 1665-1672, 1993.

125 MORTENSEN, S. K. M.; TRIER, X. T.; FOREVERSKOV, A.; PERTENSEN, J. H. Specific determination of 20 primary aromatic amines in aqueous food simulants by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1091, n. 1/2, p. 40-50, 2005.

126 BARCELO-BARRACHINA, E.; MOYANO, M. T.; GALCERAN, J. L.; LLIBERIA, B.; BAGO, M. A. Cortes. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of heterocyclic amines in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1125, n. 2, p. 195-203, 2006.

127 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta pública nº 51 DE 31 DE Agosto DE 2012. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 set. 2012. Disponível em: <<http://brasilsus.com.br/legislacoes/gm/114964-51.html>>. Acesso em: 29 set. 2013.

128 KIM, H.; HUH, I.; JUNG, M.; SHIN, H. Ultra-trace level determinations of benzidine and dichlorobenzidine residues in surface water by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**. v. 93, n. 9, p. 999-1007, 2013.

129 LI, Q. Z.; ZHOU, M. H.; LIU, Y. F.; ZHAI, C. P.; ZHENG, J. G.; WANG, Y. Y. LI, R.; WANG, L.; GAO, X.; DU, G.; ZHAI, H.; WANG, X. GUO, G.; PU, Q.; Rapid separation and sensitive determination of banned aromatic amines with

materials by liquid chromatography -tandem mass spectrometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 25-30, 2013.

130 ZANONI, M. V. B.; ROGERS, E. L.; HARDACRE, C.; COMPTON, R. G. The electrochemical reduction of the purines guanine and adenine at platinum electrodes in several room temperature ionic liquids. **Analytica Chimica Acta**, v. 659, n. 1/2, p. 115-121, 2010.

131 WAN, Q.; WANG, X.; YU, F.; WANG, X.; YANG, N. Poly(taurine)/MWNT-modified glassy carbon electrodes for the detection of acetaminophen. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 39, n. 6, p. 785-790, 2009.

132 LI, R.; WANG, L.; GAO, X.; DU, G.; ZHAI, H.; WANG, X. GUO, G.; PU, Q.; Rapid separation and sensitive determination of banned aromatic amines with plastic microchip electrophoresis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 248/249, n. 1, p. 268-275, 2013.

133 BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Disponível em: <<http://mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em :29 set. 2013.

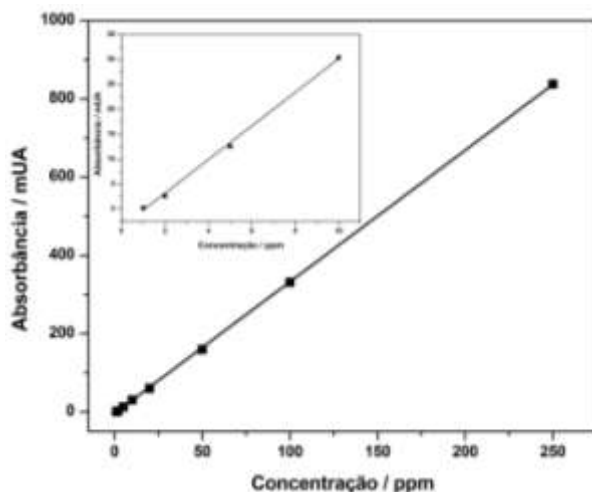
134 MUNIRAJ, S.; SHIH, H-K.; CHEN, Y-F.; HSIECH, C.; PONNUSAMY, V. K.; JEN, J-F. Novel one-step headspace dynamic in-syringe liquid phase derivatization-extraction technique for the determination of aqueous aliphatic amines by liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1296, n. 1, p. 104-110, 2013.

Anexo 1

A) Curva Analítica HPLC-DAD-grupo 1.

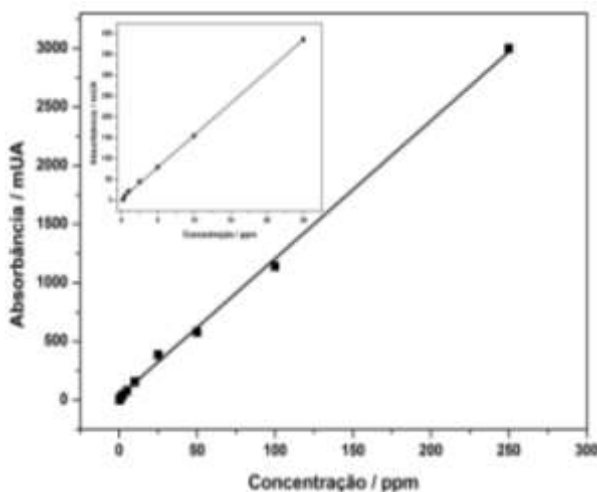
1) 2,4-diaminotoluidina

Figura 38: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



2) 2-cloro-4-nitroanilina

Figura 39: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



3) 2-metoxi-5-metilanilina

Figura 40: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxi-5-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

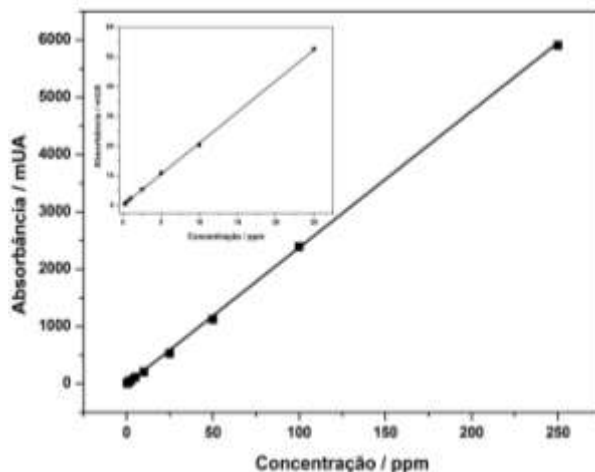
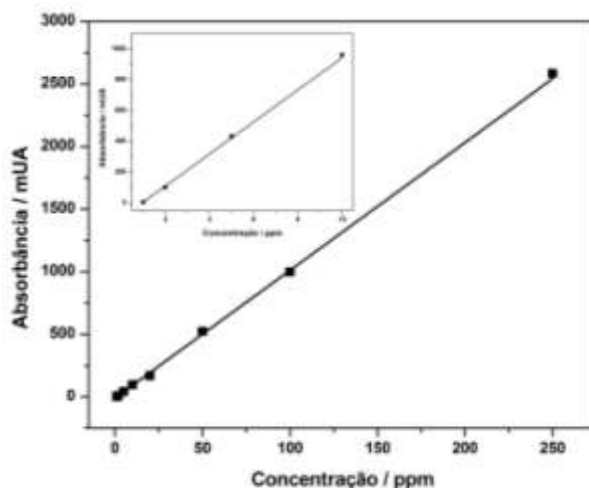
**4) 2-aminonaftaleno**

Figura 41: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-aminonaftaleno solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



5) 3,3'-diclorobenzidina

Figura 42: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção DE 20 μ L da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

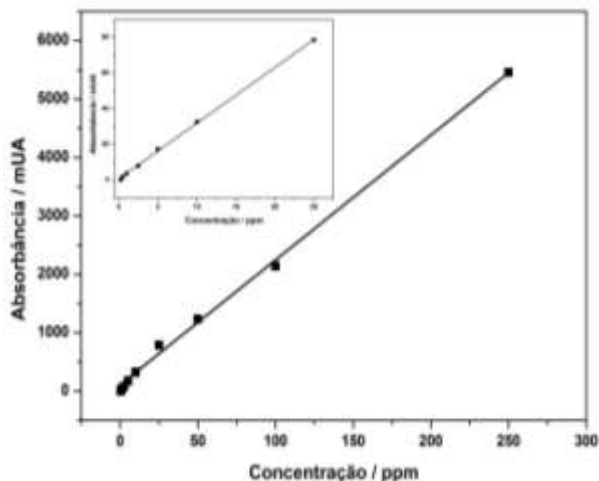
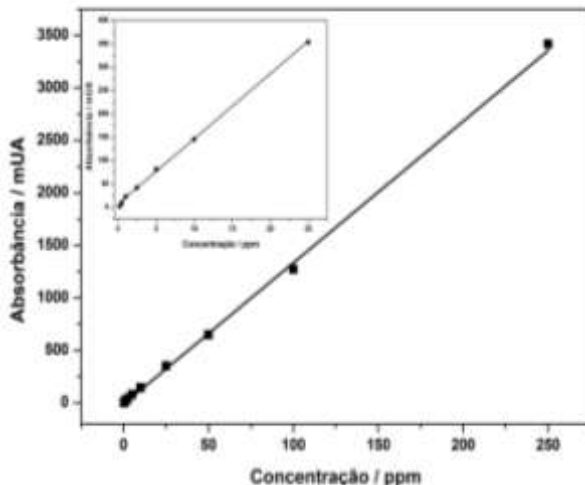
**6) 3,3'-dimetilbenzidina**

Figura 43: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



7) 4,4'-diaminodifenilmetano

Figura 44: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

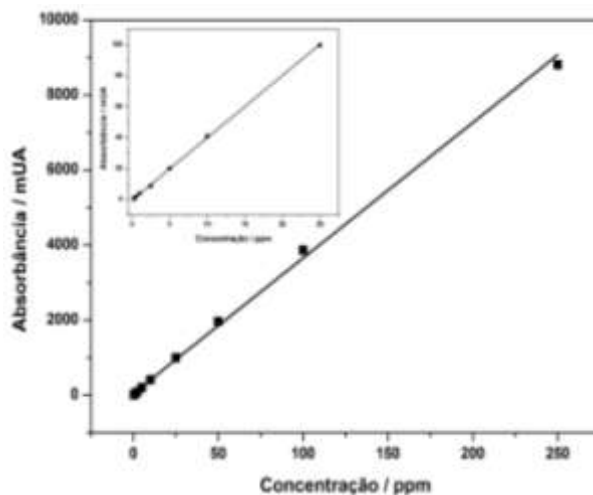
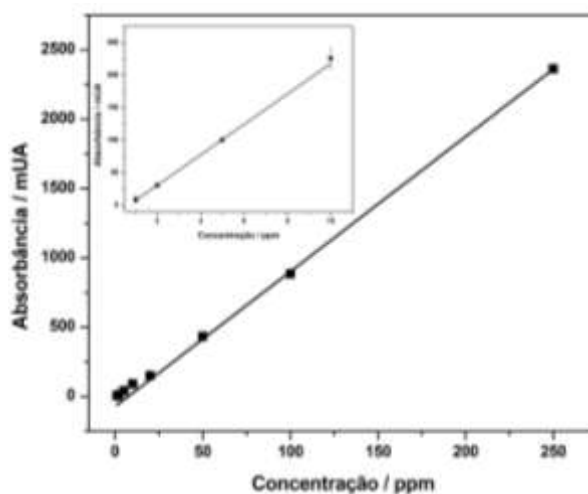
**8) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina**

Figura 45: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



9) 4-aminobifenila

Figura 46 Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção DE 20 μ L da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

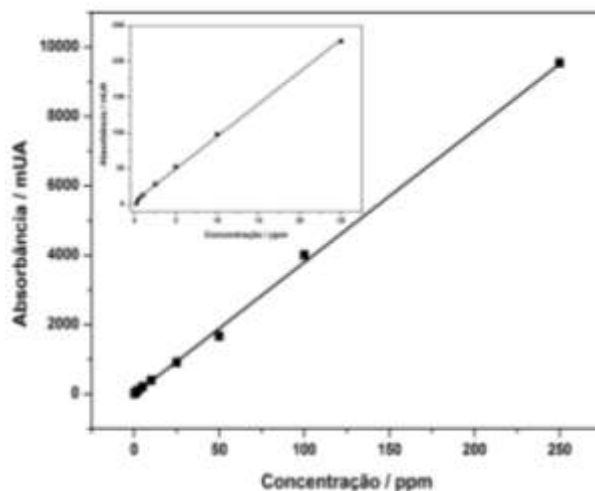
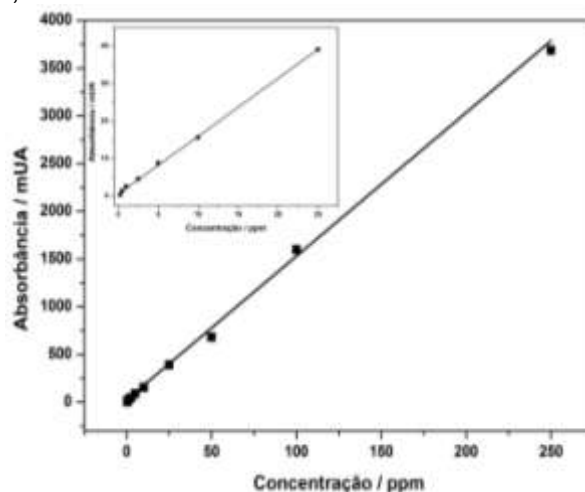
**10) 4-cloroanilina**

Figura 47: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18



11) Anilina

Figura 48: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

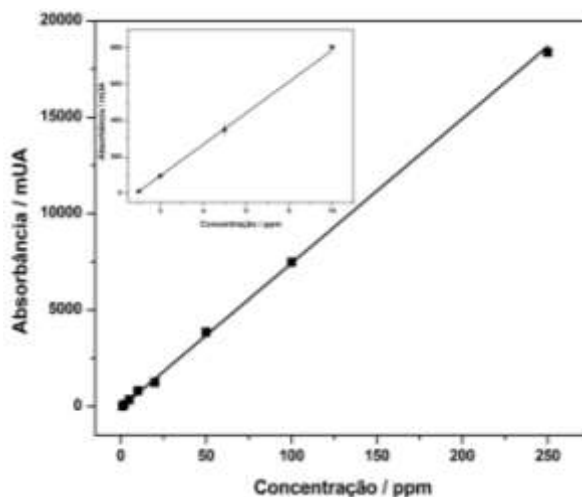
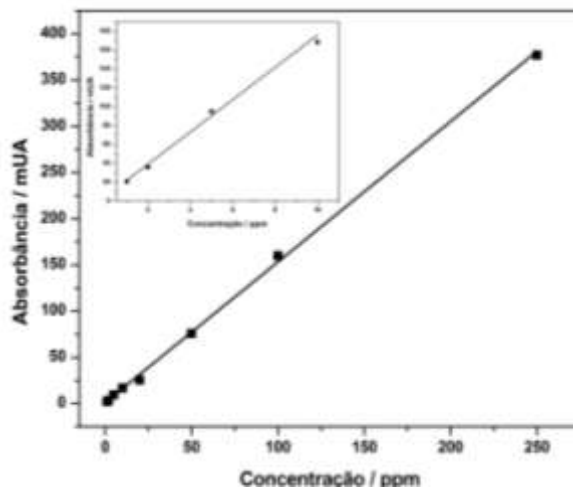
**12) 4,4'-diaminobifenila**

Figura 49: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



13) 2-metoxianilina

Figura 50: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18

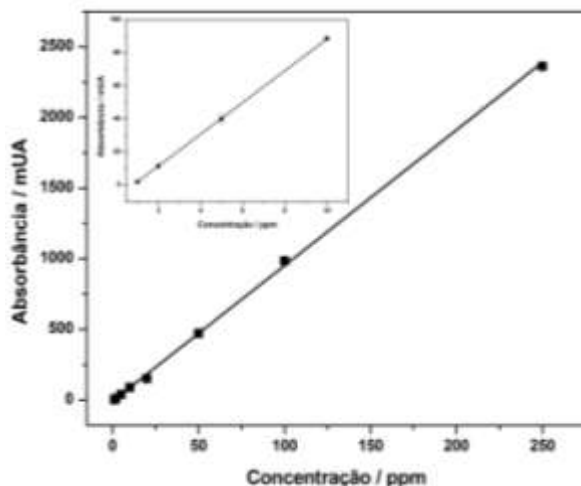
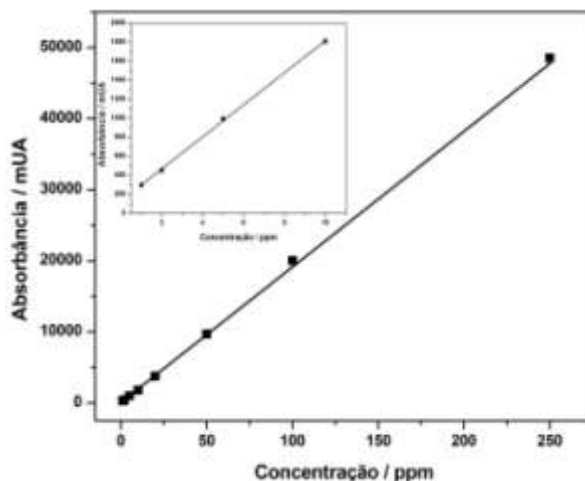
**14) 2-metilanilina**

Figura 51: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



15) 4,4'-oxidianilina

Figura 52: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

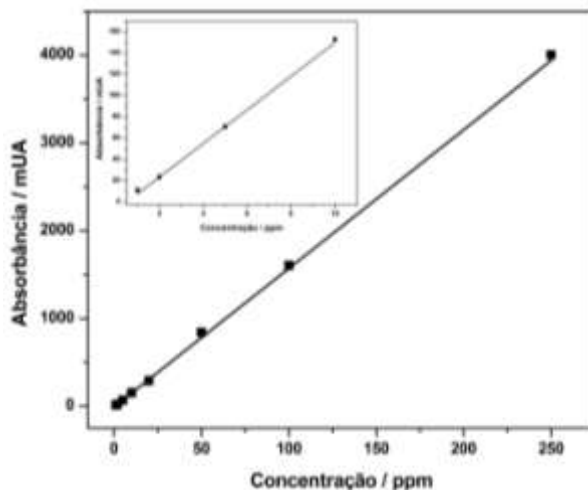
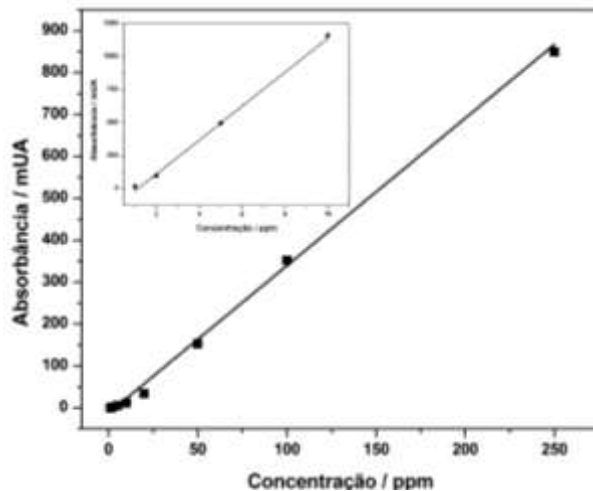
**16) 3,3'-dimetoxibenzidina**

Figura 53: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



B) Curva Analítica HPLC-DAD-grupo 2.**1) 2,5-dimetilanilina**

Figura 54: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

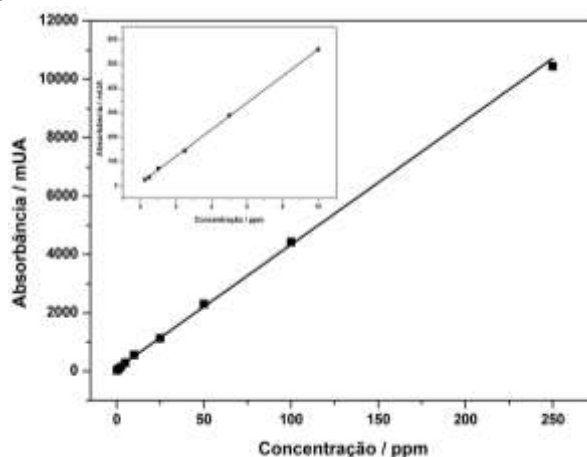
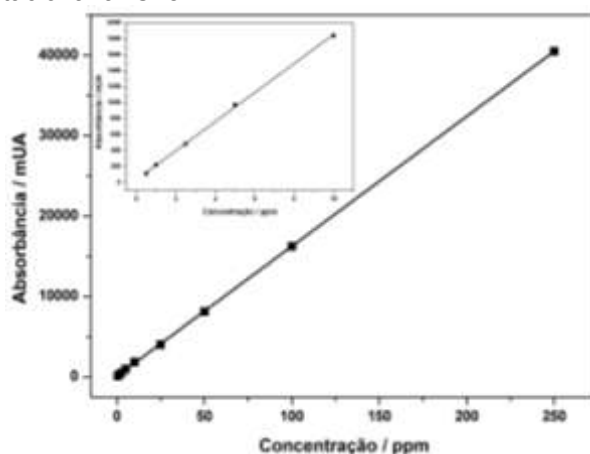
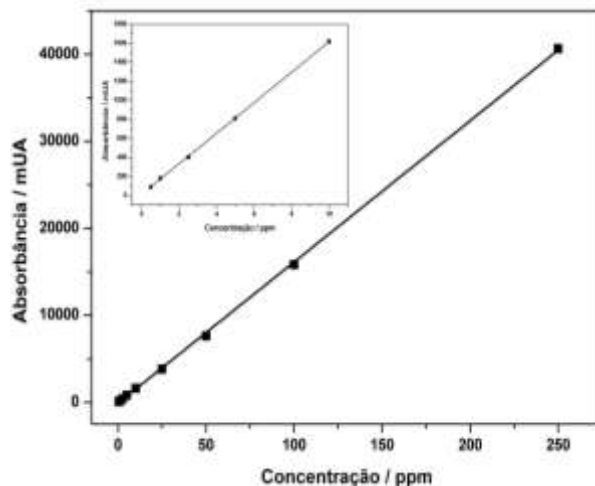
**2) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina**

Figura 55: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



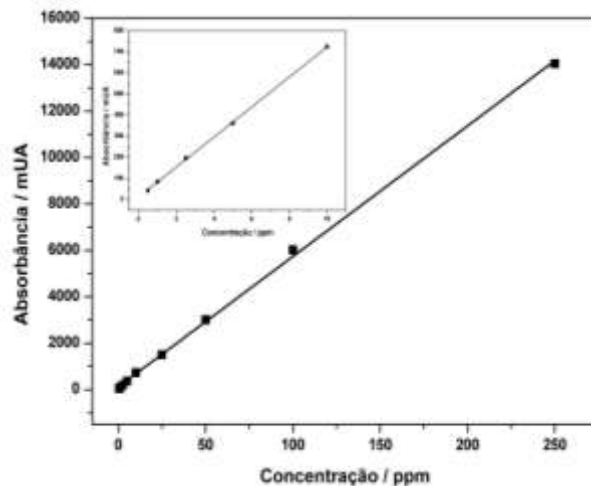
3) 4-cloro-2-metilanilina

Figura 56: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



4) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno

Figura 57: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



5) p-aminofenol

Figura 58: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

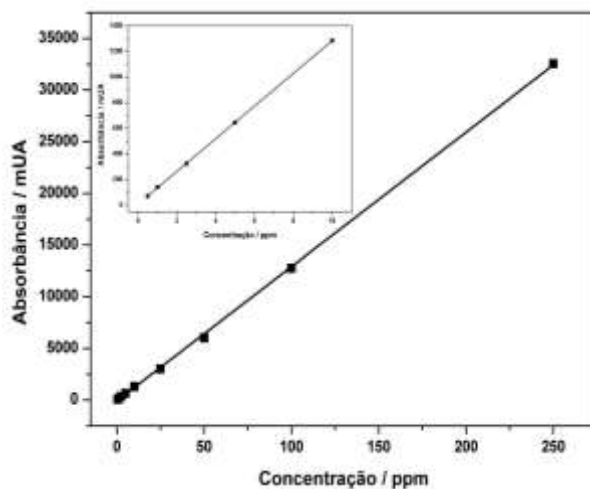
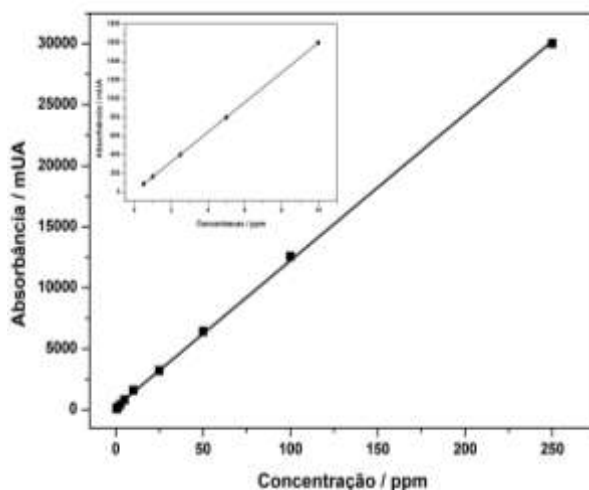
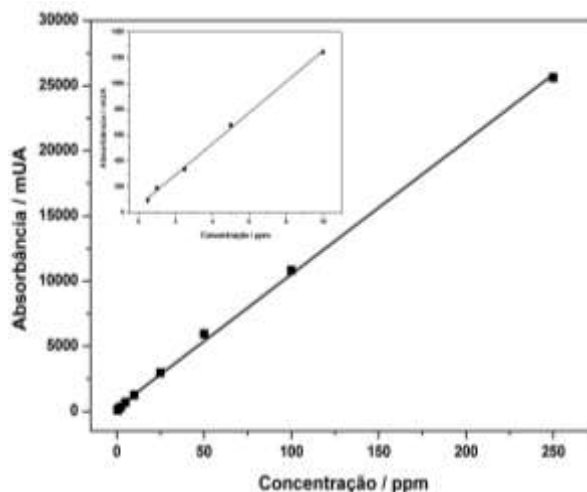
**6) 1,4-diaminobenzeno**

Figura 59: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



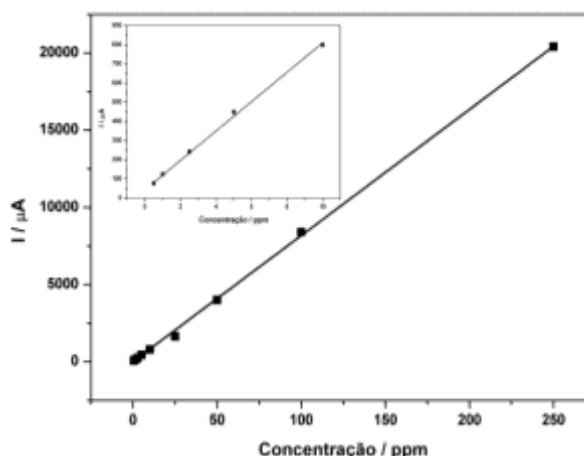
7) 2-metilbenzeno-1,4-diamina

Figura 60: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em HPLC-DAD para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

*C) Curva Analítica HPLC-ED-grupo 1.*

1) 2,4-diaminotoluidina

Figura 61: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



2) 2-cloro-4-nitroanilina

Figura 62: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

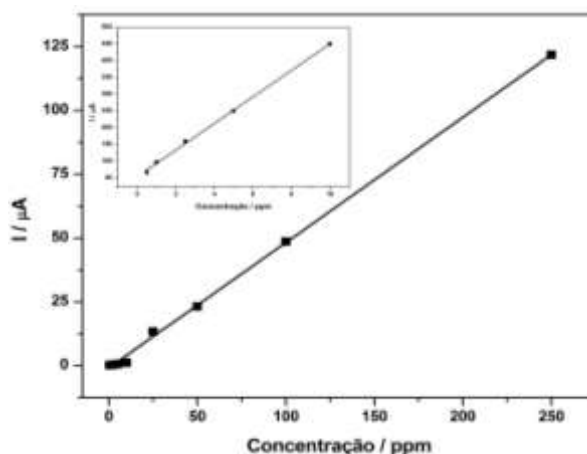
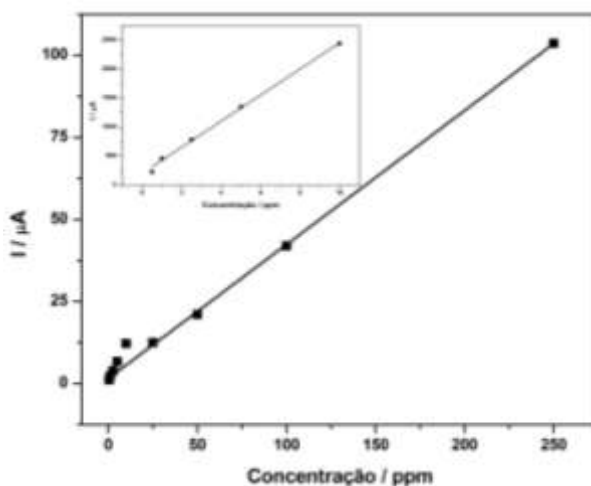
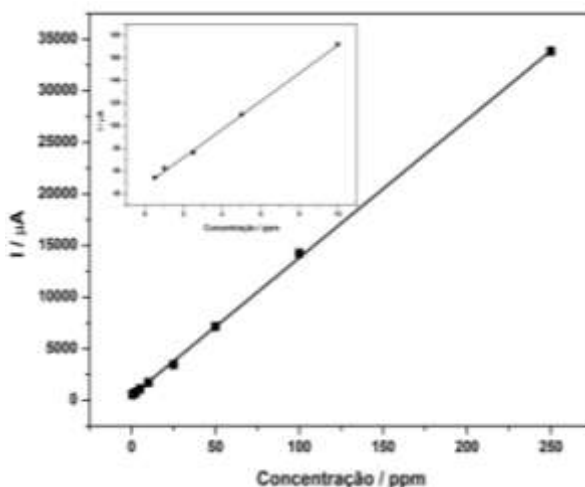
**3) 2-metoxi-5-metilanilina**

Figura 63: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxi-5-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



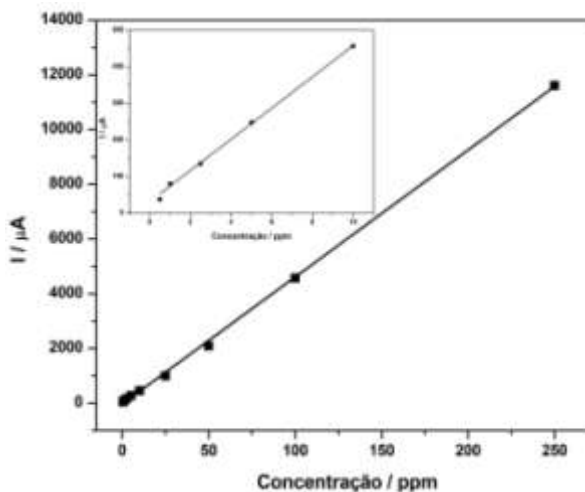
4) 2-aminonaftaleno

Figura 64: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2-aminonaftaleno solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



5) 3,3'-diclorobenzidina

Figura 65: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



6) 3,3'-dimetilbenzidina

Figura 66: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

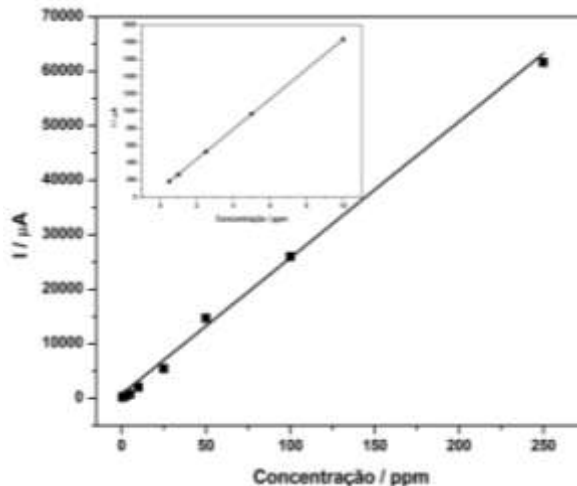
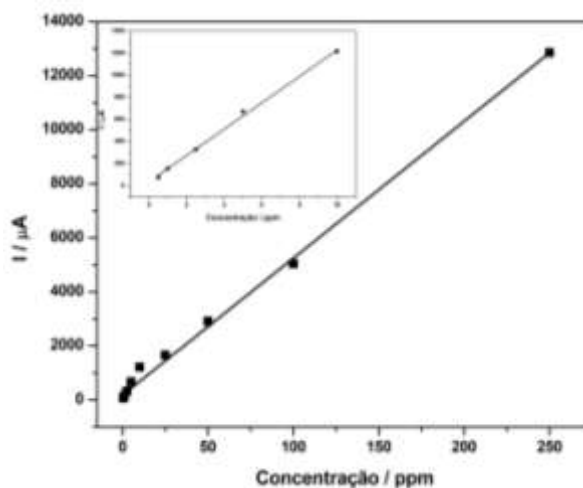
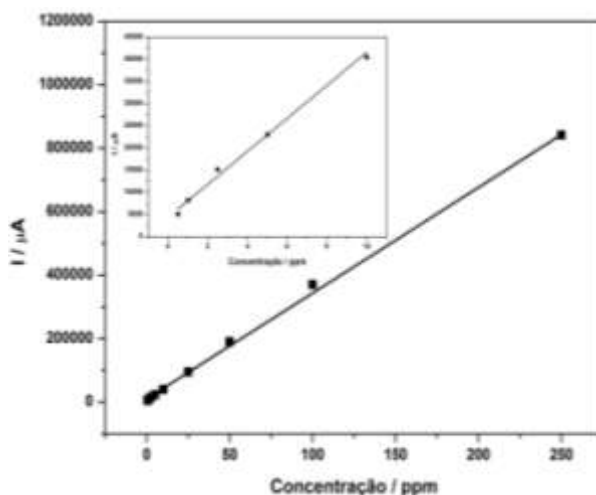
**7) 4,4'-diaminodifenilmetano**

Figura 67: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



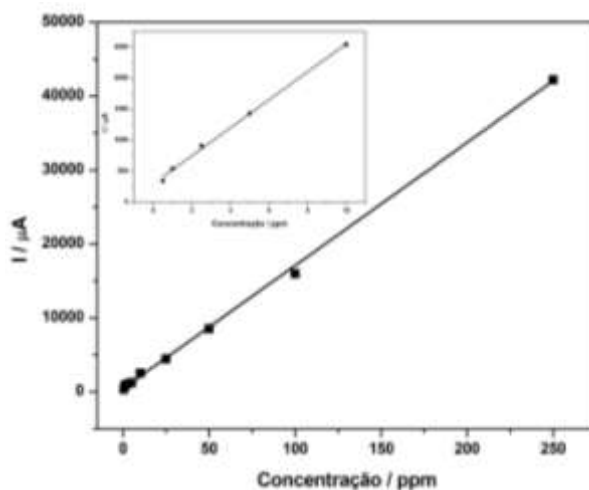
8) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina

Figura 68: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



9) 4-aminobifenila

Figura 69: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



10) 4-cloroanilina

Figura 70: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

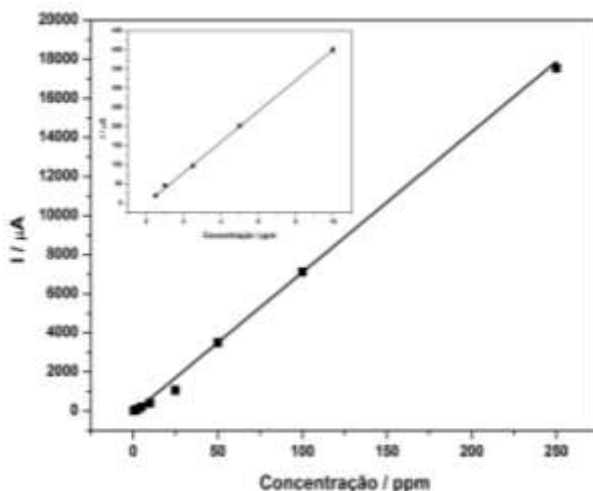
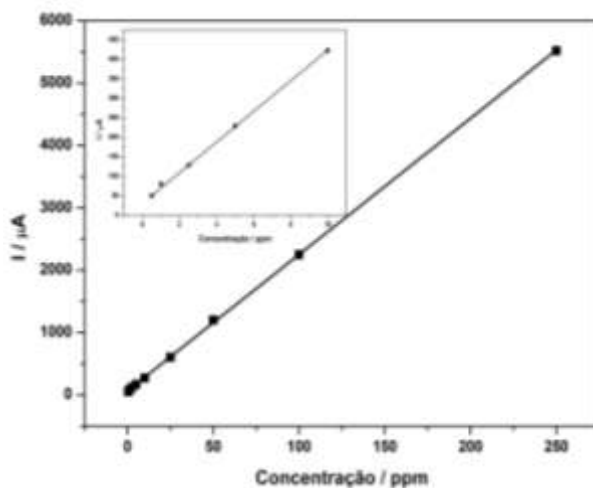
**11) Anilina**

Figura 71: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



12) 4,4'-diaminobifenila

Figura 72: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

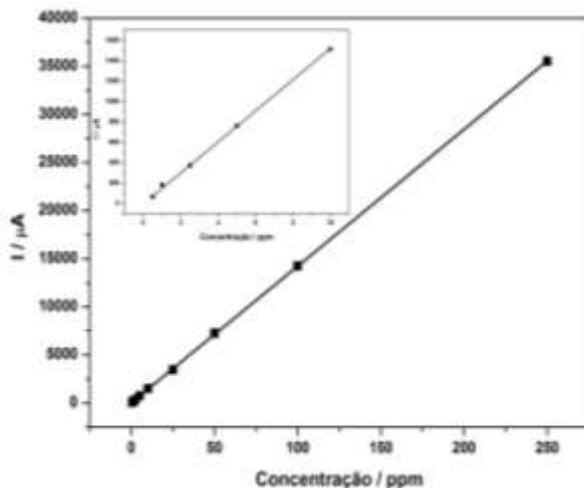
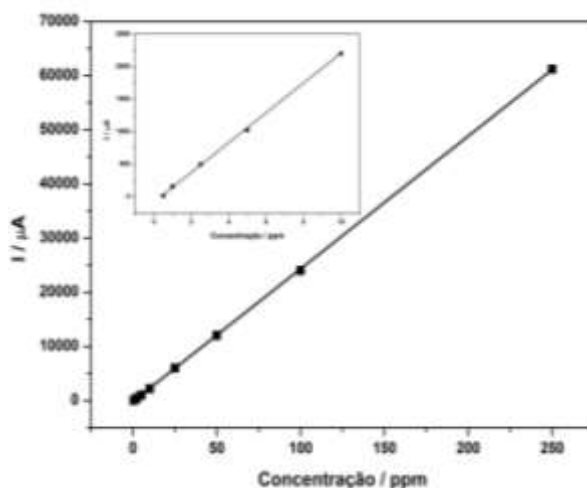
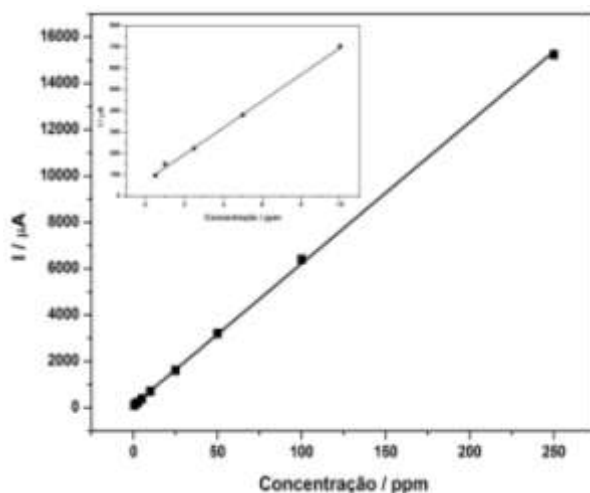
**13) 2-metoxianilina**

Figura 73: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



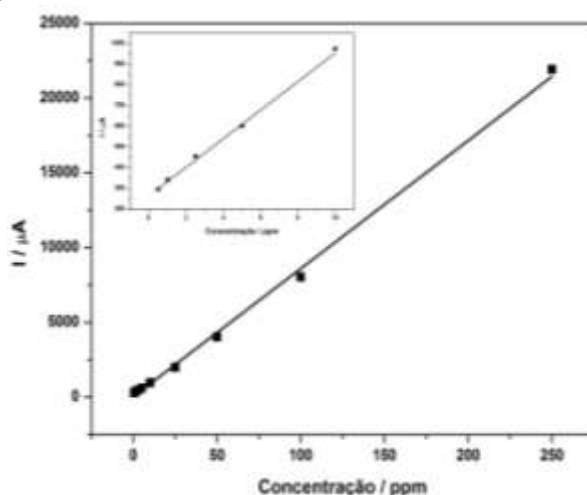
14) 3,3'-dimetoxibenzidina

Figura 74: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



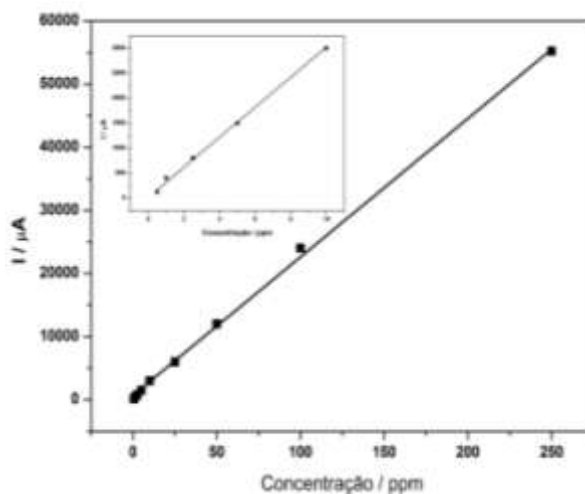
15) 2-metilanilina

Figura 75: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



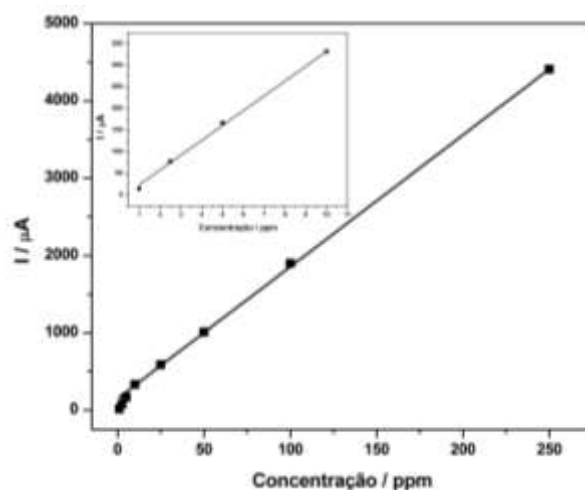
16) 4,4'-oxidianilina

Figura 76: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18

*D) Curva Analítica HPLC-ED-grupo 2.*

1) 2,5-dimetilanilina

Figura 77: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



2) 4,4'-metileno-2-metilanilina

Figura 78: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

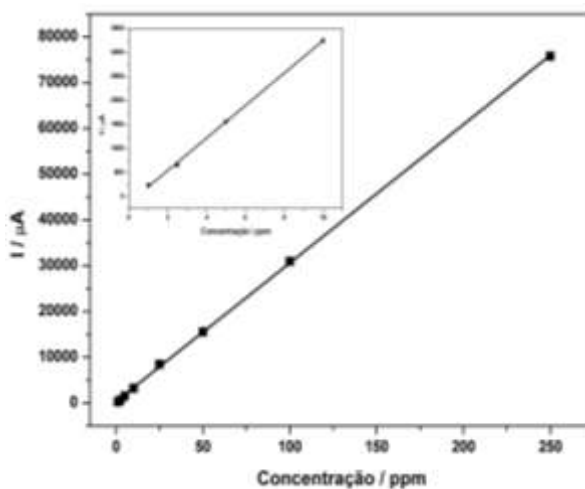
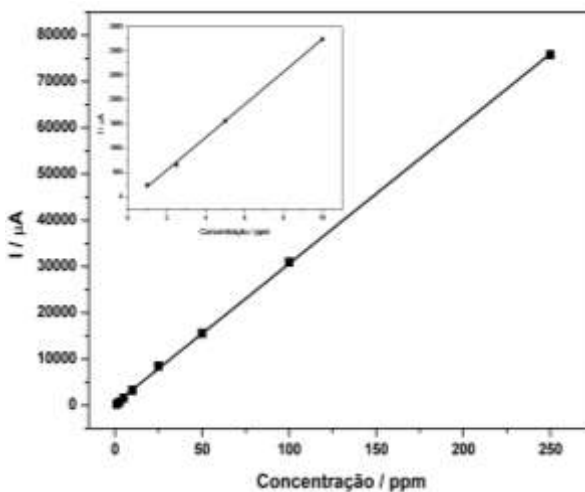
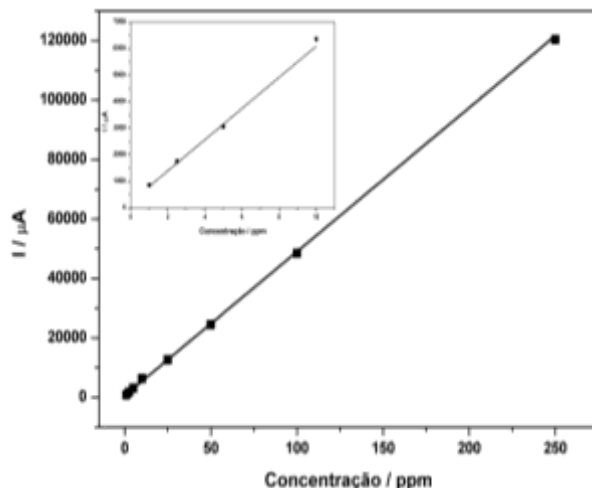
**3) 4-cloro-2-metilanilina**

Figura 79: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



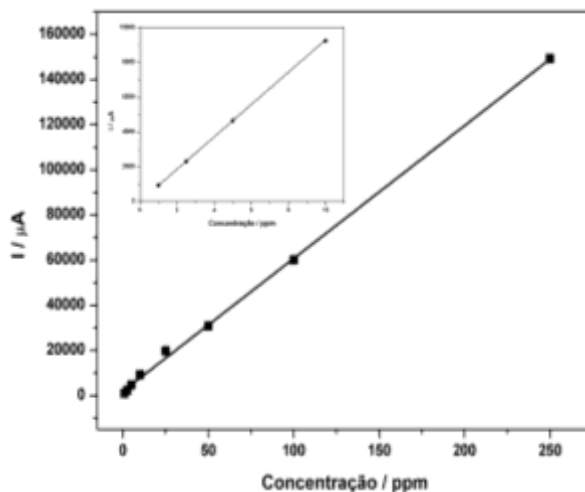
4) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno

Figura 80: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



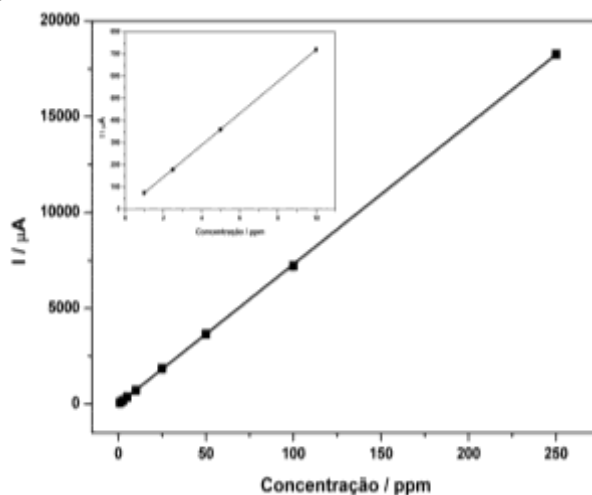
5) p-aminofenol

Figura 81: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



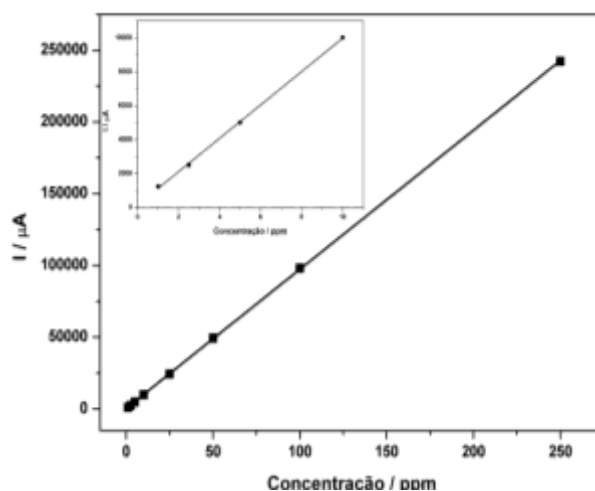
6) 1,4-diaminobenzeno

Figura 82: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



7) 2-metilbenzeno-1,4-diamina

Figura 83: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em HPLC-ED para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



*E) Curva Analítica HPLC-DE com Eletrodo Modificado-grupo 1.***1) 2,4-diaminotoluidina**

Figura 84: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

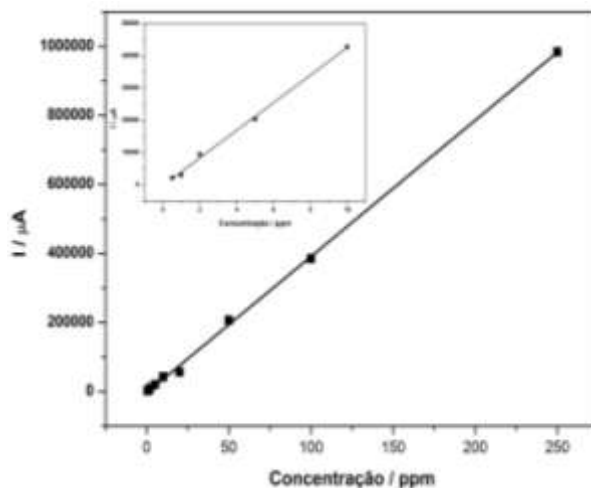
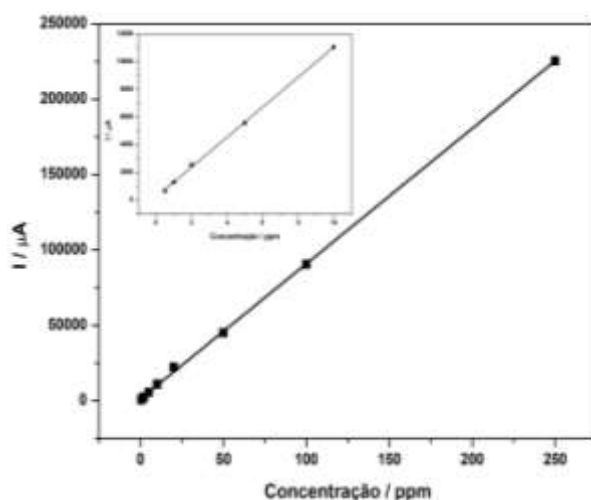
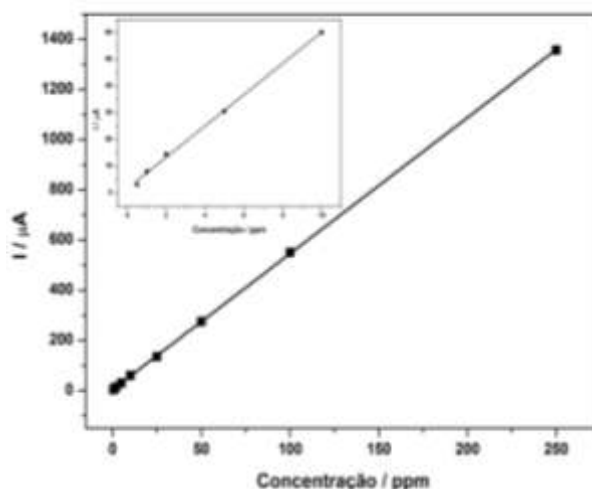
**2) 2-cloro-4-nitroanilina**

Figura 85: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



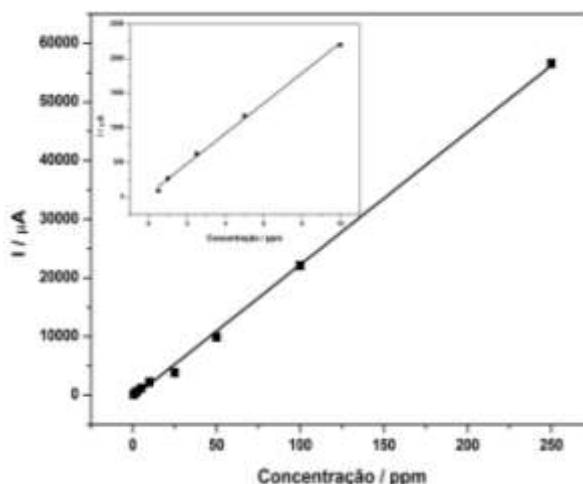
3) 2-metoxi-5-metilanilina

Figura 86: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxi-5-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



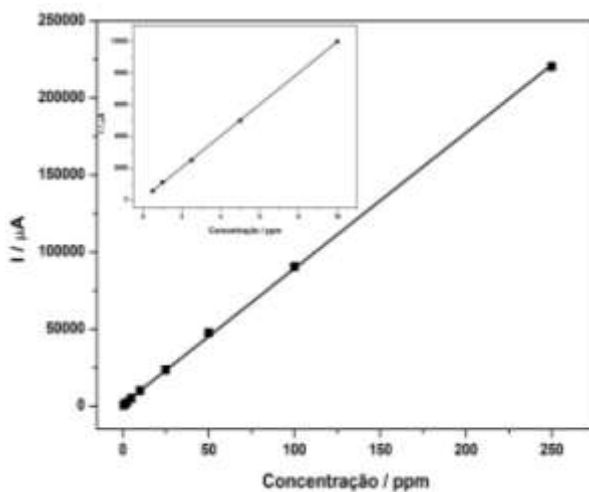
4) 2-aminonaftaleno

Figura 87: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-aminonaftaleno solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



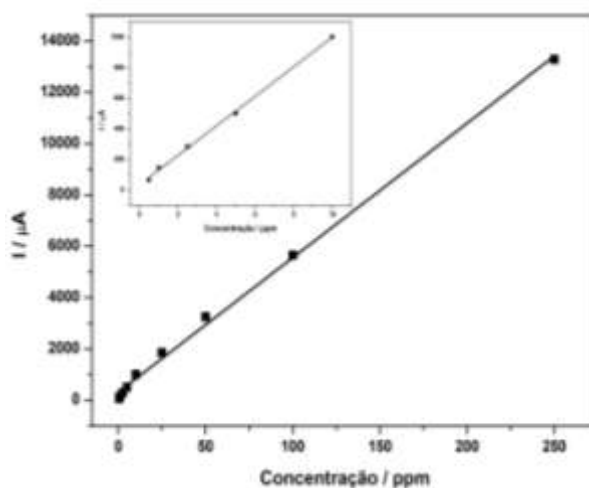
5) 3,3'-diclorobenzidina

Figura 88: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



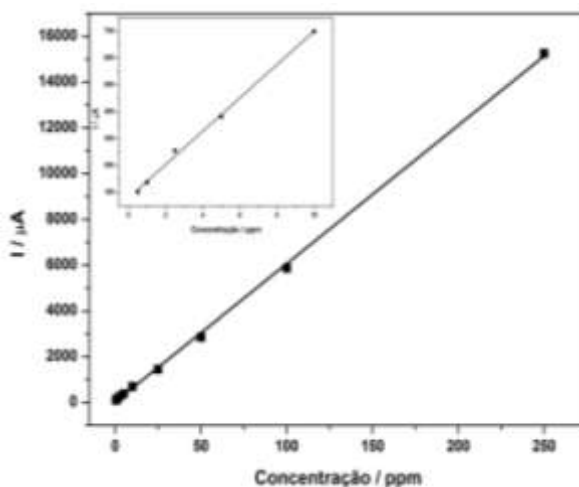
6) 3,3'-dimetilbenzidina

Figura 89: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



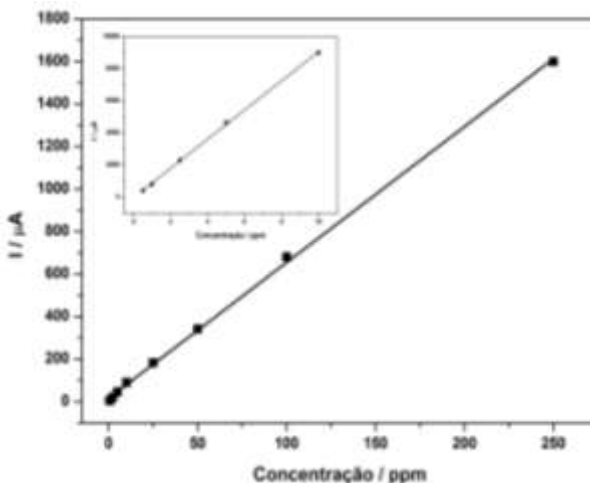
7) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina

Figura 90: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



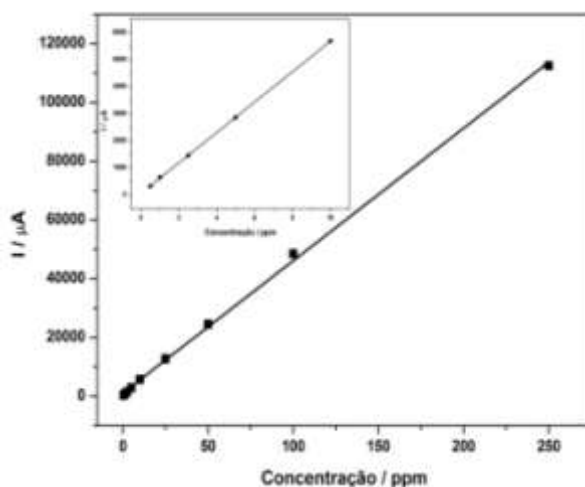
8) 4-aminobifenila

Figura 91: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



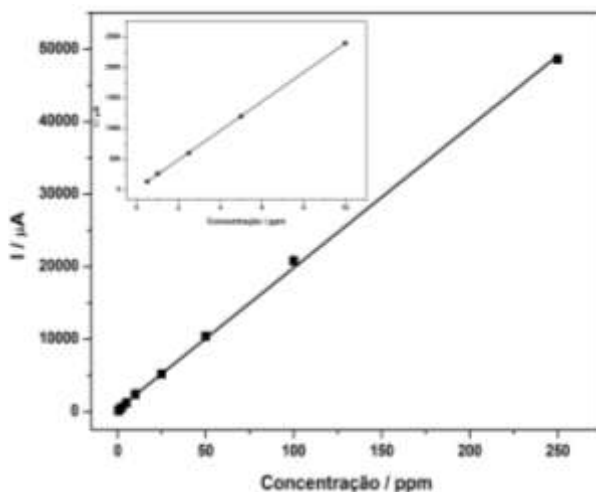
9) 4-cloroanilina

Figura 92: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloroanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



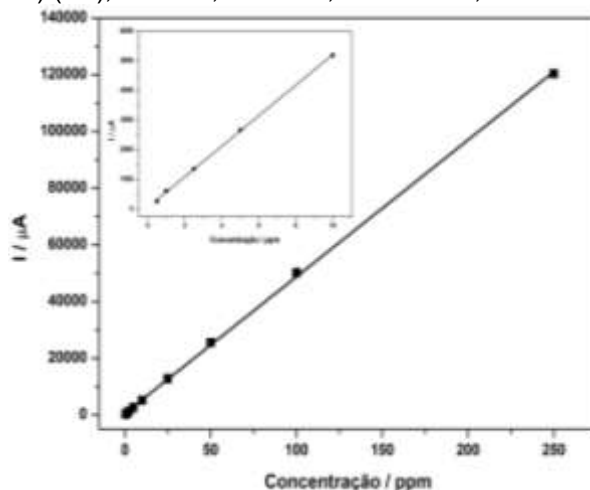
10) 4,4-diaminodifenilmetano

Figura 93: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



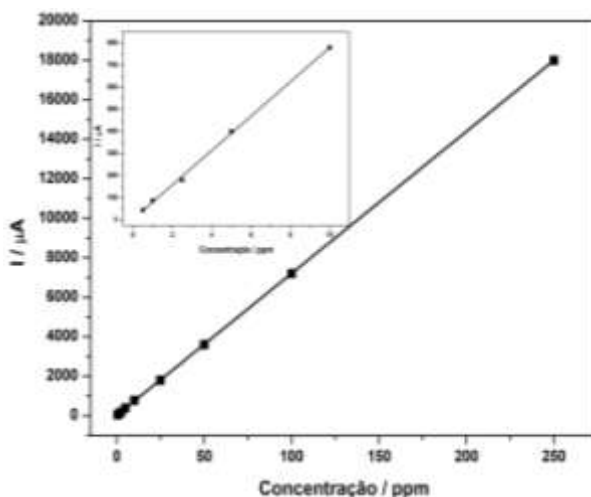
11) anilina

Figura 94: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



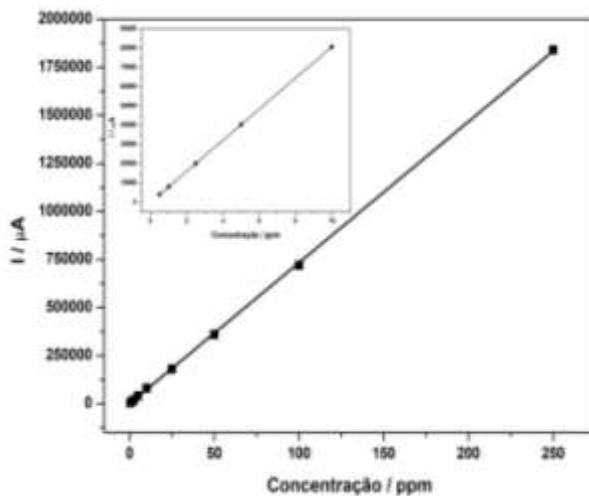
12) 4,4'-diaminobifenila

Figura 95: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



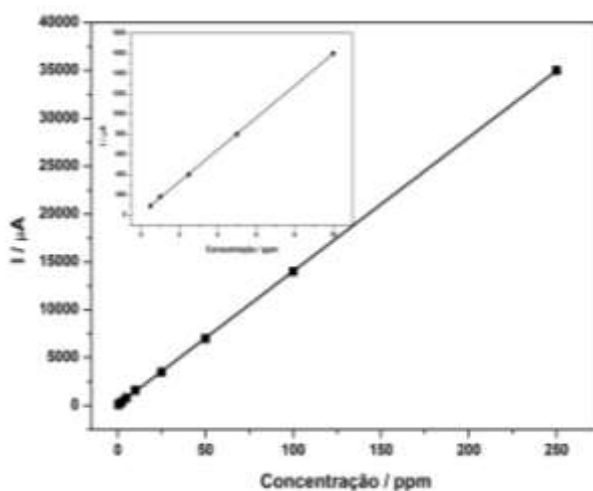
13) 2-metoxianilina

Figura 96: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM DE BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



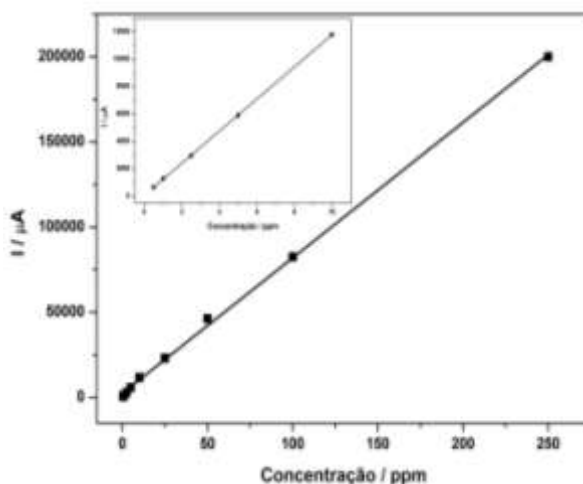
14) 3,3'-dimetoxibenzidina

Figura 97: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



15) 2-metilanilina

Figura 98: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



16) 4,4'-oxidianilina

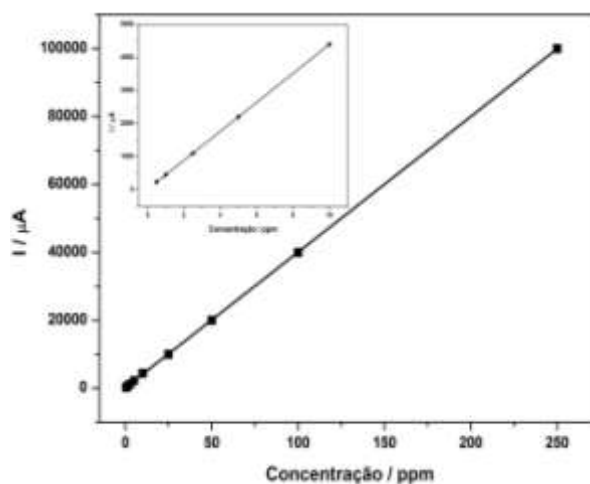


Figura 99: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em HPLC-DE com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 1. Fase móvel: MeOH/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (70:30) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

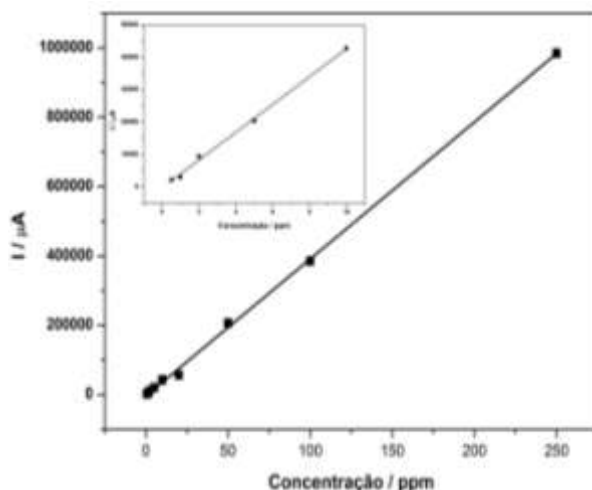
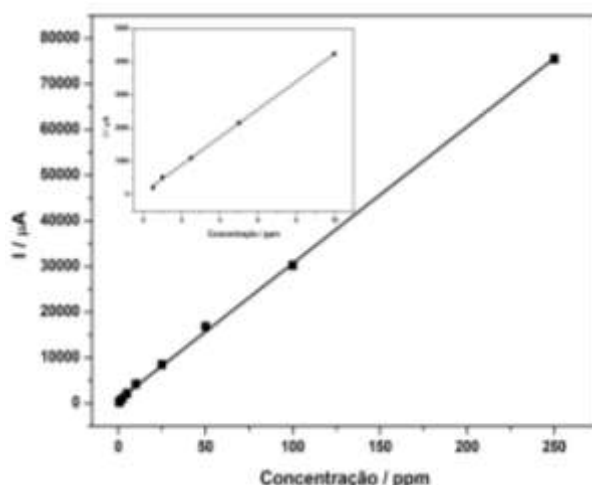
*F) Curva Analítica HPLC-DE com Eletrodo Modificado-grupo 2.***1) 2,5-dimetilanilina**

Figura 100: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em HPLC-DE com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.

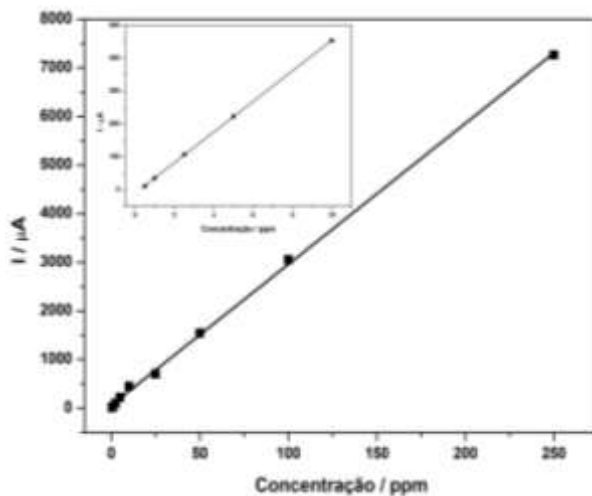
2) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina

Figura 101: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônico para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



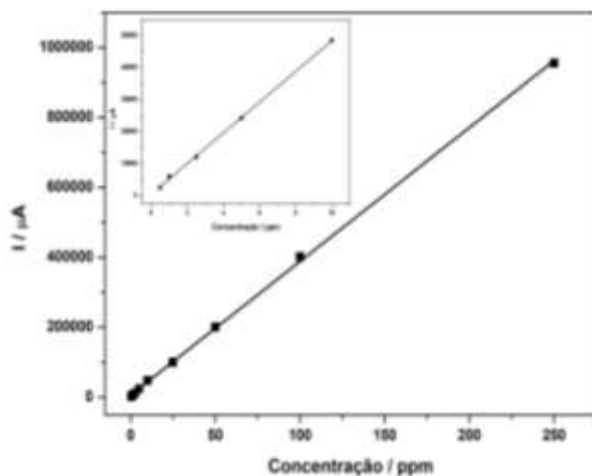
3) 4-cloro-2-metilanilina

Figura 102: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 3-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



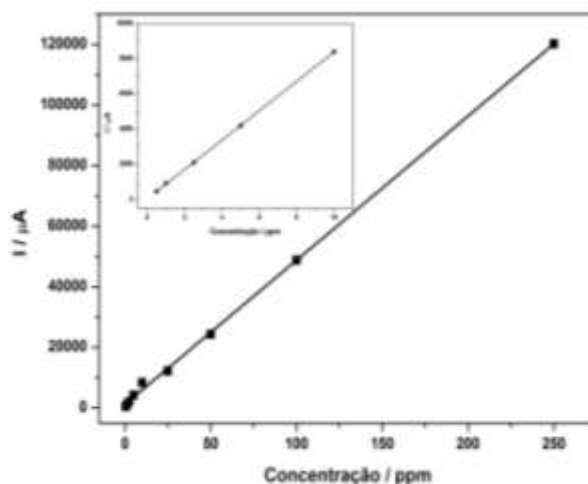
4) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno

Figura 103: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



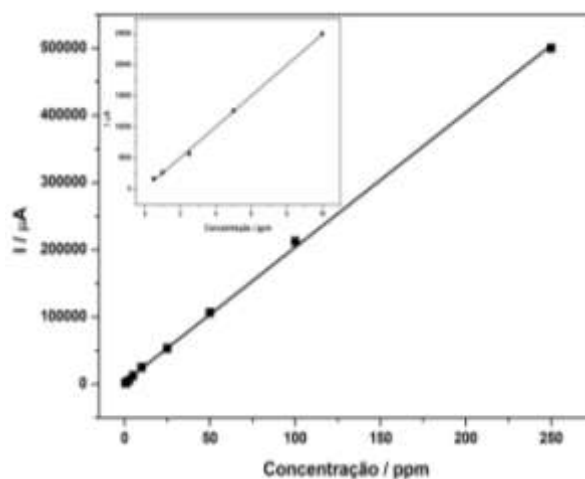
5) p-aminofenol

Figura 104: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



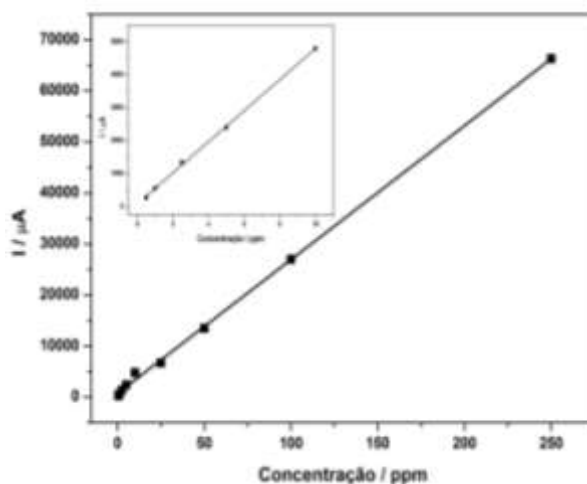
6) 1,4-diaminobenzeno

Figura 105: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



7) 2-metilbenzeno-1,4-diamina

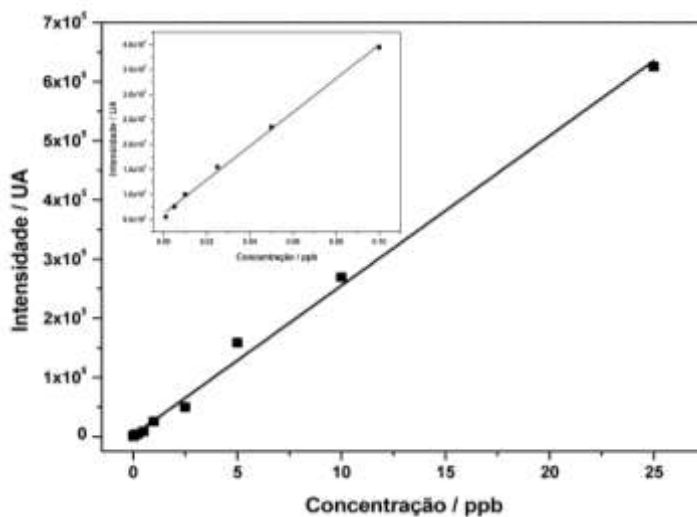
Figura 106: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em HPLC-ED com eletrodo modificado com gel de nanotubos de carbono e líquido iônica para o grupo 2. Fase móvel: ACN/água + 30mM de BMIm-NTf₂ (60:40) (v/v), T=40°C, vazão: 0,80 mL min⁻¹, fase estacionária: C18.



G) Curva Analítica UHPLC-MS/MS

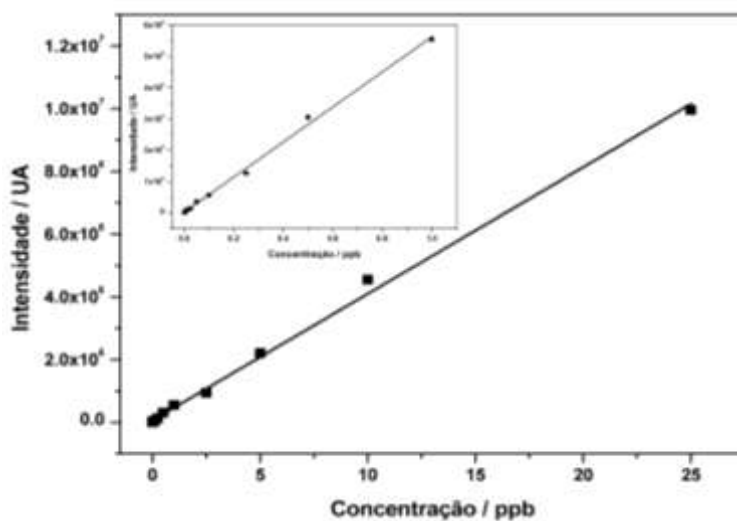
1) 2,4-diaminotoluidina

Figura 107: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μL da solução padrão de 2,4-diaminotoluidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



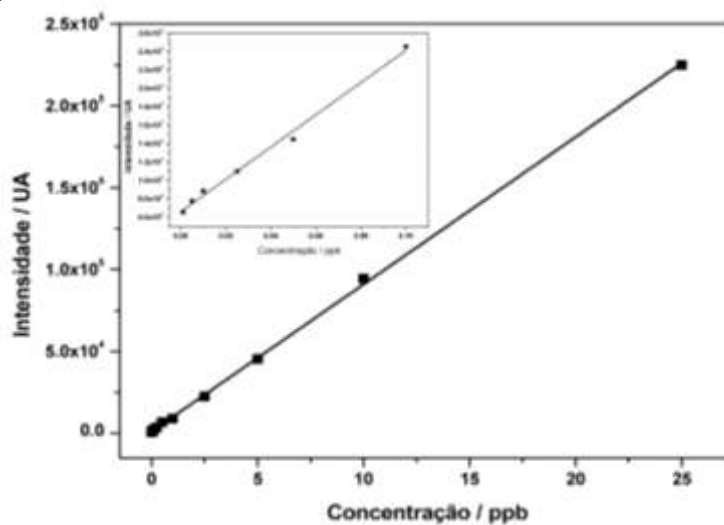
2) 2,5-dimetilanilina

Figura 108: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2,5-dimetilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



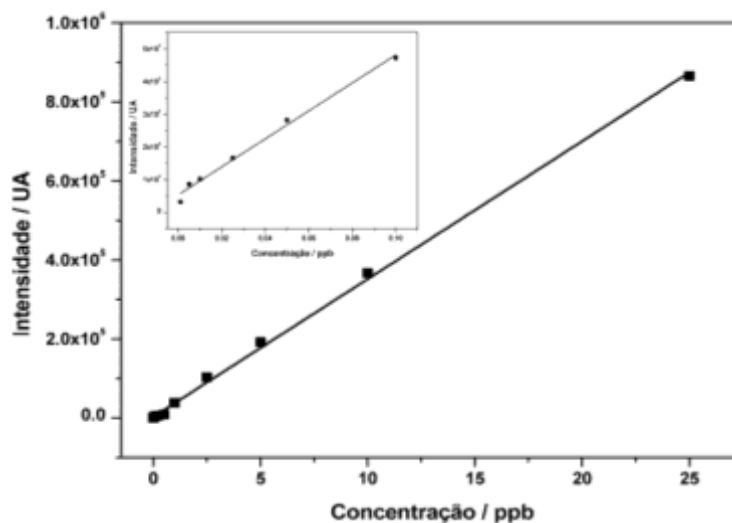
3) 2-cloro-4-nitroanilina

Figura 109: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-cloro-4-nitroanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



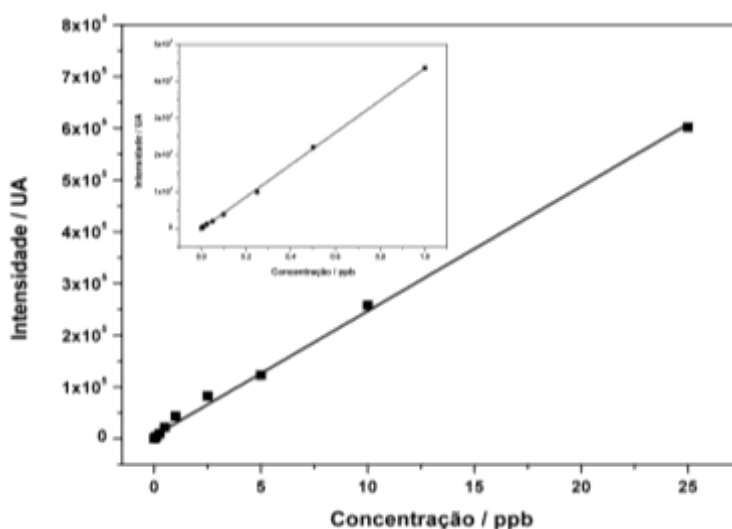
4) 2-metoxi-5-metilanilina

Figura 110: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxi-5-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



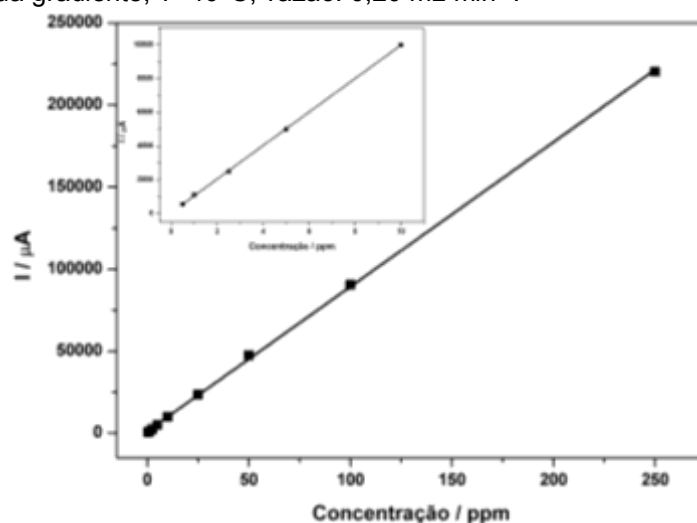
5) 2-naftilamina

Figura 111: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-naftilamina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



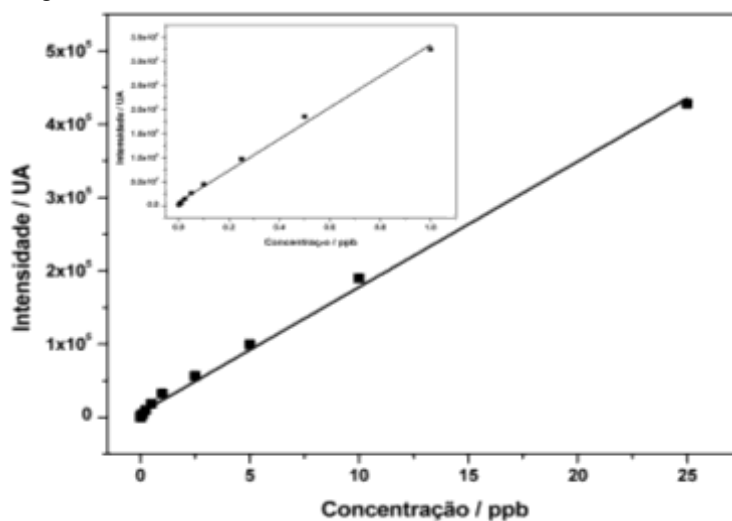
6) 3,3'-diclorobenzidina

Figura 112: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-diclorobenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



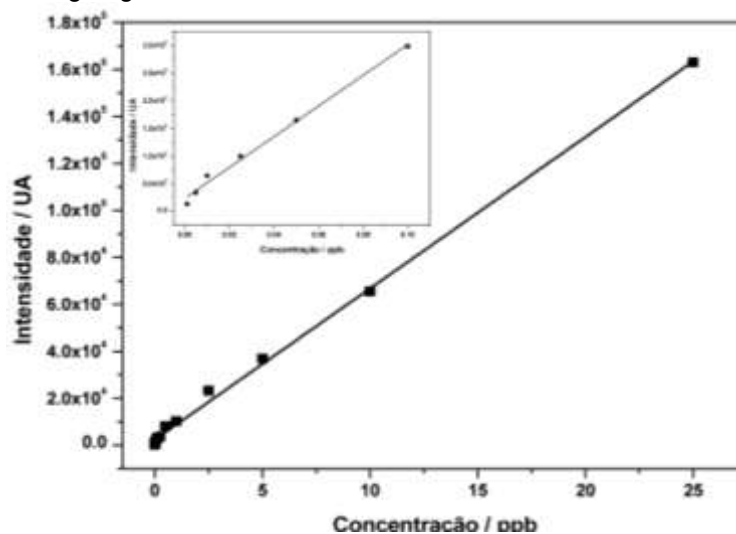
7) 3,3'-dimetilbenzidina

Figura 113: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetilbenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



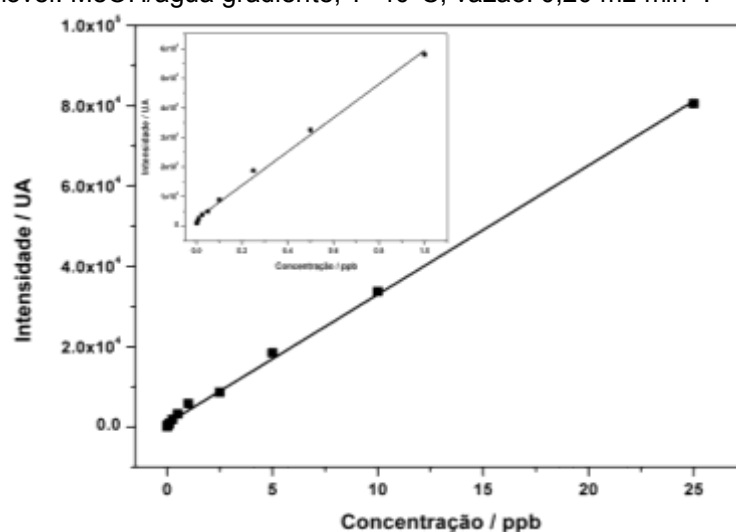
8) 4,4'-diaminodifenilmetano

Figura 114: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminodifenilmetano solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



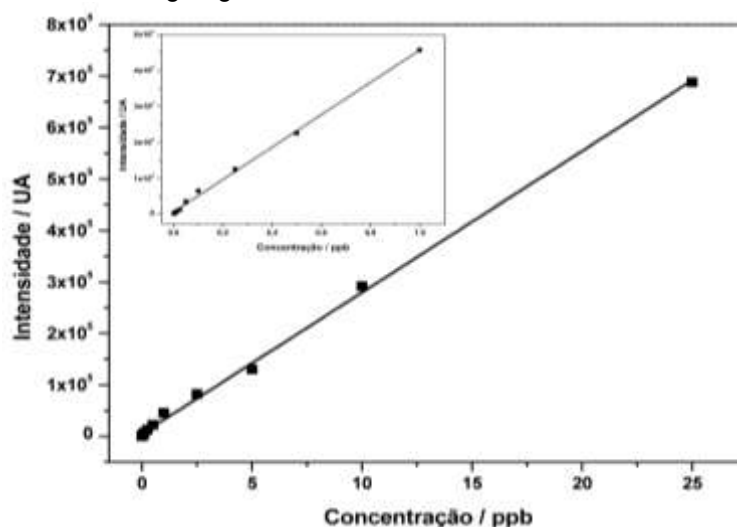
9) 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina

Figura 115: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-cloroanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



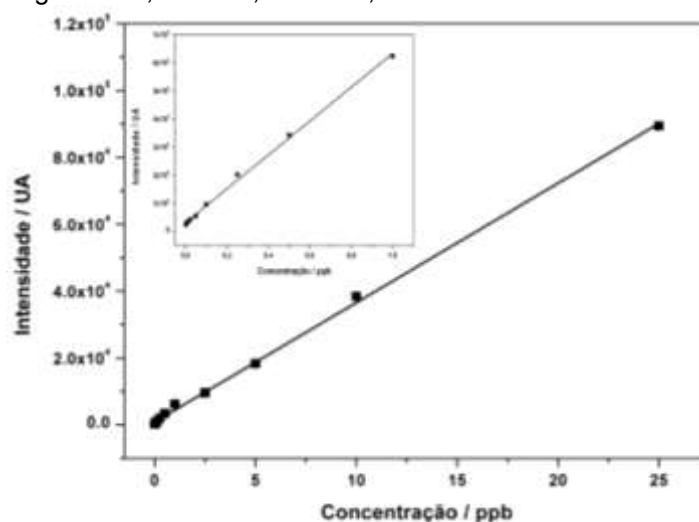
10) 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina

Figura 116: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-metileno-bis-2-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



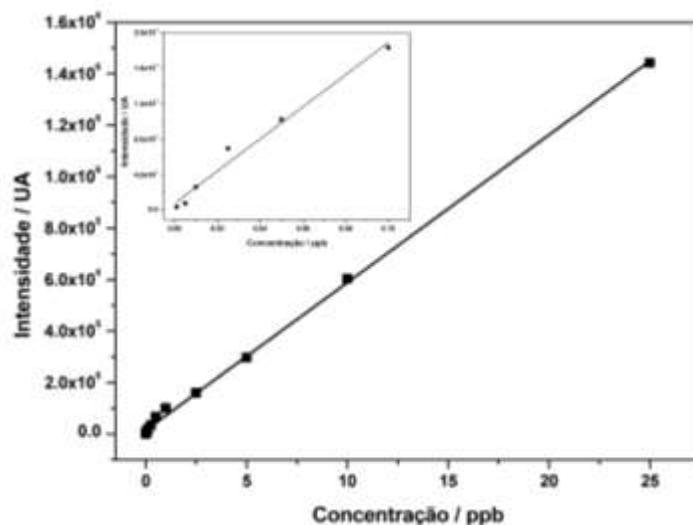
11) 4,4'-oxidianilina

Figura 117: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-oxidianilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



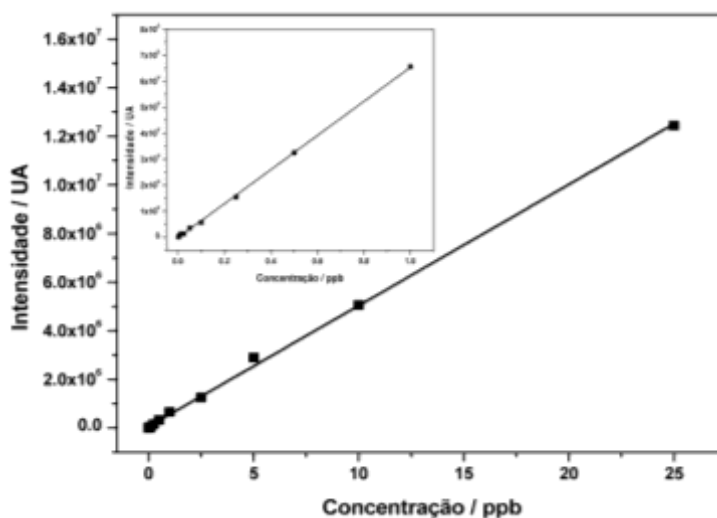
12) 4-aminobifenila

Figura 118: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-aminobifenila solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



13) 4-cloro-2-metilanilina

Figura 119: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloro-2-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



14) 4-cloroanilina

Figura 120: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4-cloronilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.

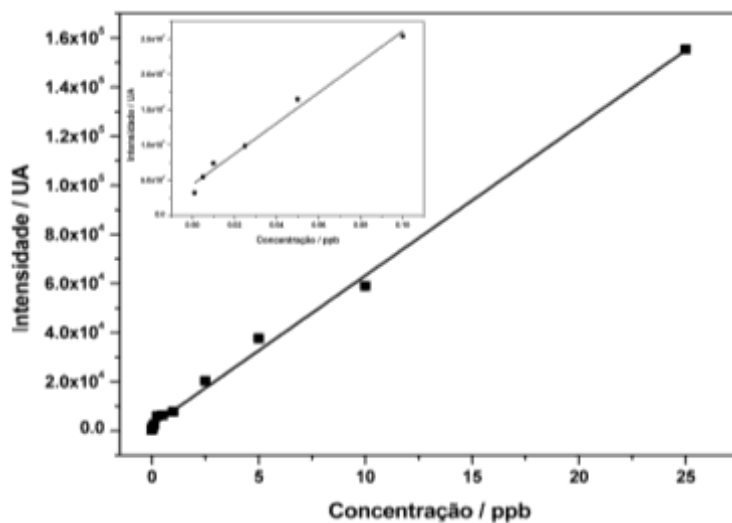
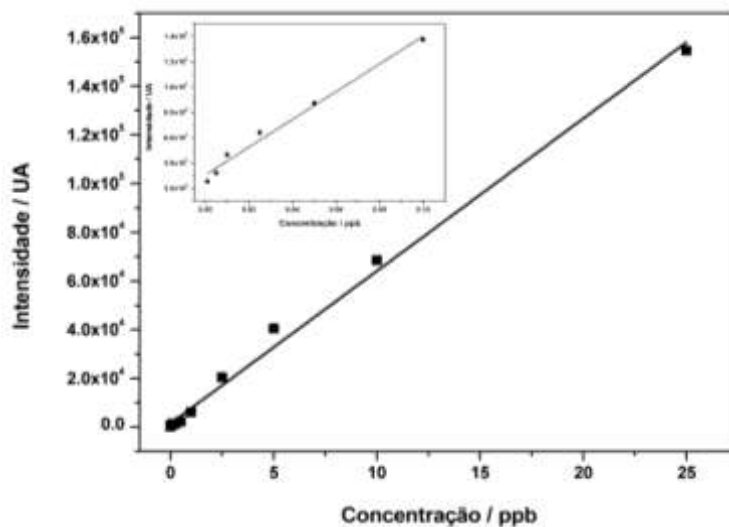
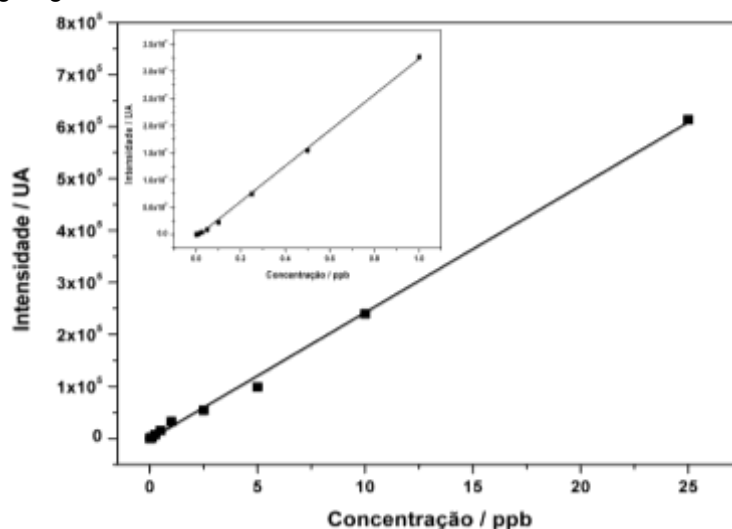
**15) anilina**

Figura 121: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de anilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



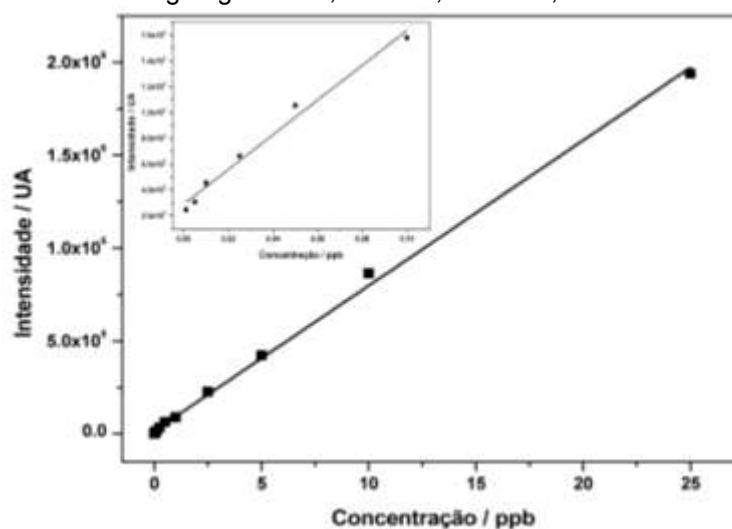
16) 4,4'-diaminobifenila

Figura 122: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 4,4'-diaminobifenila solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



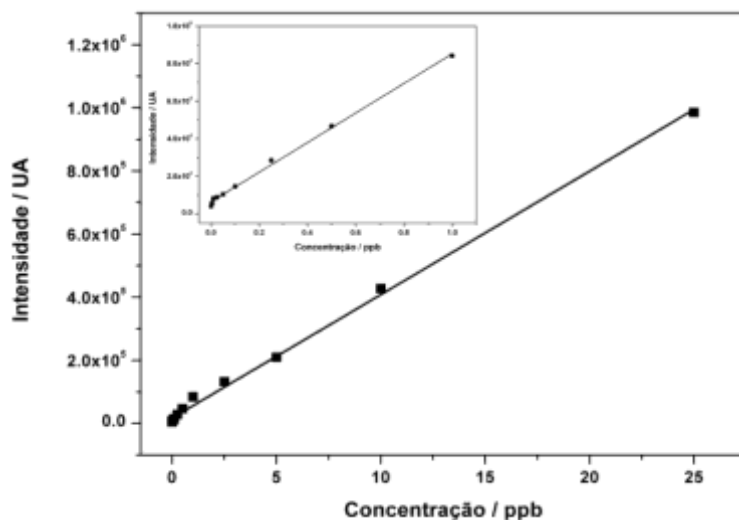
17) N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno

Figura 123: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de N-monoacetil-1,4-diaminobenzeno solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



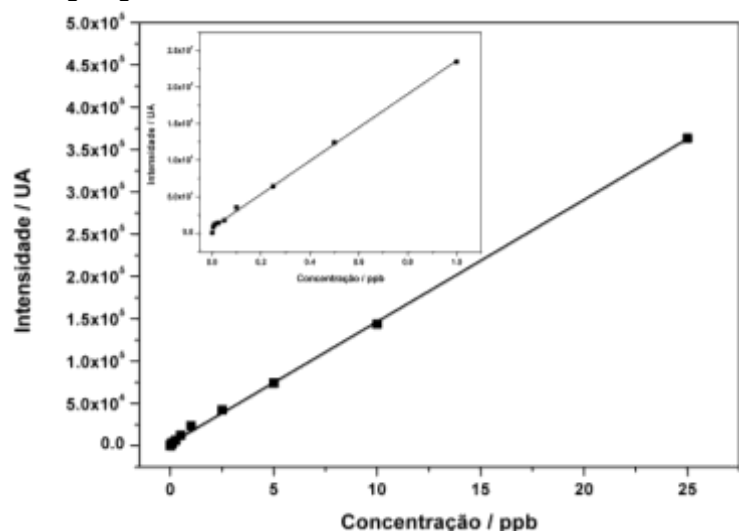
18) 2-metoxianilina

Figura 124: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metoxianilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



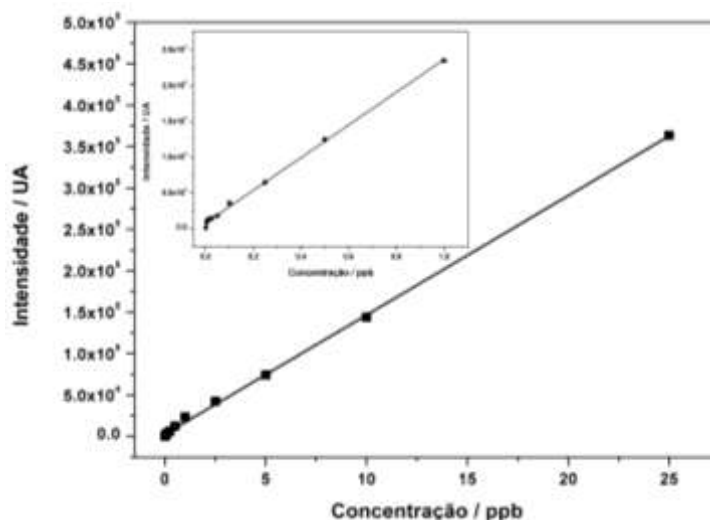
19) 3,3'-dimetoxibenzidina

Figura 125: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 3,3'-dimetoxibenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



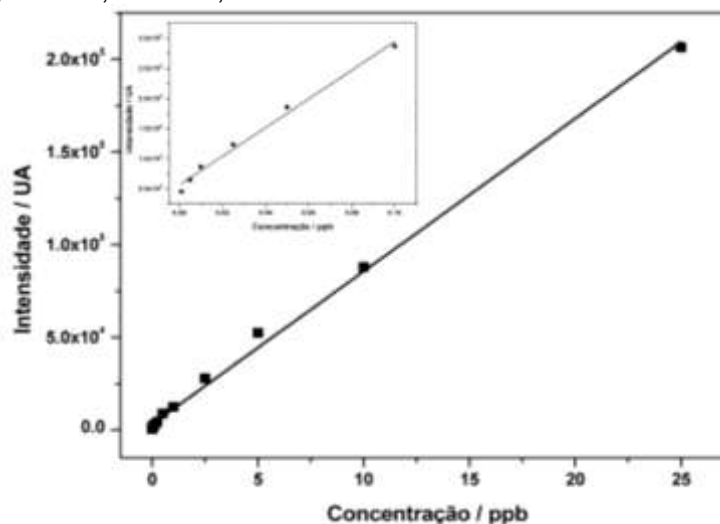
20) 2-metilanilina

Figura 126: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metilanilina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



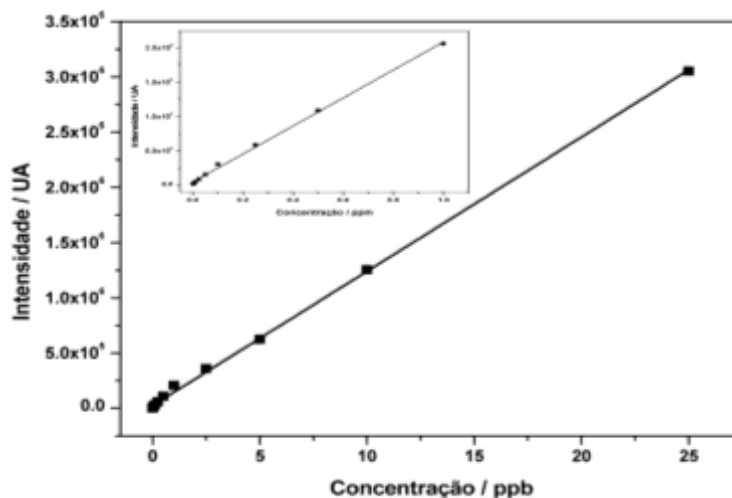
21) p-aminofenol

Figura 127: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de p-aminofenol solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



22) 1,4-diaminobenzidina

Figura 128: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 1,4-diaminobenzidina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.



23) 2-metilbenzeno-1,4-diamina

Figura 129: Curva analítica obtida a partir do cromatograma correspondente à injeção de 20 μ L da solução padrão de 2-metilbenzeno-1,4-diamina solubilizada em metanol em UHPLC-MS/MS. Fase móvel: MeOH/água gradiente, T=40°C, vazão: 0,20 mL min⁻¹.

