

Otimização de um método de extração ultra-sônica e análise por CLAE para determinação de Diuron e seus metabólitos em solo de cultivo de cana-de-açúcar

Optimization of ultrasonic extraction and analyses methodology by HPLC for determination of diuron and its metabolites in soil cultivation of sugar cane

Patrícia Cavani Martins de Mello¹; Ilza Lobo²; Maria Josefa Santos Yabe³

Resumo

O Diuron, N-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilureia pode ser transformado no solo através da biodegradação em 3-(3,4-diclorofenil)-3-metilureia (DCPMU), 3,4-diclorofenilureia (DCPU) e 3,4-dicloroanilina (DCA). Este trabalho teve por objetivo otimizar e validar um método de extração e análise do diuron e metabólitos no solo por CLAE/DAD a fim de determinar as suas concentrações em amostras de solo bioaumentado com microrganismos da rizosfera da cana-de-açúcar. Realizou-se a extração com metanol em banho ultra-sônico e as análises em um cromatógrafo líquido/detector DAD, marca Waters. A condição de análise otimizada para separação dos analitos foi fase móvel metanol:água 50:50 (v/v) e fluxo 1 mL min⁻¹. O comprimento de onda selecionado foi de 240 nm para a DCA e 254 nm para o Diuron, DCPMU e DCPU. Utilizou-se coluna e pré coluna Waters XTerra RP18, 5 µm, 4,6 x 150 mm e 3,9 x 20 mm. A curva de calibração foi obtida a partir da fortificação do solo com a mistura dos padrões, na faixa de 5 mg Kg⁻¹ a 200 mg Kg⁻¹ de solo. A recuperação obtida em dois níveis de concentração 5 e 200 mg Kg⁻¹ de solo ficou entre 85 e 99%. A repetibilidade foi de 0,78%; 2,20%; 2,17% e 1,72% e a precisão intermediária foi de 2,48%; 2,11%; 3,10% e 2,77% para diuron, DCPMU, DCPU e DCA, respectivamente. O limite de quantificação foi de 1,25 mg Kg⁻¹ de solo. A concentração de diuron encontrada em algumas amostras superficiais (0-10 cm) do solo bioaumentado variou de 5,5 a 8,9 mg Kg⁻¹ de solo, mas não foi detectada a presença de seus metabólitos.

Palavras-chave: Diuron. Metabólitos. Cana-de-Açúcar. Validação. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Bioaumentação.

Abstract

Diuron, N-(3,4-dichlorophenyl)-N, N-dimethylurea can be transformed into the soil through the biodegradation of 3-(3,4-dichlorophenyl)-3-methylurea (DCPMU), 3,4-diclorofenilureia (DCPU) and 3,4-dichloroaniline (DCA). This study aimed to optimize and validate a method of extraction and analysis of these substances in the soil by HPLC/DAD. There was extracted with methanol in the bath ultrasonic and analysis in a liquid chromatograph/detector brand Waters. The condition of analysis optimized for separation of analytes was mobile phase methanol: water 50:50 (v / v), flow 1 mL min⁻¹. Wavelength of 240 nm was selected for the DCA and 254 nm for diuron, DCPMU and DCPU. It was used column and pre column Waters Xterra RP18, 5 µm, 4.6 and 3.9 x 150 mm x 20 mm. The calibration curve was obtained from the fortification of the soil with the mixture of patterns in the range of 5 mg Kg⁻¹ to 200 mg Kg⁻¹ of soil. The recovery was obtained in two concentration levels of 5 and 200 mg.

¹ Mestre em Química dos Recursos Naturais, Universidade Estadual de Londrina (UEL); E-mail: patricia_cavani@yahoo.com.br

² Docente do Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina (DQ-UEL); E-mail: lobo@uel.br

³ Docente do Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina (DQ-UEL); E-mail: mjyabe@uel.br

Kg⁻¹ of soil was between 85 and 99%. The repeatability was 0.78%, 2.20%, 2.17% and 1.72% and intermediate precision was 2.48%, 2.11%, 3.10% and 2.77% for diuron, DCPMU, DCPU and DCA, respectively. The limit of quantification was 1.25 mg Kg⁻¹ soil. The concentration of diuron found in some bioaugmented soil samples ranged from 5.5 to 8.9 mg Kg⁻¹ soil, but was not detected the presence of their metabolites.

Key words: Diuron. Metabolites. Sugarcane. Validation. High Performance Liquid Chromatography, Bioaugmentation.

Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de cana, com uma área plantada de 5,4 milhões de hectares e uma safra anual de cerca de 354 milhões de toneladas (BRASIL, 2007). Na safra do ano de 2007 a produção brasileira de cana-de-açúcar foi de 426.022.444 toneladas, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, com 264.336.825 toneladas, seguido dos estados do Paraná e Minas Gerais com 31.994.581 e 29.034.195 toneladas, respectivamente (UNICA, 2007).

Na implantação de uma área agrícola através de um sistema de cultivo, ocorrem significativas transformações nos subsistemas tornando-os mais simples (agroecossistema), em comparação com o ecossistema. Esta transformação resulta na diminuição da capacidade de auto-regulação do sistema e uma das principais conseqüências desta transformação é o aumento exagerado das populações de pragas e vegetações invasoras comprometendo de forma significativa a produção (BLANCO, 2003). No controle de plantas daninhas o método mais utilizado atualmente é o químico, isto é, o uso de herbicidas (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 2007).

O diuron, N-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilureia (Figura 1), é um herbicida pertencente à família das fenilamidas da subclasse das feniluréias de uso difundido na agricultura e um dos herbicidas mais empregados nas culturas paulistas de cana de açúcar. Este herbicida substituído de uréia inibe a fotossíntese pela prevenção da produção de oxigênio e bloqueia a transferência de elétrons ao nível II em microrganismos e plantas (TOMAS, 2003 apud RODRIGUES; ALMEIDA, 1998).

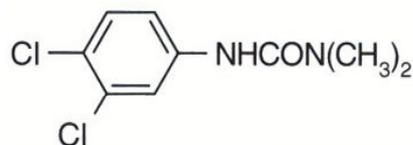


Figura 1. Fórmula estrutural do diuron Fonte: (ROSSI, 2008).

Quando aplicado ao solo, o herbicida diuron tende a ser acumulado, devido a sua baixa solubilidade em água (42 mg L⁻¹ a 25°C) e alta capacidade de adsorção à fração orgânica do solo. Possui baixa pressão de vapor (0,009 mPa a 25°C), não sendo perdido por volatilização e o tempo de meia vida em solos varia de 90 a 180 dias, embora valores maiores de 3.000 dias também tenham sido reportados (GIACOMAZZI; COCHET, 2004). Esta variabilidade pode ser atribuída a diferenças na composição do solo e outras condições (SPADOTTO, 2002).

Uma das formas de redução da concentração do diuron do ambiente, bem como outros pesticidas é a degradação, sendo a biodegradação o principal mecanismo de dissipação do diuron no solo. Fungos dos solos apresentam alta capacidade de degradação das feniluréias, inclusive para o diuron, tendo em alguns estudos também encontrada atividade degradativa das bactérias (CASTILLO et al, 2006). O diuron pode ser degradado sob condições aeróbicas pelos microrganismos que realizam N-demetilação do grupo uréia e, posteriormente a hidrólise, podendo transformar-se em três metabólitos, 3-(3,4-diclorofenil)-3-metilureia (DCMPU), 3,4-diclorofenilureia (DCPU) e 3,4-dicloroanilina

(DCA) (GIACOMAZZI; COCHET, 2004). Tixier et al., (2000) pesquisou a degradação do diuron com linhagens de fungos demonstrando que o composto não é mineralizado e que os metabólitos identificados exibiram alta toxicidade a organismos não alvos, sugerindo uma preocupação ambiental maior do que a anteriormente reconhecida ao diuron quando usado.

Nas análises de compostos orgânicos em amostras sólidas, além dos métodos cromatográficos usados para a quantificação destes, também devemos considerar as importantes etapas de extração, purificação e concentração dos analitos da amostra. Diuron e seus metabólitos em amostras de solo têm sido analisados por CLAE (THEVENOT et al., 2009; CASTILLO et al., 2006) e na extração têm sido aplicados diferentes métodos. Na extração do diuron do solo, Soxhlet é uma das técnicas que foi muito utilizada desde que foi adotada como metodologia analítica padronizada para análise de pesticidas no solo (LOURENCETTI; MARCHI; RIBEIRO, 2008; NAVARRO; VELA; NAVARRO, 2004; MARCHESI et al., 2001). No entanto, esta técnica utiliza drásticas condições, podendo alterar a integridade estrutural dos pesticidas termolábeis, e requer muito tempo e consumo de solvente (ANDREU; PICÓ, 2004). Solvente orgânico e agitação têm sido usado na extração de diuron em amostras de solo (CASTILLO et al., 2006; YANG; SHENG; HUANG, 2006), bem como extração em fase sólida usando cartucho C_{18} (LOURENCETTI; MARCHI; RIBEIRO, 2008; JACOBSON et al., 2005). A técnica de extração com solvente e agitação ultra-sônica também pode ser utilizada para esse fim, apresentando esta a vantagem de menor consumo de solvente e não exige equipamentos de alto custo.

A fim de monitorar a degradação do diuron em solo bioaumentado (aplicação de biomassa microbiana isolada de solo rizosférico de cana-de-açúcar) foi realizada a quantificação deste pesticida e de seus metabólitos. Assim, este trabalho teve por objetivo otimizar e validar um método de extração

com solvente e agitação ultra-sônica do diuron e seus metabólitos do solo e análise por CLAE/DAD.

Procedimento experimental

Os padrões diuron, DCPMU, DCPU e DCA foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstofer (Alemanha). O metanol utilizado para o preparo das soluções padrão, processo de extração e análise cromatográfica foi grau cromatográfico, da Merck.

CLAE/UV tem sido apresentada como uma técnica eficiente para a separação e quantificação de pesticidas feniluréias, usando colunas analíticas C_{18} e mistura de metanol-água (e/ou acetonitrila) como fase móvel (VEJA; FRENICH; VIDAL, 2005). Assim, o método de análise do diuron e seus metabólitos foi otimizado quanto à retenção e resolução (seletividade) adequadas, ajustando a força da mistura metanol-água como fase móvel.

As análises de diuron e metabólitos por CLAE foi realizada em um cromatógrafo da marca Waters, composto de módulo de bombeamento Waters 600, módulo para desgaseificação de solventes, injetor manual Rheodyne (7725I), detetor UV-Variável por Arranjo de Diodos (Waters 2996) e software Waters (Empower 2 Personal Single System Add-On). Utilizou-se coluna Waters (XTerra RP18, 5mm, 4,6×150 mm) e pré-coluna Waters (XTerra RP18, 5 μ m, 3,9×20 mm). A condição de análise otimizada para separação dos quatro analitos foi fase móvel metanol:água 50:50 (v/v), fluxo 1 mL min^{-1} e comprimento de onda 254 nm para o diuron e os metabólitos DCPMU e DCPU e 240 nm para a DCA.

Acetonitrila e metanol apresentam boa eficiência na extração do diuron e seus metabólitos em amostras de solo usando a agitação por mesas agitadoras ou agitadores magnéticos. O método de extração do diuron e seus metabólitos no presente trabalho foi desenvolvido e otimizado usando metanol e agitação ultra-sônica. A melhor condição do método

desenvolvido foi extração de 5 gramas de solo com 20 mL de metanol grau cromatográfico com agitação ultra-sônica por 30 minutos e centrifugado a 1200 rpm por 30 minutos.

Após a otimização o método de extração foi validado quanto à recuperação e precisão, a partir da contaminação de uma amostra de solo com padrões de diuron e seus metabólitos (SILVA et al., 2006; VEGA; FRENICH; VIDAL, 2005). Cinco gramas do solo de referência (não contaminado), com as mesmas características da área cultivo de cana de açúcar onde foi aplicado diuron, foram fortificados com 1,0 mL de uma solução padrão formada pelos 4 analitos de interesse: diuron, DCPMU, DCPU e DCA, nas concentrações: 1000, 500, 200, 100, 50 e 25 mg L⁻¹.

Após 24 h da fortificação do solo, diuron e os metabólitos foram extraídos pela metodologia otimizada. Em seguida filtrou-se o extrato em papel qualitativo (8 mm) e o sobrenadante foi levado a análise cromatográfica, após diluição (1:1) (v/v) com água ultra pura. A concentração final dos analitos, considerando-se as diluições feitas na etapa de extração e a quantidade de solo utilizado para o procedimento foram de 200, 100, 40, 20, 10 e 5 mg Kg⁻¹ de solo.

A eficiência da extração do diuron e metabólitos foi avaliada pela comparação da área dos picos dos analitos nos extratos de solo fortificado com a

área dos picos dos analitos nas soluções padrão, na mesma concentração. Neste procedimento foram utilizadas as soluções padrões com as concentrações de 1000 e 25 mg L⁻¹ e as amostras de solo fortificado ficaram com as concentrações finais de 200 e 5 mg Kg⁻¹ solo.

Aprecisão foi determinada quanto à repetibilidade e precisão intermediária com o solo fortificado no nível de concentração de 40,0 mg Kg⁻¹ solo. O teste de repetibilidade foi realizado a partir de seis injeções consecutivas e calculou-se o desvio padrão relativo (RSD) para as áreas e alturas dos picos correspondentes aos 4 compostos de interesse. A precisão intermediária foi realizada uma vez por semana num período de 3 semanas, com a amostra de solo fortificada no nível de concentração de 40,0 mg Kg⁻¹ solo.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados através da análise de solos fortificados em concentrações cada vez menores, sendo a solução de menor concentração utilizada de 1,25 mg Kg⁻¹ de solo.

Resultados e discussão

As taxas de recuperação dos analitos do solo para as amostras de solo fortificadas em dois níveis de concentração 200 mg Kg⁻¹ de solo e 5 mg Kg⁻¹ de solo, variaram entre 85 % a 99 % e RSD inferior a 10% (Tabela 1).

Tabela 1. Recuperação de diuron e metabólitos nas amostras de solo fortificadas (200 mg Kg⁻¹ de solo e 5 mg Kg⁻¹ de solo) na extração com metanol e agitação ultra-sônica.

Analitos	Nível de fortificação 200 mg Kg ⁻¹ de solo	Nível de fortificação 5 mg Kg ⁻¹ de solo
	Recuperação (%)	Recuperação (%)
Diuron	94 ± 2,8	96 ± 2,9
DCPMU	91 ± 2,7	94 ± 2,8
DCPU	92 ± 0,1	91 ± 4,5
DCA	90 ± 4,5	91 ± 2,7

Vega, Frenich e Vidal (2005) alcançaram taxas de recuperação de 80% para o Diuron em amostras de solo fortificadas, utilizando-se sonicação com metanol, clean-up e análise através de CLAE acoplada a espectrometria de massa. Lourencetti, Marchi e Ribeiro (2008) obtiveram taxas de recuperação entre 77 e 120% para o diuron em amostras de solo fortificadas, utilizando-se sonicação com metanol, purificação e análise através de CLAE/UV. O método aqui proposto apresenta taxas de recuperação compatíveis com as publicadas

anteriormente para o diuron. Diversos trabalhos têm sido publicados apresentando a formação dos metabólitos do diuron no solo, mas as validações das metodologias de extração e quantificação não são caracterizadas (GOODDY; CHILTON; HARRISON, 2002; GUZZELLA et al., 2006).

Na Figura 2, a partir dos dados cromatográficos da análise de uma amostra de solo fortificado a 10 mg Kg⁻¹ de solo, observa-se boa resolução do diuron e os 3 metabólitos, com tempos de retenção para DCPMU (13,372 min.), DCA (14,342 min.), DCPU (16,646 min.) e diuron (18,124 min.).

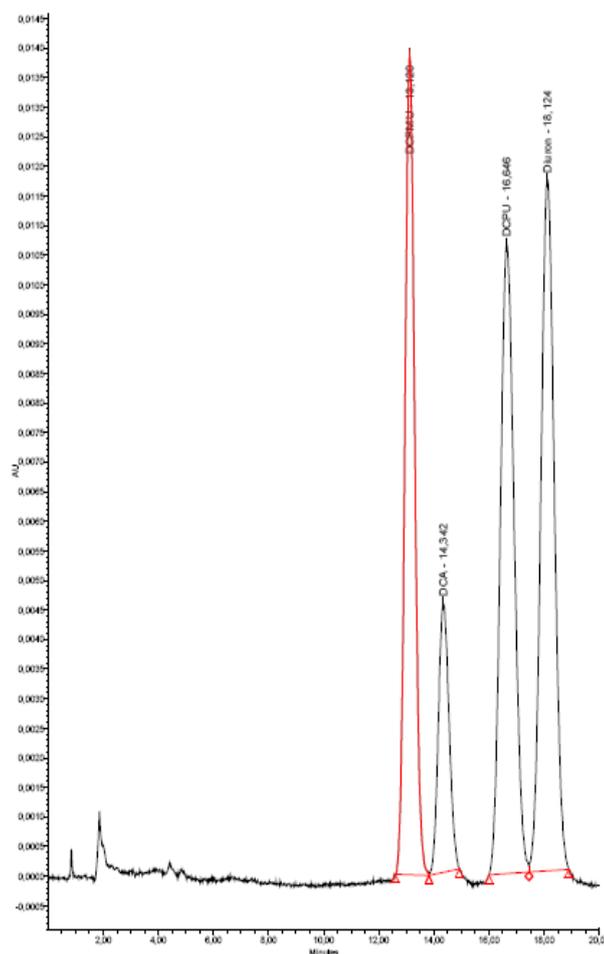


Figura 2. Cromatograma de amostra de solo com fortificação ao nível de concentração de 10 mg Kg⁻¹ solo da mistura de padrões DCPMU, DCA, Diuron e DCPU. Condições: injeção de 20 µL, fase móvel metanol:água 50:50 (v/v), vazão de 1 mL min⁻¹ a 254/240 nm, coluna Waters XTerra RP18 5µm 4,6 x 150 mm e pré-coluna Waters XTerra RP18 5µm 3,9 x 20 mm.

A seletividade do método foi confirmada através da análise de uma amostra de solo sem fortificação (Figura 3), confirmando sua eficiência para o diuron, DCPMU, DCPU e DCA.

Nas condições cromatográficas descritas, as curvas de calibração foram construídas utilizando-

se o método do padrão externo, apresentando boa linearidade na faixa de concentração entre 200,0 e 5,00 mg Kg⁻¹ e RDS (desvio padrão relativo) abaixo de 5 % (Tabela 2).

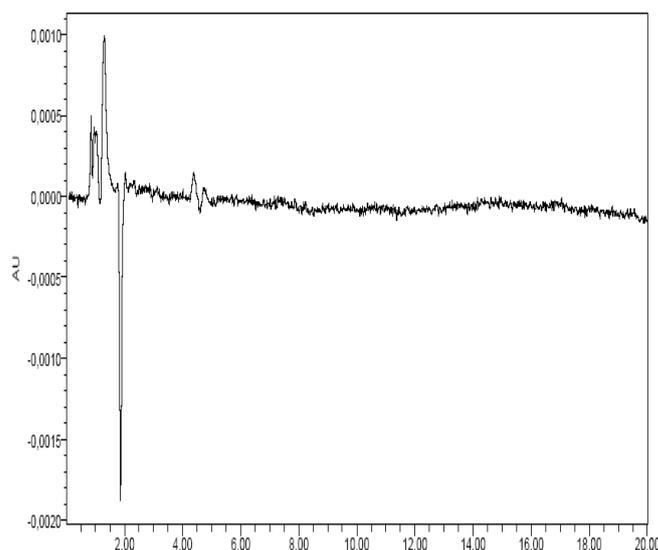


Figura 3. Cromatograma de amostra de solo sem fortificação da mistura de padrões DCPMU, DCA, Diuron e DCPU. Condições: injeção de 20 µL, fase móvel metanol:água 50:50 (v/v), vazão de 1 mL min⁻¹ a 254 / 240 nm, coluna Waters XTerra RP18 5µm 4,6 x 150 mm e pré-coluna Waters XTerra RP18, 5 µm 3,9 x 20 mm.

Tabela 2. Tempo de retenção (t_R), linearidade da curva de calibração, repetibilidade e precisão intermediária do método de análise do DCPMU, DCA, DCPU e Diuron por CLAE/DAD.

Analitos	t_R (min)	Dados de calibração		Repetibilidade ^a (R.S.D. %)	Precisão intermediária ^b (R.S.D. %)
		Equação	r^2		
DCPMU	13,372	$y=2,76e^4x+1,52e^4$	0,9988	2,20	2,11
DCA	14,342	$y=1,93e^4x-6,16e^2$	0,9988	1,72	2,77
DCPU	16,646	$y=3,54e^4x+1,88e^4$	0,9978	2,17	3,10
DIURON	18,124	$y=3,72e^4x+1,61e^4$	0,9993	0,78	2,48

^a Desvio padrão relativo para as áreas dos picos dos analitos ($n = 6$); x: concentração (mg. Kg⁻¹ de solo); y: resposta do detector (HPLC-UV). ^b Desvio padrão relativo para as áreas dos picos ($n = 3$).

O valor do limite de quantificação, obtido para o diuron, DCPMU, DCPU e DCA foi de 5,00 mg Kg⁻¹ de solo. A Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 2005) publicou valores orientadores de alguns pesticidas (Aldrin, Dieldrin, Endrin, DDD, DDE, DDT, HCH e PCB), que variam entre 3 e 800 µg Kg⁻¹ de solo seco em áreas agrícolas., não constando valores orientadores para o diuron.

Veja, Frenich e Vidal (2005) também alcançaram LQ de 5 mg Kg⁻¹ para o diuron em amostras de solo, mas os metabólitos não foram quantificados no estudo. Guzzella et al. (2006) apresentaram limites de detecção de 2 mg Kg⁻¹ de solo para a DCA e de 1 mg Kg⁻¹ de solo, para o diuron, DCPMU e DCPU. Neste trabalho, os resultados de limite de quantificação, taxas de recuperação e a metodologia de extração, não foram bem caracterizadas. Devido às baixas concentrações do diuron e metabólitos nas amostras de solo deste trabalho, verificou-se a necessidade do desenvolvimento de procedimentos para a concentração dos extratos a fim de diminuir os limites de quantificação para estes compostos no solo.

Após o desenvolvimento e validação dos métodos de extração e análise do diuron e os três metabólitos, DCPMU, DCPU e DCA, esta metodologia foi utilizada para quantificar estes compostos em amostras de solo bioaumentado. Neste estudo fez-se a investigação da degradação do diuron em solos após aplicação de biomassa microbiana da rizosfera

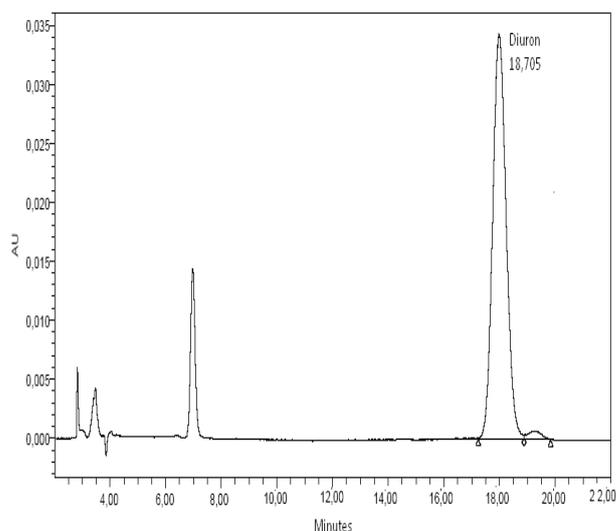
da cana-de-açúcar.

Assim, o diuron foi quantificado nos lotes de solo enriquecidos com o Hexaron WG[®] (lote A) e em lotes enriquecidos com o Hexaron WG[®] mais a bioaugmentação com microrganismos de solo rizosférico de cana-de-açúcar (lote B), a fim de monitorar a biodegradação do diuron em três profundidades do solo (0 – 10 cm, 10 – 20 cm e 20 – 30 cm) durante 5 semanas. A dosagem de Hexaron WG[®] utilizada seguiu sua recomendação agrônômica para cana-de-açúcar para o tipo de solo em questão. As concentrações de diuron nas amostras de solo dos lotes A e B nas diferentes profundidades estão expressas na Tabela 3. A concentração de diuron encontrada em algumas amostras superficiais (0-10 cm) do solo bioaumentado variou de 5,5 a 8,9 mg kg⁻¹ de solo. Entretanto não foi detectada a presença dos metabólitos do diuron em todas as amostras de solo analisadas durante o período do estudo. Este resultado pode indicar que os metabólitos não estavam presentes ou que estes estavam em concentrações muito baixas, isto é, menores que o LQ (5 mg Kg⁻¹ de solo).

A Figura 4 apresenta um cromatograma de uma amostra monitorada em lotes de solos enriquecidos com Hexaron WG[®], obtido nas condições otimizadas, com tempo de retenção do diuron em 18,705 minutos na análise por CLAE/DAD. O pico cromatográfico referente ao diuron foi confirmado por adição do padrão de diuron.

Tabela 3. Concentração de diuron (mg Kg^{-1}) em amostras de solo, em 5 semanas de monitoramento.

Lotes	Concentração de diuron (mg Kg^{-1})				
	Sem.1	Sem.2	Sem. 3	Sem. 4	Sem.5
A 0 – 10 cm	8,44	5,50	< LQ	< LQ	< LQ
A 10 – 20 cm	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
A 20 – 30 cm	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
B 0 – 10 cm	8,87	< LQ	6,30	6,29	< LQ
B 10 – 20 cm	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
B 20 – 30 cm	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

**Figura 4.** Cromatograma de amostra de solo monitorada nas condições: injeção de 20 mL, fase móvel metanol:água 50:50 (v/v), vazão de 1 mL min^{-1} , coluna Waters XTerra RP18, 5 μm , 4,6 x 150 mm e pré-coluna Waters XTerra RP18, 5 μm , 3,9 x 20 mm e 254 nm.

Conclusões

A metodologia desenvolvida para a quantificação de diuron, DCPMU, DCPU e DCA, demonstrou-se eficaz para a determinação simultânea na faixa compreendida entre 5,00 e 200,00 mg Kg^{-1} de solo.

As recuperações do herbicida diuron e dos metabólitos DCPMU, DCPU e DCA do solo, pelo método apresentado variaram de 85,00% a 99,68% com R.S.D. inferior a 10%.

A metodologia desenvolvida apresentou RSD quanto à repetibilidade de 0,78 %; 2,20 %; 2,17 % e 1,72 % e valores dos RSD quanto à precisão intermediária foram de 2,48 %; 2,11 %; 3,10 % e 2,77 % para diuron, DCPMU, DCPU e DCA, respectivamente.

O método de análise desenvolvido foi eficiente para quantificação do diuron em alguns lotes da superfície (0-10 cm), mas as concentrações dos metabólitos formados nas cinco semanas de

monitoramento de solo enriquecidos com Hexaron WG® ficaram abaixo dos limites de quantificação.

Procedimentos para a concentração dos extratos precisam ser desenvolvidos para diminuir os limites de quantificação e de detecção do diuron e dos metabólitos DCPMU, DCPU e DCA no solo.

Referências

ANDREU, V.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 23, n. 10/11, p. 772–789, 2004.

BLANCO, F. M. G. Controle das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 9., 2003, Catanduva. *Anais...* Catanduva, 2003. p. 83-89.

BRASIL. Ministério Da Agricultura. *Agronegócio Brasileiro: Uma Oportunidade de Investimentos*. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 27 nov. 2007.

CASTILLO, M. A.; FELISA, N.; ARAGON, P.; CUESTA, G.; SABATER, C. Biodegradation of the herbicide diuron by streptomices isolated from soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Barking, v. 58, p. 196-202, 2006.

CETESB. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2009.

GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere*, Oxford, v. 56, n. 11, p. 1021-1032, 2004.

GOODDY, D. C.; CHILTON, P. J.; HARRISON, I. A field study to assess the degradation and transport of diuron and its metabolites in a calcareous soil. *The Science of the Total Environment*, Amsterdam, v. 297, n. 1/3, p. 67–83, 2002.

GUZZELLA, L.; CAPRI, E.; CORCIA, A.; BARRA, A.; CARACCILO, B.; GIULIANO, G. Fate of Diuron and Linuron in a Field Lysimeter Experiment. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 35, n. 1, p. 312-323, 2006.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA – IEA. *Defensivos Agrícolas: expectativa de aumento da demanda*

em 2007. 2007. Disponível em: <<http://www.sindag.com.br/upload/IEA-expectativaaumentodemandadoc.doc>>. Acesso em: 10 dez. 2007.

JACOBSON, A. R.; DOUSSET, S.; GUICHARD, N.; BAVEYE, P.; ANDREUX, F. Diuron mobility through vineyard soils contaminated with copper. *Environmental Pollution*, Barking, v. 138, n. 2, p. 250-259, 2005.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Determination of sugar cane herbicides in soil and soil treated with sugar cane vinasse by solid-phase extraction and HPLC-UV. *Talanta*, London, v. 77, n. 2, p. 701-709, 2008.

MARCHESE, S.; PERRET, D.; GENTILI, A.; CURINI, R.; MARINO, A. Development of a Method Based on Accelerated Solvent Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry for Determination of Arylphenoxypropionic Herbicides in Soil. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Chichester, v. 15, n. 6, p. 393-400, 2001.

NAVARRO, S.; VELA, N.; NAVARRO, G. An Overview on the Environmental Behaviour of Pesticide Residues in Soils. *Spanish Journal of Agricultural Research*, Madrid, v. 5, n. 3, p. 357-375, 2004.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. *Guia de herbicidas*. 4. ed. Londrina: edição dos autores, 1998. p. 229-240.

ROSSI, S. *Uso de biomarcadores para a detecção de efeitos subletais dos pesticidas Roundup® e Hexaron® em Astyanax sp. (Pisces, Teleostei)*. 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SILVA, A. A. R.; LOBO, I.; GUEDES, C. L. B.; PINTO, J. P. Análise de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em solos utilizando agitação ultra-sônica, tubo aquecedor/minicondensador e cromatografia gasosa. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 27, n. 2, p. 105-112, 2006.

SPADOTTO, C. A. *Comportamento e Destino Ambiental de Herbicidas*. Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. 2002. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/herbicidas/>>. Acesso em: 2 ago. 2008.

THEVENOT, M.; DOUSSET, S.; HERTKORN, N.; SCHMITT-KOPPLIN, P.; ANDREUX, F. Interactions of diuron with dissolved organic matter from organic amendments. *Science of the Total Environment*, Amsterdam, v. 407, n. 14, p. 4297-4302, 2009.

TIXIER, C.; BOGAERTS, P.; SANCELME, M.; BONNEMOY, F.; TWAGILIMANA, L.; CUER,

A.; BOHATIER, J.; VESCHAMBREL, H. Fungal biodegradation of a phenylurea herbicide, diuron: structure and toxicity of metabolites. *Pest Management Science*, Sussex, v. 56, n. 5, p. 455-462, 2000.

ÚNICA. *Produção de cana-de-açúcar do Brasil das safras 1990/91 a 2006/07*. Disponível em: <<http://www.portalunica.com.br/portalunica/?Secao=referencia>>. Acesso em: 27 nov. 2007.

VEGA, A. B.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 538, n. 1/2, p. 117-127, 2005.

YANG, Y.; SHENG, G.; HUANG, M. Bioavailability of diuron in soil containing wheat-straw-derived char. *Science of the Total Environment*, Amsterdam, v. 354, n. 2/3, p. 170-178, 2006.