

METODOLOGIA ANALÍTICA DE RESÍDUO DO HERBICIDA 2,4-D (ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO) EM AMOSTRAS DE ÁGUA EM ÁREA DE CULTIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR

ANTONIO LUIZ CERDEIRA *

MARIA CONCEIÇÃO PERES YOUNG PESSOA **

PIERINA SUELI BONATO ***

REGINA HELENA COSTA QUEIROZ ****

VERA LUCIA LANCHOTE ****

Desenvolveu-se método de análise de resíduo do herbicida 2,4-D para amostras de água coletadas na microbacia do Córrego do Espraiado no período de 1996 a 1999. A avaliação da tendência do produto alcançar camadas mais profundas do solo foi efetuada por simulação de sistemas (CMLS-94-“Chemical Movement in Layered Soils”) para melhor entendimento do comportamento do herbicida. O método analítico, utilizando cromatografia a gás, permitiu correlação de 99,9% entre a área dos picos e a concentração existente, indicando alta eficiência. Não foi encontrado resíduo de 2,4-D na água coletada nos anos de 1996 a 1999, o que também reforça os dados encontrados por simulação. Esses indicaram que 60 cm foi a profundidade máxima atingida no período de três anos, tanto para o Latossolo Roxo quanto para o Latossolo Vermelho Escuro. O mesmo estudo evidenciou que a partir do segundo ano após a aplicação já não havia mais resíduos do produto em ambos os solos estudados.

PALAVRAS-CHAVE: ÁGUA; CANA-DE-AÇÚCAR; 2,4-D-RESÍDUOS.

1 INTRODUÇÃO

A alta persistência de diversos herbicidas no ambiente têm demandado estudos de impacto ambiental de compostos aplicados no campo, principalmente em áreas agrícolas sobre mananciais utilizados

* Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. (e-mail: cerdeira@cnpma.embrapa.br).

** Matemática, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

*** Farmacêutica, Ph.D., Professora, Departamento de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP.

**** Farmacêutica, Ph.D., Professora, Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, Ribeirão Preto, SP.

para o consumo. A avaliação do impacto ambiental para identificar, interpretar e prevenir os efeitos ambientais causados pela agricultura requer o desenvolvimento de métodos para estabelecer relações entre a ação “potencialmente poluidora” e a degradação efetivamente verificada. Nesse contexto, insere-se a avaliação de risco e o monitoramento ambiental que subsidiam a análise do efeito potencial adverso passível de ocorrer no ambiente ou do impacto ambiental negativo já constatado. Entende-se por avaliação de risco ambiental “a caracterização do efeito potencial adverso causado em seres humanos expostos a químicos no ambiente” (NEELY, 1994), cujo efeito considera a atividade exercida no ambiente. Os aspectos mais importantes para a geração de impactos negativos devem ser avaliados considerando-se: a) a identificação de perigo; b) o estabelecimento de relações entre a quantidade representativa da presença do agente (concentração ou dose) e a incidência de efeito adverso; c) a avaliação de exposição ao perigo, e d) a caracterização do risco (estimativa da incidência de efeitos à saúde sob diferentes condições de avaliação de exposição).

A região de Ribeirão Preto, SP, é abastecida com água de mananciais subterrâneos proveniente do aquífero Guarani, o maior e mais importante lençol de água subterrânea de toda a região centro-sul do Brasil. A extensão desse aquífero ultrapassa fronteiras estaduais e internacionais (passa por oito estados brasileiros e partes da Argentina, Uruguai e Paraguai), ocupando área de aproximadamente 1.200.000 km² (CERDEIRA et al., 1998). Na microbacia do Córrego do Espriado, localizado nesta região, encontra-se um dos pontos de recarga do aquífero, cuja água se infiltra nas camadas mais profundas do solo. O predomínio da monocultura intensiva de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e a presença de solo arenoso aumentam a vulnerabilidade da água subterrânea à exposição de agrotóxicos aplicados na superfície. Torna-se assim imprescindível a realização de estudos que abordem de forma integrada os aspectos relacionados com a qualidade da água dos lençóis subterrâneos e as práticas agrícolas adotadas na região.

Entre os produtos aplicados na cultura de cana-de-açúcar encontra-se o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), herbicida comercializado sob a forma de derivados (ésteres, aminas) ou de sais, que resultam em diferenças significativas na solubilidade e na volatilidade do produto. A meia-vida do 2,4-D no solo varia de sete a 16 dias, dependendo principalmente dos microrganismos do solo, os quais são os principais responsáveis pela degradação do herbicida. Em ambientes aquáticos, a velocidade de degradação do herbicida é acelerada com o aumento de nutrientes, sedimento e carbono orgânico dissolvido. A meia-vida do 2,4-D em água varia entre uma e diversas semanas, dependendo

também das condições de oxigenação da água. Apesar da meia-vida relativamente curta em água e no solo, o 2,4-D tem sido detectado em baixas concentrações nas águas superficiais do Canadá e de cinco estados americanos (SANCHES-BRUNETE et al., 1991).

Para prevenir problemas de contaminação de água com agrotóxicos, os países da Comunidade Européia adotam como concentração máxima admissível (MAC) 0,1 µg/L por composto na água potável, sem no entanto, ultrapassar 0,5 µg/L ao considerar a soma de todos os compostos. Limites semelhantes são adotados por outros países como Estados Unidos e Canadá (CARNEY, 1991, WALKER et al., 2000). No Brasil, a Portaria n.1469 do Ministério da Saúde (de 29 de dezembro de 2000), que indica os limites máximos de pesticidas em água, estabelece 30,0 ppb como máximo aceitável para 2,4-D (BRASIL, 2000). Os métodos convencionais de pesquisa e monitoramento de poluentes ambientais utilizavam, até o final da década de 80, basicamente a técnica da cromatografia a gás com detectores seletivos (MS, ECD, NPD), após extração com solventes orgânicos (EDGELL et al., 1993; WANG e HUNG, 1989). No entanto, a polaridade química dessas substâncias muitas vezes dificulta a análise direta por cromatografia a gás exigindo etapa prévia de derivação (BERTRAND et al., 1987; BOGUS et al., 1990).

A técnica da cromatografia líquida de alta eficiência também vem sendo empregada na análise de moléculas de herbicidas que absorvem na região do ultravioleta e que apresentam alto coeficiente de extinção molar. O emprego de detectores por arranjo de diodos ou por ultravioleta apresentam capacidade para analisar praguicidas em concentrações inferiores a 0,1 µg/L de água (LEE et al., 1983). Vários outros métodos também estão sendo propostos como o uso do Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (WALKER et al., 2000) entre outras derivações (VINK e POLL, 1996; FARRAN et al., 1999; HOUBEN et al., 1999).

A avaliação de risco ambiental do uso de 2,4-D na área do Córrego do Espreado também pode ser realizada a longo prazo, utilizando-se técnicas de simulação de sistemas. Essa avaliação integra aspectos significativos à compreensão e quantificação de efeitos adversos, por meio da representação matemática dos principais processos que governam a dinâmica de agrotóxicos no ambiente e da geração de cenários que favoreçam a interpretação dos efeitos decorrentes de diversas condições de exposição. Vários simuladores estão disponíveis para a realização dessa avaliação (PESSOA et al., 1997) entretanto, a relação custo X benefício deve ser considerada no processo de escolha. Nesse sentido, o CMLS-94 "Chemical Movement in Layered Soils" (NOFZIGER e HORNSBY, 1994) possibilita calcular a lixiviação e

persistência de agrotóxicos em solo, muito embora não permita avaliar a reaplicação do agrotóxico no mesmo cenário simulado. O simulador disponibiliza valores de profundidade e concentração do agrotóxico aplicado, fornece a opção de saída gráfica para o acompanhamento de profundidades máximas alcançadas e respectivas concentrações presentes no perfil do solo ao longo do tempo simulado.

No presente estudo avaliou-se a presença do 2,4 D em água e o potencial de contaminação do aquífero Guarani, sendo utilizadas técnicas cromatográficas de análise de resíduos e modelo matemático para prever o comportamento do herbicida durante vários anos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Após estudo inicial de uso de herbicidas na área verificou-se que o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) foi aplicado comercialmente na microbacia na dose de 2,0 Kg/ha de ingrediente ativo em 1996. Foram coletadas amostras em água superficial no final do Córrego Espreado, local em que se transforma em lagoa natural na microbacia, durante os anos agrícolas de outubro/janeiro de 1996 a 1999. As amostras foram analisadas segundo o procedimento proposto para avaliar a contaminação por resíduo do herbicida 2,4-D, empregando cromatografia a gás com captura de elétrons (WALISZEWSKI e SZYMCZWSKI, 1985; SILTANEN e MUTANEN, 1985; GURKA et al., 1986).

· *Reagentes*

Preparou-se a solução-padrão de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético, 99%) em metanol grau cromatografia (Merck) na concentração de 19,80 µg/mL. A partir dessa solução estoque foram preparadas diluições nas concentrações de 1,584, 0,792, 0,396, 0,198 e 0,099 µg/mL.

A solução do padrão interno, ácido 3,4 diclorobenzóico, foi preparada em metanol grau cromatografia (Merck) na concentração de 40,0 µg/mL.

Empregou-se no procedimento de hidrólise solução de hidróxido de sódio 6M preparada em água purificada no sistema MILLI Q® (Millipore). A solução metanólica de ácido clorídrico foi preparada em metanol secado (0,01 % de água, P.A., Merck), na concentração de 0,5 N. No procedimento de extração foi empregado o diclorometano grau análise de resíduo (Grupo Química), e na derivação tolueno grau análise de resíduo (Grupo Química).

· Preparação de amostras e procedimento de hidrólise e extração

As amostras de água foram filtradas através de membranas de 0,45 μm (Millipore) para remoção de material em suspensão e, a seguir, alíquotas de 100 mL foram transferidas para funis de separação e alcalinizadas com 300 μL da solução de NaOH 6M. Após agitação, durante 1 hora, foram adicionados 200 μL de ácido sulfúrico (grau P.A, Merck) e 5 mL de diclorometano. A seguir, as misturas foram submetidas à agitação durante 20 min e as fases orgânicas recuperadas. As fases aquosas foram novamente extraídas com mais duas porções de 5 mL de diclorometano e os extratos combinados e evaporados a secura sob fluxo de ar. Os resíduos obtidos foram submetidos ao procedimento de derivação.

· Procedimento de derivação

Os resíduos obtidos na etapa de extração foram adicionados de 50 μL da solução do padrão interno (ácido 3,4 - diclorobenzóico) e de 1 mL da solução de ácido clorídrico, preparada em metanol secado na concentração de 0,5 N. Após agitação em "mixer" durante 1 min, os tubos foram aquecidos a 60°C (banho de água) durante 1 hora. Depois do resfriamento dos tubos em água corrente, os derivados obtidos foram adicionados de 2 mL de água e extraídos com 500 μL de tolueno, com agitação mecânica durante 30 min. Após centrifugação foram recuperados 100 μL das fases orgânicas e 2 μL injetados no cromatógrafo.

· Curvas de calibração

As curvas de calibração foram construídas de maneira similar após enriquecimento de alíquotas de 100 mL de água purificada em sistema MILLI Q®, Millipore, com 100 μL de cada uma das soluções-padrão do herbicida, resultando em concentrações de 0,099 a 1,584 μg de 2,4-D /L de água.

· Análise cromatográfica

A análise do herbicida nas amostras de água foi realizada empregando-se cromatógrafo a gás GC17-A, equipado com injetor split/splitless e detector por captura de elétrons (Shimadzu). A separação do

herbicida e padrão interno foi realizada mediante coluna capilar DB-5, 0,25 mm x 30 m, espessura do filme de 0,25 μm (j & w Scientific), com programação de temperatura iniciando em 180 °C (5 min) e finalizando em 255°C, com aquecimento gradual de 25°C/min. As temperaturas do vaporizador e do detector foram estabelecidas em 220 e 225°C, respectivamente. Empregou-se nitrogênio como gás de arraste, na vazão total de 22 mL/min. O injetor foi operado no modo split, sendo que o volume injetado foi de 2 μL . Os picos foram analisados em integrador Shimadzu, modelo CR6-A, operando na atenuação 3.

- Simulação: 2,4-D em Latossolo Vermelho-Escuro e Latossolo Roxo

A simulação com 2,4-D foi realizada para avaliar sua tendência de contaminação de águas subterrâneas da área de afloramento do Aquífero Guarani, Córrego do Espraiado. Pela simulação avaliou-se a dinâmica do produto no perfil vertical de Latossolo Vermelho-Escuro e Latossolo Roxo dessa área de estudo.

A entrada de dados necessária para o uso do CMLS-94 envolveu: a) cultura: Kc (coeficiente cultural) da cultura; profundidade de raiz da cultura; data de plantio; b) pesticida: Koc (coeficiente de partição no carbono orgânico; $t_{1/2}$ (meia vida); profundidade de aplicação; data de aplicação; c) solo (para cada horizonte): profundidade do horizonte; % carbono orgânico; densidade do solo; conteúdo volumétrico de umidade (capacidade de campo, ponto de murcha permanente; saturação); d) clima: dados diários de temperaturas máxima e mínima, pluviosidade e demanda de evapotranspiração.

Os dados relativos às características dos solos simulados, Latossolo Roxo e Latossolo Vermelho-Escuro foram relatados por PESSOA et al. (1999). O Koc (L/kg) foi calculado em função do Kd (coeficiente de adsorção) estimado pelo modelo Freundlich e das %CO (porcentagem de carbono orgânico) nas diferentes profundidades de solo utilizando-se a seguinte equação: $Koc = (Kd/\%CO) * 100$, na qual as %CO por profundidades de solo foram reportadas por PESSOA et al. (1998) e os valores de Kd (coeficiente de adsorção) para Latossolo Vermelho-Escuro e Latossolo Roxo por LUCHINI et al. (1989). A meia vida em solo do produto utilizada foi de 10 dias. Como não há informação técnica disponibilizada na literatura sobre esse valor optou-se por utilizar valores médios do produto fornecidos na Base de Dados do simulador (que corroboram os fornecidos pela Dow Química quanto ao perfil técnico do princípio ativo do produto).

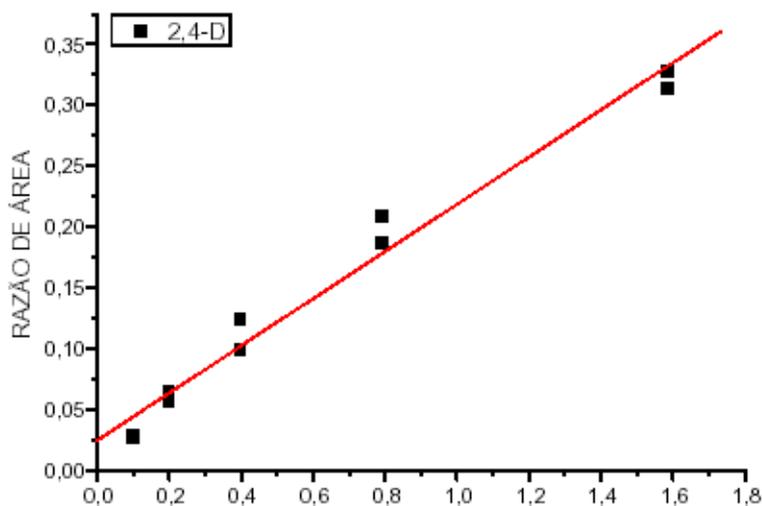
A aplicação simulada do produto ocorreu em outubro do primeiro ano (1996), um mês após a brotação de cana na dosagem de 2,0 Kg/ha.

As simulações foram realizadas separadamente para os dois solos considerados para o período de 3 anos consecutivos com os dados climáticos de Ribeirão Preto, SP (PESSOA et al., 1998). O simulador não possibilita avaliar reaplicações consecutivas do produto.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

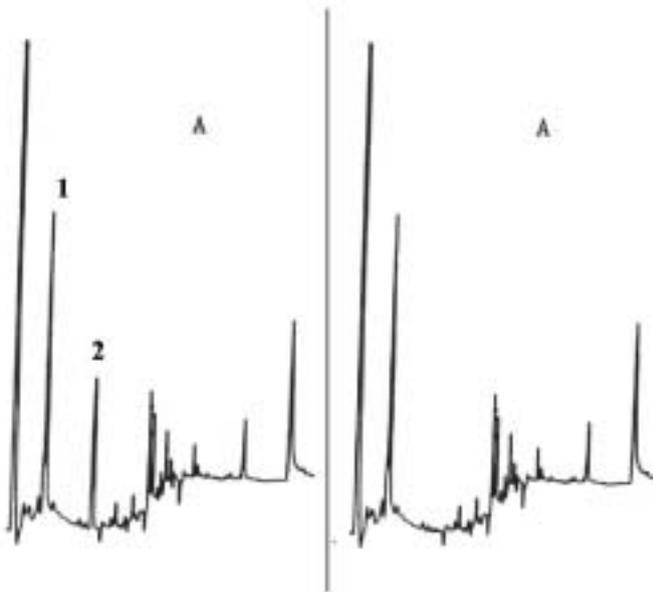
O método desenvolvido e validado emprega novo procedimento de derivação baseado na esterificação do ácido carboxílico, usando ácido clorídrico/metanol e permite a quantificação do herbicida 2,4 D em concentrações iguais ou maiores que 0,1 µg/L de água. O reagente de esterificação é de baixo custo, disponível em qualquer laboratório e de menor toxicidade que o diazometano empregado na maioria dos procedimentos. A curva de calibração obtida na análise do herbicida mostra relação linear entre as razões de área (área do herbicida/área do padrão interno) e as concentrações do 2,4D na água no intervalo de 0,099 a 1,584 µg/L. (Figura 1).

FIGURA 1 - CURVA DE CALIBRAÇÃO REFERENTE A ANÁLISE DO HERBICIDA 2,4-D ($Y = 0,02 + 0,19 X$; $R = 0,989$) EM ÁGUA (Média dos pontos na Razão de Área: 0,029; 0,061; 0,112; 0,198; 0,321. Coeficiente de variação entre os diferentes pontos da curva de calibração, Razão de Área/Concentração, = 17,19%)



Na análise de água enriquecida com o herbicida 2,4-D e submetida ao procedimento de extração proposto obteve-se a completa resolução do herbicida e do padrão interno, conforme mostrado no cromatograma (Figura 2). Não foi verificada ocorrência de resíduos quantificáveis (limite de quantificação de 0,1 µg/L; CV < 20% em 5 determinações) do herbicida nas amostras analisadas em nenhum dos anos estudados, sendo os resultados todos semelhantes ao que está sendo apresentado para o primeiro ano. Ressalta-se a biodegradação relativamente rápida do 2,4 D no ambiente como a principal justificativa para a ausência de resíduos do herbicida em águas superficiais em concentrações maiores que 0,1 µg/L.

FIGURA 2 - CROMATOGRAMAS OBTIDOS NA ANÁLISE DO HERBICIDA 2,4-D EM ÁGUA



A = pico 1 = água enriquecida com padrão interno e pico 2 = 2,4-D.

B - amostra de água coletada na Bacia do Espraiado, sendo o pico 1 = água enriquecida com padrão interno e pico 2 = inexistência de 2,4-D.

Atenuação 3.

· Resultados Obtidos por Simulação

Os resultados obtidos por simulação (Tabela 1) mostram que o 2,4-D apresenta baixa persistência nos solos estudados e baixo potencial de lixiviação, permanecendo ao final de 3 anos simulados em profundidades inferiores a um metro. Assim, o produto não apresentou tendência de risco da contaminação de água subterrânea local já a partir do segundo ano, quando foram registrados valores imperceptíveis de concentrações próximas a zero (Tabela 1).

TABELA 1 - PROFUNDIDADES ATINGIDAS PELO 2,4-D NOS DIFERENTES ANOS SIMULADOS, EM LATOSSOLO ROXO E EM LATOSSOLO VERMELHO-ESCURO PRESENTES NA ÁREA DO CÔRREGO DO ESPRAIADO, RIBEIRÃO PRETO, SP

	Latossolo Roxo		Latossolo Vermelho-Escuro	
	Prof (m)	Qtd (kg/ha)	Prof (m)	Qtd(kg/ha)
Ano 1	0,453	$3,4 \times 10^{-12}$	0,463	$3,4 \times 10^{-12}$
Ano 2	0,601	$2,2 \times 10^{-24}$	0,591	$1,4 \times 10^{-23}$
Ano 3	0,847	0	0,877	0

Prof (m) = profundidade em metro.
Qtd (kg/ha) = quantidade em kg/ha.

4 CONCLUSÃO

O método analítico utilizado permitiu inferir a não ocorrência de resíduo de 2,4-D em água em concentrações iguais ou maiores que 0,1 µg/L, nos anos de 1996 a 1999.

Os resultados obtidos com simulador CMLS-94 demonstraram movimentação do herbicida até a profundidade máxima de 60 cm, tanto em Latossolo Roxo quanto em Latossolo Vermelho Escuro. Esse mesmo estudo mostrou que a partir do segundo ano já não haveria mais resíduos do produto nas profundidades registradas para os dois solos estudados no local. Também foi observada menor concentração final estimada em Latossolo Roxo quando comparado aos resultados obtidos em Latossolo Vermelho-Escuro.

Abstract

ANALYTICAL METHODOLOGY OF 2,4-D (2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID) HERBICIDE RESIDUES IN SAMPLES OF WATER IN A SUGAR-CANE CULTIVATION AREA IN BRAZIL

A method of analysis of the herbicide 2,4-D was developed for water samples collected in the Espiraiado watershed in the period of 1996 and 1999. The evaluation of the tendency of the product to reach deeper layers of the soil was made by systems simulation (CMLS-94-“Chemical Movement in Layered Soils”) for better understanding of the herbicide behavior. The gas chromatography analytical method resulted in a 99.9% correlation of the peaks area in the graphics and the herbicide concentration, and indicated that it was highly effective. No residue of 2,4-D was detected in water in the years of 1996 to 1999, which also reinforce the data obtained by simulation. This indicated the leaching down to 60 cm., reached in a three-year period, in both types of soils, “Latossolo Roxo” and “Latossolo Vermelho-Escuro” The same study evidenced that from the second year after application there were no more product residues in both types of the soils studied.

KEY WORDS: WATER; SUGAR CANE; 2,4-D-RESIDUES.

REFERÊNCIAS

- 1 BERTRAND, M. J.; AHMED, A. W.; SARRASIN, B.; MALLET, V. N. Gas chromatographic and mass spectrometric determination of chlorophenoxy acids and related herbicides as their (cyanoethyl) dimethylsilyls. **Analytical Chemistry**, v. 59, p. 1302-1306, 1987.
- 2 BOGUS, E. R.; WATSCHKE, T. L.; MUMMA, R. O. Utilization of solid-phase extraction and reversed-phase and ion-pair chromatography in the analysis of seven agrochemicals in water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 142-144, 1990.
- 3 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no. 1469, de 29 dez. 2000. Norma de qualidade de água para consumo humano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 jan. de 2001. Seção 1, p. 19-23.
- 4 CARNEY, M. European drinking water standards. **Journal AWWA**, v. 83, p. 48-55, 1991.
- 5 CERDEIRA, A. L.; LANCHOTE, V. L.; QUEIROZ, R. C.; GOMES, M. A. F.; UETA, J. Resíduos de herbicidas em amostras de solo e água de área de cana-de-açúcar no Brasil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON SUSTAINABLE AGRICULTURE IN TROPICAL AND SUBTROPICAL HIGHLANDS WITH ESPECIAL REFERENCE TO

- LATIN AMERICA, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1998. CD-ROM
- 6 EDGELL, K. W.; ERB, E. J.; WESSELMAN, R. J.; LONGBOTTOM, J. E. Gas chromatographic/electron capture detection method for determination of chlorinated acids in water: collaborative study. **Journal of the AOAC International**, v. 76, n. 5, p. 1098-1112, 1993.
 - 7 FARRAN, A. ; SERRA, C.; SEPANIAK, M. J. Three different approaches for the separation of MCPA and 2,4-D by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 835, p. 209–215, 1999.
 - 8 GURKA, D. F.; SHORE, F. L.; PAN, S. T. Single-laboratory validation of EPA method 8150 for determination of chlorinated herbicides in hazardous waste. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 69, n. 6, p. 970-975, 1986.
 - 9 HOUBEN, A.; MEULENBERG, E.; NOIJ, T. ; GRONERT, C.; STOKS, P. Immuno affinity extraction of pesticides from surface water. **Analytica Chimica Acta**, v. 399, p. 69-74, 1999.
 - 10 LEE, H. B.; CHAU, A. S. Y. Analysis of pesticide residues by chemical derivation. VI. Analysis of ten acid herbicides in sediment. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 66, n. 4, p. 1023-1028, 1983.
 - 11 LUCHINI, L. C.; WIENDL, F. M.; RUEGG, E. F. Comportamento sortivo de herbicidas em solos. In: CONGRESSO GERAL DE ENERGIA NUCLEAR, 2., 1989, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CENA-USP, 1989. p. 339-347.
 - 12 NEELY, W. B. **Introduction to chemical exposure and risk assessment**. Boca Raton: Lewis Publishers/CRC Press, 1994. 190 p.
 - 13 NOFZIGER, D. L.; HORNSBY, A. G. **CMLS-94**: chemical movement in layered soils. Oklahoma: University of Florida/Department of Agronomy, 1994. 76 p.
 - 14 PESSOA, M. C. P. Y.; LUCHIARI JR., A.; FERNANDES, E. N.; LIMA, M. A. de. **Principais modelos e simuladores utilizados para análise de impactos ambientais das atividades agrícolas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. 83 p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 8).

- 15 PESSOA, M. C. P. Y.; GOMES, M. A. F.; DORNELAS DE SOUSA, M.; NICOLELLA, G.; CERDEIRA, A. L.; MONTICELLI, A. Simulação do movimento de herbicidas utilizados no monocultivo de cana-de-açúcar em Areia Quartzosa da área de recarga do Aquífero Guarani (antigo Botucatu) em Ribeirão Preto, SP. **Revista Científica Rural**, v. 3, n. 2, p. 11-19, 1998.
- 16 PESSOA, M. C. P. Y.; GOMES, M. A. F.; SOUZA, M. D. de; CERDEIRA, A. L.; NEVES, M. C.; NICOLELLA, G. Estudos de simulação do movimento vertical de herbicidas em solos com cana-de-açúcar na microbacia do córrego do Espreado, Ribeirão Preto (SP). Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 44 p. (Embrapa Meio Ambiente, Boletim de Pesquisa, 1).
- 17 SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; PÉREZ, S.; TADEO, J. L. Determination of phenoxy ester herbicides by gas and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 522, p. 235-240, 1991.
- 18 SILTANEN, H.; MUTANEN, R. Formation of derivatives of chlorophenoxyacids and some other herbicides. **Chromatographia**, v. 20, n. 11, p. 685-688, 1985.
- 19 VINK, M.; POLL, J. M. Gas chromatographic determination of acid herbicides in surface water samples with electron-capture detection and mass spectrometric confirmation. **Journal of Chromatography A**, v. 733, p. 361-366, 1996.
- 20 WALISZEWSKI, S.M.; SZYMCZNSKI, G.A. Modified method for the GC determination of chlorophenoxyacids acetic herbicides (MCPA and 2,4-D) in soil and water. **Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie**, v. 322, p. 510-511, 1985.
- 21 WALKER, A. E.; HOLMAN, R. E.; LEIDY, R. B. ELISA and GC/MS analysis of pesticide residues in North Carolina. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 36, p. 67-74, 2000.
- 22 WANG, W. K.; HUANG, S. D. Rapid determination of seven herbicides in water or isooctane using C18 and florisil sep-pak cartridges and gas chromatography with electron-capture detection. **Journal of Chromatography**, v. 483, p. 121-129, 1989.