

Aplicação da espectroscopia vibracional no infravermelho, acoplada a análises estatísticas multivariadas, para a análise dos efeitos do uso de herbicidas à base do Diuron em feijões de tipo de grão carioca

Application of infrared vibrational spectroscopy, coupled with multivariate statistical analyses, to analyze the effects of using Diuron based herbicides on Carioca beans

Aplicación de la espectroscopia vibratoria en el infrarrojo, acoplada a los análisis estadísticos multivariados, para el análisis de los efectos del uso de herbicidas a base de Diuron en frijoles del tipo de grano carioca

Recebido: 17/10/2023 | Revisado: 31/10/2023 | Aceitado: 02/11/2023 | Publicado: 06/11/2023

Níve Bastos Oliveira Carvalho
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4558-5340>
Universidade do Vale do Paraíba, Brasil
E-mail: nivebastosoliveira@yahoo.com.br

Lucas Ferreira Lyra
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5229-6566>
Universidade do Vale do Paraíba, Brasil
E-mail: lucasferrerialyra@gmail.com

Kumiko Koibuchi Sakane
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7524-5473>
Universidade do Vale do Paraíba, Brasil
E-mail: kumiko.sakane@gmail.com

Resumo

O Diuron é um herbicida do grupo químico ureia e, mesmo sendo considerado tóxico e persistente no meio ambiente, está entre os herbicidas comercializados mais vendidos no Brasil. O objetivo deste trabalho é analisar os espectros infravermelhos de folhas de plantas tratadas por um herbicida à base de Diuron e os do herbicida em si. Para isso, foram realizados dois plantios de feijão de tipo de grão Carioca, sendo que, no primeiro plantio, o herbicida foi aplicado no solo em quantidades controladas e, no segundo plantio, o herbicida foi pulverizado nas folhas do feijão, utilizando dosagens iguais às do primeiro plantio. No primeiro plantio, foram obtidos 13 espectros no infravermelho das folhas, utilizando as técnicas de preparação de pastilhas e o espectrofotômetro Spectrum 2000, da PerkinElmer. No segundo plantio, foram obtidos 25 espectros das folhas, utilizando as técnicas de UATR e o espectrofotômetro Spectrum Spotlight 400 FTIR, da PerkinElmer. Utilizando os espectros obtidos do segundo plantio, pode-se demonstrar, que a lavagem com água das folhas pulverizadas, mostrou-se eficaz para a remoção do herbicida à base do Diuron. A banda em 1385 cm^{-1} mostrou-se sensível à quantidade de herbicida aplicada no solo, pois sua intensidade, somente no primeiro plantio, mostrou uma alteração significativa com a quantidade variada de herbicida aplicado. Portanto, pode-se sugerir, que a banda em 1385 cm^{-1} pode estar relacionada à presença do herbicida ou à alteração estrutural da planta.

Palavras-chave: Diuron; Herbicida; Plantas; Espectroscopia no infravermelho; FTIR-UATR; HCA; PCA.

Abstract

Diuron is an herbicide from the urea chemical group and, even though it is considered toxic and persistent in the environment, it is among the best-selling commercial herbicides in Brazil. The objective of this study is to analyze the infrared spectra of plant leaves treated with a Diuron based herbicide and those of the herbicide itself. To this end, two plantings of Carioca beans were carried out, and in the first planting, the herbicide was applied to the soil in controlled quantities, and, in the second planting, the herbicide was sprayed on the bean leaves, using dosages equal to those of the first planting. In the first planting, 13 infrared spectra of the leaves were obtained using pellet preparation techniques and the Spectrum 2000 spectrophotometer, from PerkinElmer. In the second planting, 25 spectra were obtained, using UATR techniques and the Spectrum Spotlight 400 FTIR spectrophotometer, from PerkinElmer. Using the spectra obtained from the second planting, it was demonstrated that washing the pulverized leaves with water was effective for removing the Diuron herbicide. The band at 1385 cm^{-1} proved to be sensitive to the amount of herbicide applied to the soil, as its intensity, only in the first planting, showed a significant change with the varying amount of herbicide applied.

Therefore, it can be suggested that the band at 1385 cm^{-1} may be related to the presence of the herbicide or to the structural change of the plant.

Keywords: Diuron; Herbicide; Plants; Infrared spectroscopy; FTIR-UATR; HCA; PCA.

Resumen

El Diuron es un herbicida del grupo químico urea y, aunque es considerado tóxico y persistente en el medio ambiente, está entre los herbicidas comercializados más vendidos en Brasil. El objetivo de este trabajo es analizar los espectros infrarrojos de hojas de plantas tratadas por un herbicida a base de Diuron y los del propio herbicida. Para eso, fueron realizados dos plantaciones de frijol del tipo de grano carioca, siendo que, en la primera plantación, se aplicó el herbicida al suelo en cantidades controladas y, en la segunda, el herbicida fue pulverizado sobre las hojas del frijol, utilizando dosis iguales de la primera plantación. En la primera plantación, se obtuvieron 13 espectros infrarrojos de las hojas, utilizando las técnicas de preparación en tabletas y el espectrofotómetro Spectrum 2000 de la Perkin Elmer. En la segunda plantación, se obtuvieron 25 espectros de las hojas, utilizando las técnicas UATR y el espectrofotómetro Spectrum Spotlight 400 FTIR, de la Perkin Elmer. Utilizando los espectros obtenidos de la segunda plantación, se puede demostrar que el lavado con agua de las hojas pulverizadas fue efectivo para eliminar el herbicida a base de Diuron. La banda en 1385 cm^{-1} se mostró sensible a la cantidad de herbicida aplicada al suelo, pues su intensidad, solamente en la primera plantación, presentó una alteración significativa con la cantidad variada de herbicida aplicada. Por lo tanto, se puede sugerir que la banda en 1385 cm^{-1} puede estar relacionada a la presencia del herbicida o al cambio estructural de la planta.

Palabras clave: Diuron; Herbicida; Plantas; Espectroscopia infrarroja; FTIR-UATR; HCA; PCA.

1. Introdução

O crescimento da população mundial e, conseqüentemente, da sua demanda por alimentos, aumentam a pressão sobre a produtividade da agricultura ao redor do mundo. Para aumentar a produção agrícola mundial, muitos países utilizam pesticidas e fertilizantes, porém, o uso excessivo de ambos, pode danificar o meio ambiente e todos que tem contato direto com estes produtos (Almeida et al., 2023; Li et al., 2021; Manonmani et al., 2020; Salomão et al., 2020; Tandon & Pant, 2019).

Em 2020, o Brasil foi o segundo maior exportador de alimentos do mundo e, entre suas produções agrícolas, destacaram-se as de cana-de-açúcar, milho e soja (Vieira et al., 2020). Devido ao grande volume de exportação desses produtos, o Brasil também foi um dos maiores consumidores mundiais de agrotóxicos, pois, para manter o sucesso da sua produção e exportação, a utilização de agrotóxicos, como os herbicidas, é fundamental.

Em 2020, o Brasil, além de produzir cerca de 439.765,60 toneladas dos principais ingredientes ativos do agrotóxicos, importou 162.462,18 toneladas, exportou 4.248,53 toneladas e utilizou 563.458,18 toneladas desses ingredientes ativos na sua agricultura nacional (Bueno, 2021; IBAMA, 2020).

Segundo os resultados do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos obtidos pela ANVISA, somente 22 % das 1628 amostras não apresentavam esses contaminantes, sendo que, as amostras que foram consideradas insatisfatórias apresentaram resíduos acima de seus respectivos limites máximos ou resíduos de produtos não autorizados pelo governo brasileiro (Lopes & De Albuquerque, 2021; Rigotto et al., 2014).

Dados reais de intoxicação por uso de agrotóxicos são difíceis de serem obtidos, pois a saúde humana pode ser afetada tanto pelo contato direto com o agrotóxico durante a atividade laboral, como pelo contato indireto, como o consumo de água, alimentos ou até mesmo animais contaminados (Rigotto et al., 2014).

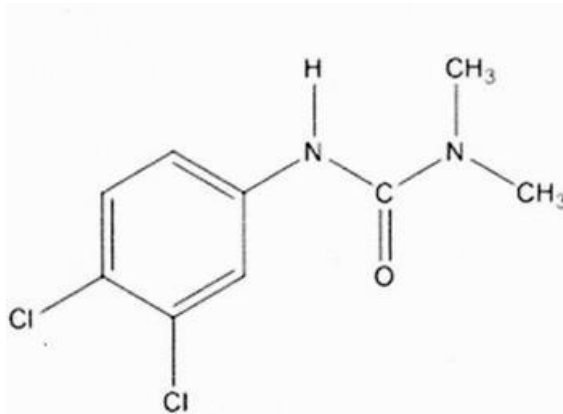
Entre os principais tipos de agrotóxicos mais utilizados na atividade agropecuária brasileira, encontram-se os herbicidas, inseticidas e fungicidas, sendo que, quase 58 % dos agrotóxicos comercializados, são herbicidas (Vieira et al., 2020).

As ervas daninhas crescem de forma agressiva, são altamente adaptadas ao ambiente em que se encontram e interferem no crescimento da cultura, competindo por recursos como água, luz e nutrientes. Assim, entre os métodos de controle, a utilização de herbicida é o mais procurado, uma vez que, o controle eficaz das ervas daninhas, é correlacionado a um maior sucesso produtivo (Cavalcante et al., 2018; Salomão et al., 2020).

O Diuron [3- (3,4-diclorofenil) -1,1-dimetiluréia] é um herbicida do grupo químico ureia, empregado para o controle de ervas daninhas em culturas de abacaxi, alfafa, algodão, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citrus, seringueiras e uva e pode ser absorvido pelas raízes e pelas folhas das plantas nas quais é utilizado (ANVISA, 2012; Gao et al., 2019).

A fórmula estrutural do Diuron é demonstrada na Figura 1.

Figura 1 - Fórmula estrutural do Diuron.



Fonte: Gao et al. (2019).

O Diuron, com aproximadamente 8 mil toneladas vendidas em 2014, para as culturas de milho, soja e cana-de-açúcar, está entre os herbicidas comercializados mais vendidos no Brasil (Vieira et al., 2020).

Para classificar um agrotóxico quanto à sua toxicidade, leva-se em conta sua capacidade de toxicidade aguda, mutagenicidade, carcinogenicidade, efeitos sobre a reprodução e desenvolvimento e a neurotoxicidade. A toxicidade vai variar de acordo com a quantidade de agrotóxico necessário para o desenvolvimento das patologias previamente mencionadas. Essa quantidade é medida em DL50, que representa a dose letal do produto em 50% dos animais estudados. O Diuron recebe uma classificação III em toxicidade, o que significa que a sua DL50 oral, varia de 50 a 500 mg/kg de massa corporal, o que, para uma pessoa adulta, pode representar duas colheres de sopa (ANVISA, 2012). Herbicidas com classificação III, podem causar a contaminação de cursos hídricos subterrâneos ou de superficiais, devido a toxidade de seus ingredientes ativos, prejudicando os seres vivos que consomem ou utilizem esses recursos hídricos (Akcha et al., 2021; Castilhos et al., 2019; Mohammed et al., 2020; Vieira et al., 2020).

O Diuron, em níveis elevados, foi considerado cancerígeno em bexigas de ratos, pois, ratos da raça Wistar, que foram tratados com doses diárias de Diuron de 200 mg/kg de massa corporal, por 8 semanas, desenvolveram necroses e hiperplasia em células da bexiga (Da Rocha et al., 2013). Existe uma suspeita, de que o Diuron possa ser cancerígeno para a espécie humana (Huovinen et al., 2015). Giacomazzi e Cochet (2004), realizaram uma extensa revisão bibliográfica, com o objetivo de se levantar resultados, das principais pesquisas realizadas no mundo, sobre os efeitos tóxicos do Diuron. A pesquisa revelou que foi possível observar, em humanos, perda de peso, anomalias no sangue, fígado e baço, após a ingestão crônica de Diuron. Em cães, pôde-se observar hiperplasias no fígado e, por fim, o Diuron foi considerado moderadamente tóxico para peixes e invertebrados aquáticos.

Para classificar um agrotóxico quanto ao seu perigo ao meio ambiente, avalia-se o seu potencial de transporte (entre os diferentes compartimentos ambientais) e de persistência, sua adsorção/dessorção em solos e sua solubilidade em água. O Diuron é persistente no ambiente, se difunde na água do solo, sofre lixiviação e possui uma solubilidade média em água (Zbair et al., 2020).

A análise de solos, de áreas cultivadas com cana-de-açúcar e com um histórico de utilização do herbicida Diuron, revelou que ele apresenta alta persistência e adsorção no solo, colocando em risco até mesmo ambientes urbanos, por causa de

sua contaminação do solo. A capacidade de persistência do Diuron no solo, foi medida por meio da reprodução, isolamento e caracterização de bactérias do tipo *Acinetobater baumannii*, que são responsáveis pela degradação do Diuron (Roque & De Melo, 2000).

Estudos de solo, realizados em plantações de cebola, localizadas próximas à cidade de Ituporanga (SC, Brasil), revelaram a presença de resíduos de Diuron. O solo foi analisado em três profundidades: 0 a 20 cm, 40 a 60 cm e de 80 a 100 cm. O Diuron foi detectado nas três profundidades, mas em maior quantidade na de 80 a 100 cm (Pinheiro et al., 2011).

Aplicando doses de Diuron nas concentrações de 2 mg/L e 20 mg/L, em solos mais argilosos, e determinando a relação entre a respiração básica e a biomassa microbiana do solo, Vieira (1999) concluiu, que o Diuron prejudica a microflora do solo, interferindo na sua fertilidade.

O Diuron também exibe uma característica de bioacumulação, pois tem uma meia vida longa, solubilidade significativa em água e um alto potencial de transporte, que possibilitam a contaminação do ar, do solo e da água, mesmo após vários anos de sua aplicação (Manonmani et al., 2020; Simões et al., 2017; Tandon & Pant, 2019).

Field et al. (2003), ao estudar a ocorrência de Diuron no solo, em águas superficiais e subterrâneas, em áreas próximas a um cultivo de sementes de grama comercial, observou que o Diuron, aplicado no ano anterior, ainda persistia no solo, além disso, também detectou resíduos de Diuron e seus metabólitos em águas superficiais e em lençóis freáticos rasos.

Sistemas biológicos, tais como, proteínas, lipídios, biomembranas, carboidratos, fármacos, alimentos, plantas, micro-organismos e tecidos animais, são caracterizados com sucesso por espectroscopia no infravermelho, uma vez que, suas técnicas são simples, rápidas, capazes de analisar a composição simultânea de vários constituintes de uma única amostra e não necessitam de reagentes, sendo assim, livre de processos poluentes (Depciuch et al., 2017; Magalhães et al., 2021; Marques et al., 2023; Mendes & Duarte, 2021; Oparin et al., 2020; Pereira et al., 2021).

A energia envolvida nas vibrações moleculares corresponde a dos fótons infravermelhos. Ao ser incidida por radiação infravermelha, tais fótons são absorvidos pelas moléculas em análise, excitando seus modos vibracionais. Esta interação da radiação infravermelha com a matéria, produz o espectro de absorção na região do infravermelho, que traz informações estruturais do composto. A geometria e as forças de interação, entre os átomos constituintes das moléculas, podem ser investigadas, pois os espectros dependem destes fatores.

A quantidade de energia absorvida está relacionada com a concentração de uma amostra, segundo a lei de Beer-Lambert, que determina que, o valor da absorbância (A) de uma amostra é diretamente proporcional à sua espessura (ℓ) e à sua concentração (c), conforme é demonstrado na seguinte equação (Barbosa, 2007; Smith, 2011):

$$A = \epsilon c \ell$$

Em que (ϵ), representa a constante de proporcionalidade e é denominada a absorvidade molar.

Sendo assim, em um espectro de absorção na região do infravermelho, pode-se determinar a concentração de um composto, utilizando um espectro infravermelho em absorbância (Barbosa, 2007; Smith, 2011).

A análise espectroscópica no infravermelho, por ser uma técnica analítica de resultados rápidos, vem sendo aplicada no controle de qualidade em linhas de produção de polímeros, no monitoramento ambiental e no estudo da adulteração da composição química de alimentos (Bayu et al., 2023; Mendes & Duarte, 2021; Pereira et al., 2021).

O objetivo deste trabalho foi analisar os espectros infravermelhos das folhas de feijão Carioca, tratadas com a utilização de um herbicida à base de Diuron (HBD), que foi aplicado no solo ou pulverizados nas folhas.

2. Metodologia

Os dados experimentais apresentados neste trabalho, foram obtidos no Laboratório de Espectroscopia no Infravermelho do IP&D - Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, localizado em São José dos Campos (SP, Brasil), e no Laboratório de Bioquímica da FUTO - Faculdades Unificadas de Teófilo Otoni, localizado em Teófilo Otoni (MG, Brasil).

O HBD utilizado foi um formulado à base de Diuron (46,8 %), que no Brasil, é amplamente empregado em culturas de cana-de-açúcar. Nos plantios, foram utilizados grãos de feijão de tipo de grão Carioca, escolhidos devido ao seu curto tempo de germinação e seu pequeno porte.

Para a obtenção das folhas feijão utilizadas neste trabalho, foram necessários dois plantios, com as seguintes formas de aplicações do HBD: aplicado somente no solo; pulverizado diretamente nas folhas.

Os dois plantios foram realizados em laboratório, utilizando jardineiras com área de $4,32 \cdot 10^{-2} \text{ m}^2$, preenchidas com solo sem nenhum aditivo. Para analisar os efeitos da aplicação do HBD em cada um dos dois plantios, foram utilizadas três jardineiras diferenciadas pela quantidade do HBD aplicado em cada uma delas, para os dois plantios (Soares et al., 2018):

- As jardineiras A não receberam tratamento com o HBD;
- As jardineiras B receberam tratamento com o HBD na quantidade indicada pelo fabricante, que é de 2,5 kg/ha (quilogramas por hectare);
- As jardineiras C receberam tratamento com uma quantidade de HBD 3,5 vezes maior que a recomendada pelo fabricante.

A Tabela 1 mostra as quantidades de HBD utilizadas em cada um dos três tipos de jardineiras:

Tabela 1 - Quantidade de herbicida à base de Diuron utilizados em cada tipo de jardineira.

Jardineiras	Quantidade de aplicada (g)
A	0
B	0,02
C	0,07

Fonte: Autores.

O HBD aplicado nos dois plantios, é um granulado dispersível e para ser utilizado, precisa ser dissolvido em água. Para medir a massa de HBD a ser utilizada em cada uma das jardineiras (Tabela 1), utilizou-se de uma balança eletrônica QUIMIS modelo BG2000, e, em seguida, o HBD foi diluído em 2 mL de água potável, utilizando um béquer de 10 mL. Todas as preparações do HBD, foram realizadas utilizando-se de todos os equipamentos de proteção individual apropriados.

2.1 Herbicida à base de Diuron aplicado no solo

No primeiro plantio, após o preenchimento das jardineiras com o solo e de serem irrigados utilizando água potável, o HBD foi aplicado, obedecendo as normas de segurança, diretamente no solo, em cada uma das jardineiras, nas quantidades já estipuladas (Tabela 1) e, em seguida, os grãos de feijão, foram introduzidos no solo, sendo que, as três jardineiras do primeiro plantio, 7 dias após a aplicação do HBD, estão apresentadas na Figura 2.

Figura 2 - Jardineiras A, B e C, do primeiro plantio, 7 dias após a aplicação do herbicida à base de Diuron.



Fonte: Autores.

As três jardineiras foram mantidas em laboratório sob condições de iluminação e de irrigação iguais. Quinze dias depois, as folhas de feijão de cada jardineira, foram colhidas e separadas em três grupos de amostras, que estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Grupos de amostras das folhas do primeiro plantio.

Grupos	Quantidade de aplicado herbicida (g)	Modo de aplicação do herbicida
A	0	Grupo controle (sem herbicida)
B	0,02	Aplicado somente no solo
C	0,07	Aplicado somente no solo

Fonte: Autores.

Após serem colhidas, as folhas foram lavadas em água corrente e, em seguida, em água destilada e retirou-se o excesso de água com o utilizando papel toalha. Por fim, as folhas lavadas foram armazenadas em sacos de papel pardo etiquetados e secadas em uma estufa a uma temperatura de 70 °C.

2.2 Herbicida pulverizado nas folhas

Para verificar se a lavagem produziu algum efeito de diminuição da quantidade de HBD pulverizado nas folhas do segundo plantio, foram obtidos os espectros das folhas pulverizadas com HBD, sem serem lavadas (sem lavagem – SL) e após sua lavagem (com lavagem – CL) (Estrela, 2018). A Tabela 3 demonstra as preparações dos grupos de amostras das folhas do segundo plantio.

Tabela 3 - Grupos de amostras das folhas pulverizadas do segundo plantio.

Grupos	Quantidade de aplicado herbicida (g)	Modo de aplicação do herbicida
A	0	Grupo controle (sem herbicida)
BSL	0,02	Pulverizado nas folhas
BCL	0,02	Pulverizado nas folhas
CSL	0,07	Pulverizado nas folhas
CCL	0,07	Pulverizado nas folhas

Fonte: Autores.

No segundo plantio, os grãos de feijão foram introduzidos no solo irrigado, das três jardineiras, e após 7 dias, obedecendo todas as normas de segurança, o HBD, foi preparado. Para pulverizar as folhas o segundo plantio, um pulverizador, de capacidade de 50 mL, foi utilizado para pulverizar o HBD diretamente nas folhas. Após a aplicação do HBD, as jardineiras foram mantidas no laboratório por 24 horas, para a secagem do HBD. Por fim, as folhas de cada jardineira, foram colhidas separadamente. As fotos das jardineiras A, B e C, do segundo plantio, estão apresentadas nas Figuras 3 e 4.

Figura 3 - Jardineiras A, B e C, do segundo plantio, 7 dias após a pulverização do herbicida à base de Diuron.



Fonte: Autores.

Figura 4 - Jardineiras B e C, do segundo plantio, 24 horas após a pulverização do herbicida à base de Diuron.



Fonte: Autores.

Pode-se observar, nas folhas apresentadas na Figura 4, que, após 24 horas de sua pulverização, o HBD formou uma espécie de revestimento nas folhas das jardineiras B e C, do segundo plantio.

2.3 Obtenção dos Espectros no Infravermelho

Neste trabalho foi obtido um total de 38 espectros, 13 utilizando a técnica da pastilha (disco prensado) e 25 utilizando a técnica de UATR.

A técnica da pastilha (disco prensado), foi utilizada somente para as amostras do primeiro plantio. Essa técnica consiste em se misturar 150 mg de brometo de potássio a 1 mg da amostra que, após a moagem em um gral de ágata liso, é prensado à vácuo, formando discos transparentes. A técnica da pastilha foi utilizada somente nas amostras do primeiro plantio. Os 13 espectros das amostras do primeiro plantio, foram obtidos na faixa de 4000 a 700 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , no modo de transmissão, com 32 varreduras por espectro, a uma temperatura controlada de 20 °C, utilizando o espectrofotômetro Spectrum 2000, da PerkinElmer.

A técnica de UATR foi utilizada somente para as amostras do segundo plantio. Foram analisados 5 espectros para cada grupo de amostras, totalizando 25 espectros, na faixa de 4000 a 450 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , no modo de reflexão, com 32 varreduras por espectro, a uma temperatura controlada de 20 °C, utilizando o espectrofotômetro Spectrum Spotlight 400 FTIR, da PerkinElmer. Esta técnica oferece algumas vantagens, tais como, ser um processo não destrutivo e sua rapidez, pois dispensa a necessidade de se preparar uma amostra para a sua leitura.

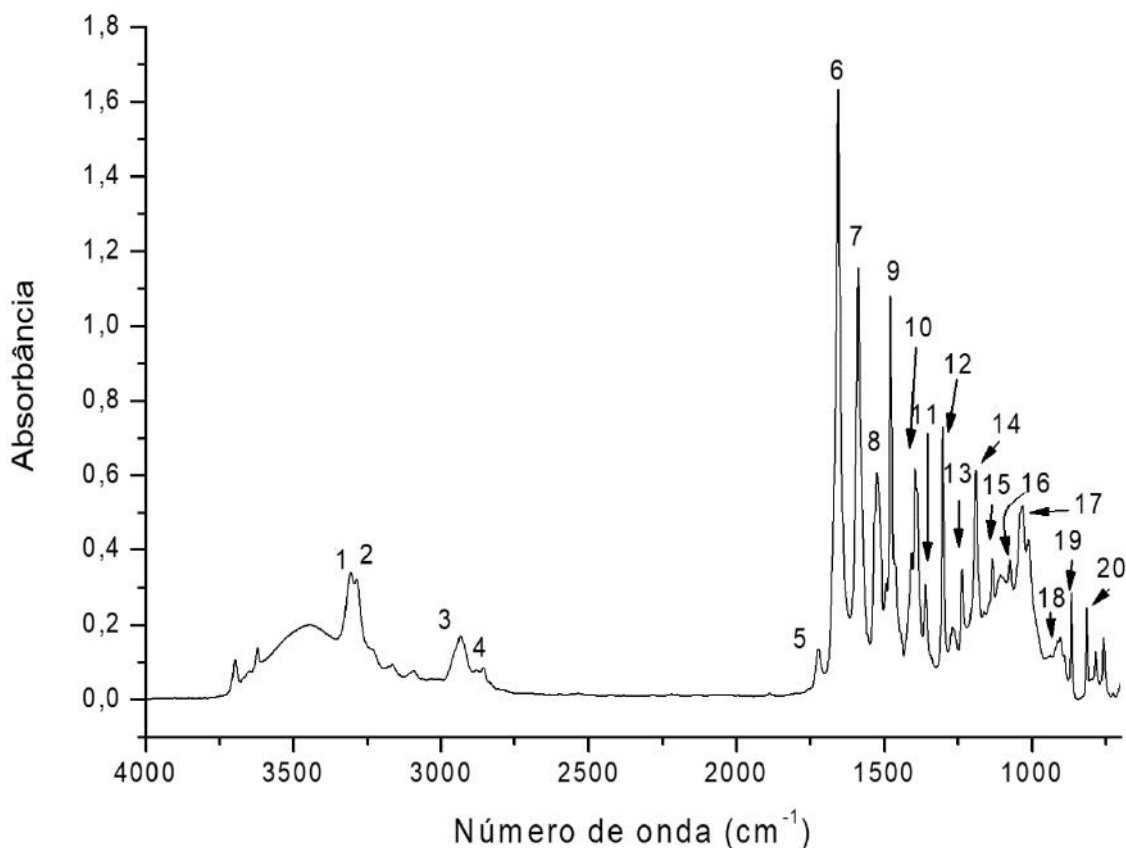
Todos os espectros obtidos foram pré-processados utilizando o software Spectrum 5.3 e 10,3 (ambos da PerkinElmer), onde foram realizadas as correções de linha de base, a suavização espectral utilizando o algoritmo Savitzky Golay (9 pontos) e a conversão dos espectros em transmitância em espectros em absorbância.

3. Resultados e Discussão

3.1 Espectro infravermelho de herbicida à base de Diuron e suas atribuições aproximadas.

O espectro infravermelho médio, em absorbância, do HBD, na região de 4000 a 700 cm^{-1} , está apresentado na Figura 5.

Figura 5 - Espectro infravermelho médio, em absorbância, do herbicida à base do Diuron, na região de 4000 a 700 cm^{-1} , com os picos que foram atribuídos, indicados e numerados.



Fonte: Autores.

A Tabela 4 mostra os principais modos vibracionais presentes no HBD, na região de 4000 a 700 cm^{-1} , do seu espectro infravermelho, e as interpretações aproximadas, que foram realizadas, a partir da comparação com os compostos semelhantes, que existem na literatura, pois uma correlação pico a pico, possibilita a identificação rápida de suas estruturas.

Tabela 4 - Modos vibracionais e atribuições aproximadas do espectro médio do herbicida à base de Diuron.

Nº	Número de onda (cm^{-1})	Modos vibracionais e atribuições aproximadas
1	3306	Estiramento da ligação N-H
2	3309	Estiramento da ligação C-H em anéis aromáticos
3	2934	Estiramento assimétrico da ligação C-H no grupo $-\text{CH}_3$
4	2856	Estiramento simétrico da ligação C-H no grupo $-\text{CH}_3$
5	1730	Estiramento da ligação C=O não conjugada
6	1655	Estiramento da ligação C=O conjugada
7	1587	Estiramento da ligação C=C em compostos aromáticos
8	1524	Estiramento da ligação C=C em compostos aromáticos
9	1477	Deformação angular assimétrica do grupo $-\text{CH}_3$
10	1395	Deformação angular simétrica do grupo $-\text{CH}_3$
11	1361	Estiramento da ligação $\text{C}_{\text{ar}}-\text{N}$
12	1301	Estiramento da ligação C-N
13	1237	Deformação angular da ligação C-H no plano em compostos aromáticos

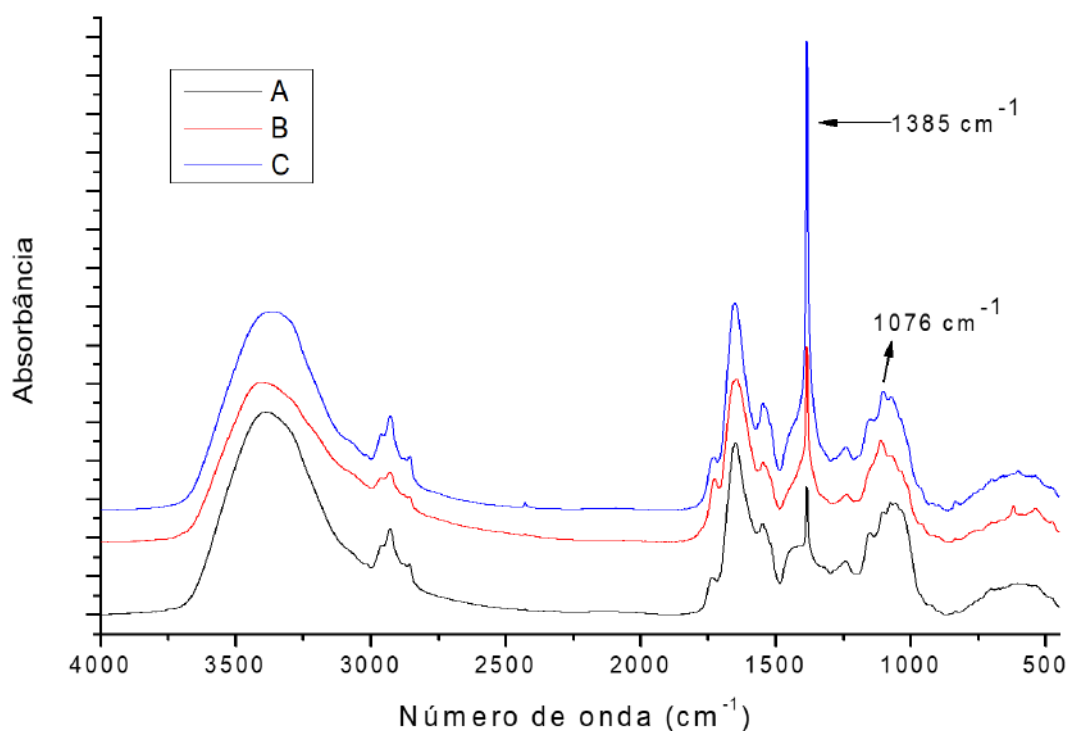
14	1190	Deformação angular da ligação C-H no plano em compostos aromáticos
15	1130	Deformação angular da ligação C-H no plano em compostos aromáticos
16	1077	Estiramento da ligação C-Cl ligado ao anel aromático
17	1031	Deformação angular da ligação C-H no plano em compostos aromáticos
18	907	Deformação angular da ligação C-H fora do plano em compostos aromáticos
19	866	Deformação angular da ligação C-H fora do plano em compostos aromáticos
20	814	Deformação angular da ligação C-H fora do plano em compostos aromáticos

Fonte: Barbosa (2007); Smith (2011).

3.2 Primeiro Plantio

Os espectros infravermelhos, em absorbância, das amostras de folhas dos grupos A, B e C do primeiro plantio (HBD aplicado no solo), com lavagem, são mostrados na Figura 6.

Figura 6 - Espectros infravermelhos, em absorbância, das amostras de folhas dos grupos A, B e C, do primeiro plantio.



Fonte: Autores.

As amostras dos grupos A, B e C, do primeiro plantio, possuem uma concentração crescente de HBD; em A, ela é zero e aumenta de forma gradativa em B e em C, que está demonstrado, mais detalhadamente na Tabela 5. Utilizando uma inspeção e comparação visual nos três espectros da Figura 6, observa-se alterações no contorno de algumas bandas, especialmente, em torno da banda em 1076 cm^{-1} .

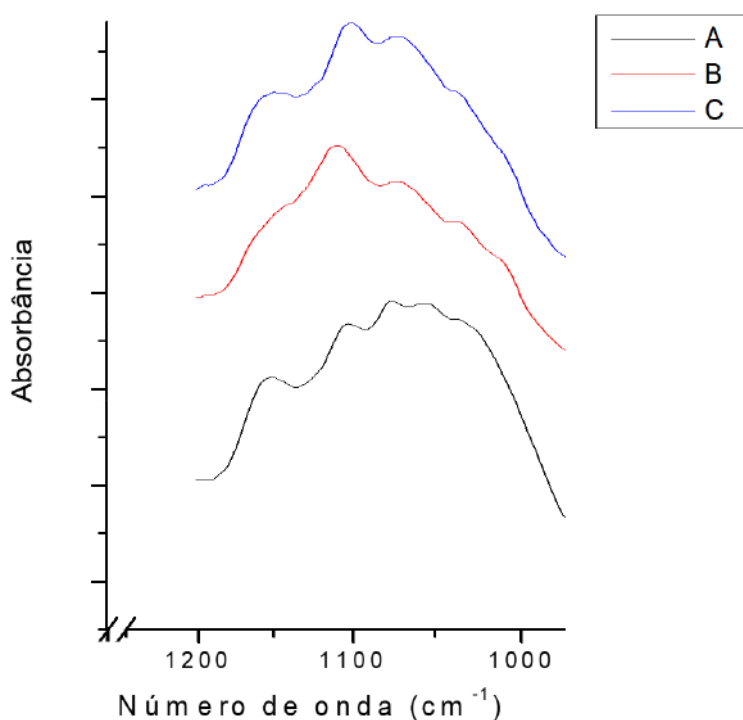
A banda em 1076 cm^{-1} , está localizada na região de $1200\text{ a }1000\text{ cm}^{-1}$, sendo que, esta região, corresponde aos modos vibracionais das ligações C-O e C-C da molécula de celulose presente nas plantas (Liu et al., 2021).

A celulose é um polímero, presente na parede celular das plantas, que é altamente resistente e confere rigidez e, conseqüentemente, proteção à estrutura vegetal. As alterações nas bandas desta região do espectro, sugerem que o Diuron se transloucou para os tecidos das folhas. Musumeci et al. (1995), simularam um tratamento de pré-emergência, cultivando cana-

de-açúcar em lisímetros. Análises dos extratos das folhas e dos colmos, revelaram a presença de Diuron em uma concentração de 40%. Assim, eles concluíram, que houve a translocação do Diuron e que ele foi metabolizado nos tecidos de cana através da conjugação com glucosídeos ou proteínas.

Portando, devido à importância da região de 1200 a 1000 cm^{-1} para este trabalho, esta região, nos espectros dos grupos A, B e C, do primeiro plantio, foi apresentada separadamente e em maior detalhe, na Figura 7.

Figura 7 - Região de 1200 a 1000 cm^{-1} dos espectros infravermelhos, em absorbância, das amostras de folhas dos grupos A, B e C, do primeiro plantio.



Fonte: Autores.

Observa-se nos espectros da Figura 7, o aumento de intensidade da banda em 1385 cm^{-1} , quando a concentração de HBD aumenta, indica uma forte correlação de proporcionalidade, entre a intensidade da banda 1385 cm^{-1} , com a quantidade de HBD aplicado no solo. Com o objetivo de demonstrar essa correlação, os valores das intensidades relativas $I_{1385/1650}$, dos espectros dos grupos de amostras A, B e C, do primeiro plantio, estão apresentados na Tabela 5.

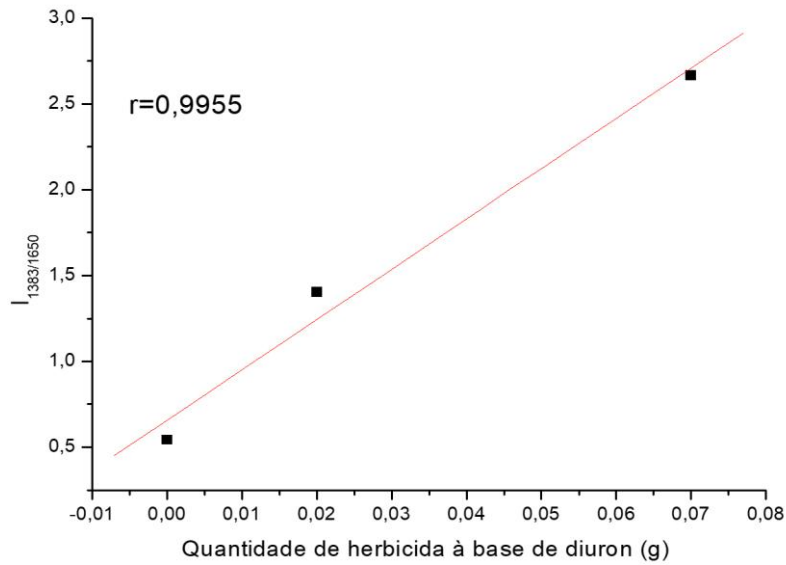
Tabela 5 - Intensidade relativa $I_{1385/1650}$ e as quantidades de herbicida aplicadas no primeiro plantio.

Grupos	Herbicida aplicado (g)	$I_{1385/1650}$	Desvio padrão
A	0	0,545	0,027
B	0,02	1,404	0,084
C	0,07	2,664	0,133

Fonte: Autores.

A Figura 8, mostra o gráfico da intensidade relativa de $I_{1385/1650}$ x quantidade de HBD aplicada no solo e o coeficiente de correlação (r) entre ambos tem um valor de 0,9955, o que indica uma forte correlação entre intensidade relativa de $I_{1385/1650}$ e a quantidade de HBD aplicada no solo.

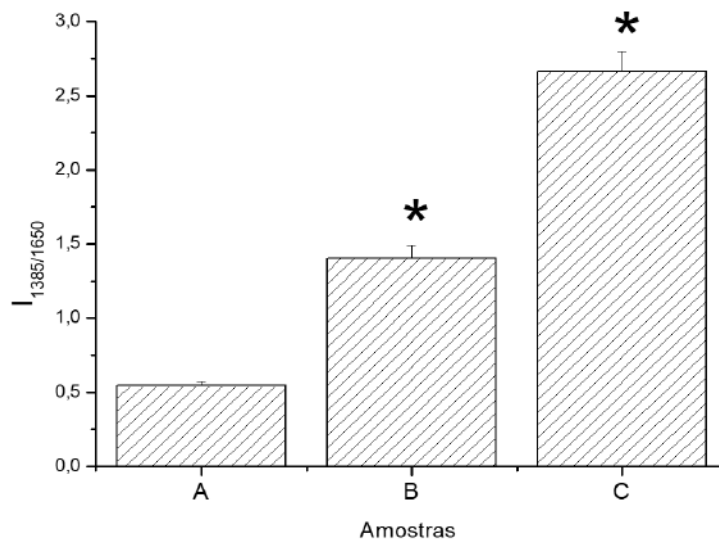
Figura 8 - Gráfico de intensidade relativa de $I_{1385/1650}$ x quantidade de herbicida aplicada no solo.



Fonte: Autores.

A Figura 9 apresenta o histograma da intensidade relativa de $I_{1385/1650}$ dos grupos A, B e C, do primeiro plantio, onde o símbolo $*$, indica que as intensidades relativas de $I_{1385/1650}$ das amostras dos grupos B e C, possuem diferenças estatisticamente significativas (para $p < 0,05$), em relação a das amostras do grupo A.

Figura 9 - Histograma da intensidade relativa de $I_{1385/1650}$ das amostras dos grupos A, B e C, do primeiro plantio.



Fonte: Autores.

Ramamurthy et al. (2007), utilizaram a espectroscopia por absorção na região do infravermelho para analisar os componentes químicos da planta *Calotropis Gigantea Linn*, que é comumente encontrada em áreas rurais e à beira de estradas. Eles analisaram 6 amostras desta planta, cinco retiradas de regiões com alta concentração de indústrias na Índia e uma foi utilizada como controle. O objetivo era comparar a composição química da planta e avaliar como a poluição interage com ela por meio da espectroscopia no infravermelho. Em todas as amostras, o espectro por absorção no infravermelho, apresentou uma

banda de absorção na região entre 1434 e 1370 cm^{-1} , que recebeu a atribuição de deformação angular no plano da ligação C=H, -CH₂ ou -CH₃ presente na lignina.

É importante observar que o espectro infravermelho do HBD, apresenta uma banda em 1395 cm^{-1} , que foi atribuída a deformação angular simétrica do grupo -CH₃. Portanto, sugere-se que essa banda esteja relacionada à presença do HBD, acrescentado nos plantios.

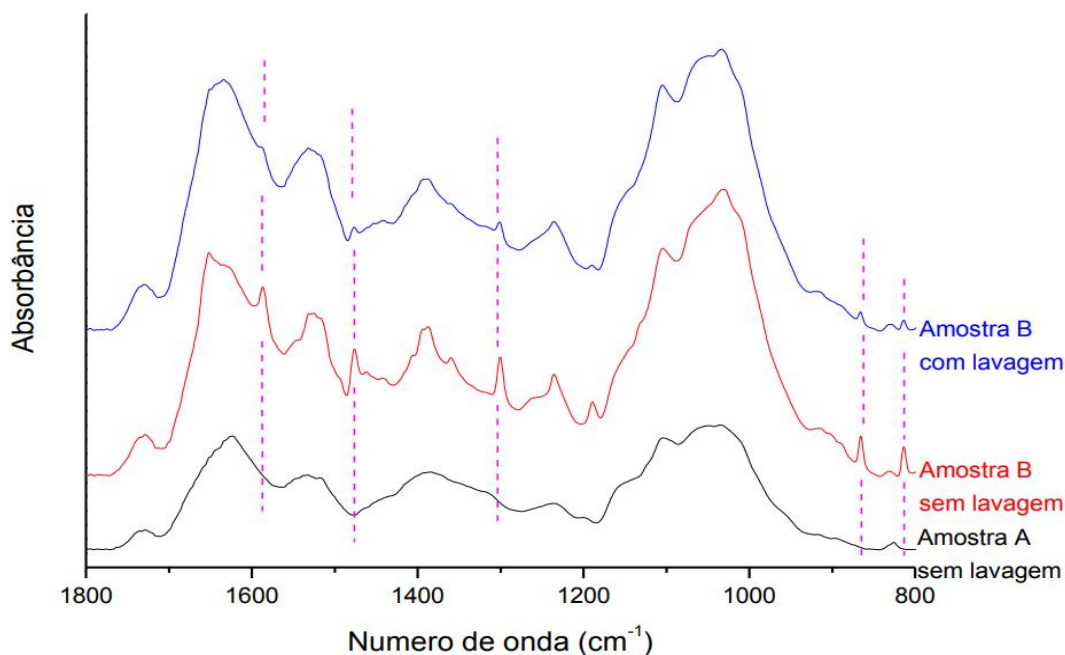
A lignina é um polímero de alto teor de carbono e o segundo componente mais abundante da parede celular depois da celulose. Ela aparece impregnando as paredes de alguns tecidos como o xilema (sistema vascular da planta), conferindo resistência, rigidez e exercendo uma função mecânica ou de sustentação e de proteção. Segundo Marchi et al. (2008), a translocação do Diuron dentro de plantas, ocorre por meio do xilema.

Diante dos apontamentos acima, pode-se sugerir que o aumento da intensidade da banda de 1385 cm^{-1} pode ser atribuída à deformação dos grupos C=H, -CH₂ ou -CH₃ presentes na lignina, concordando com Walsh & Shepherd (2007), que a análise das bandas de ligações do tipo N-H, O-H ou C-H, pode ser utilizada para a análise de material biológico, que os espectros podem fornecer informações sobre a interação entre o solo e a composição da planta e que as variações da intensidade dessas bandas podem indicar as interações de defesa ou de sobrevivência da planta com o Diuron.

3.3 Segundo plantio

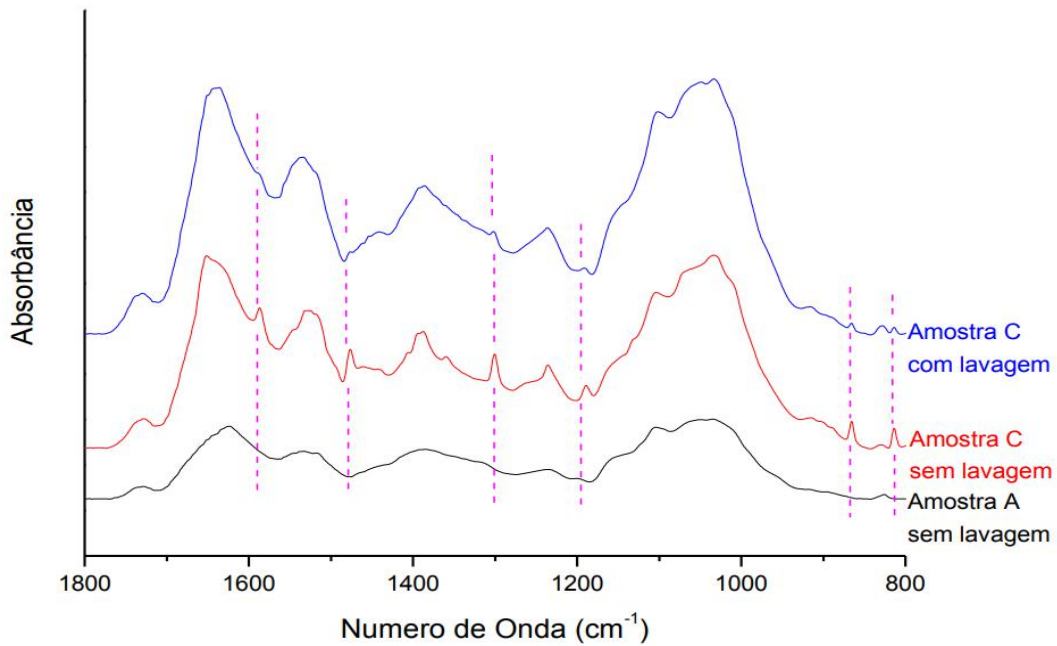
As comparações visuais dos espectros médios das amostras dos grupos B e C, do segundo plantio (HBD pulverizado na folha), com as amostras do grupo A (controle), também do segundo plantio, estão apresentadas nas Figuras 10 e 11, respectivamente, sendo que, nas duas figuras, linhas pontilhadas indicam os picos com a diminuição de suas respectivas intensidades, causada pela lavagem das amostras.

Figura 10 - Comparação espectral das amostras dos grupos B e A, do segundo plantio.



Fonte: Autores.

Figura 11 - Comparação espectral das amostras dos grupos C e A, do segundo plantio.



Fonte: Autores.

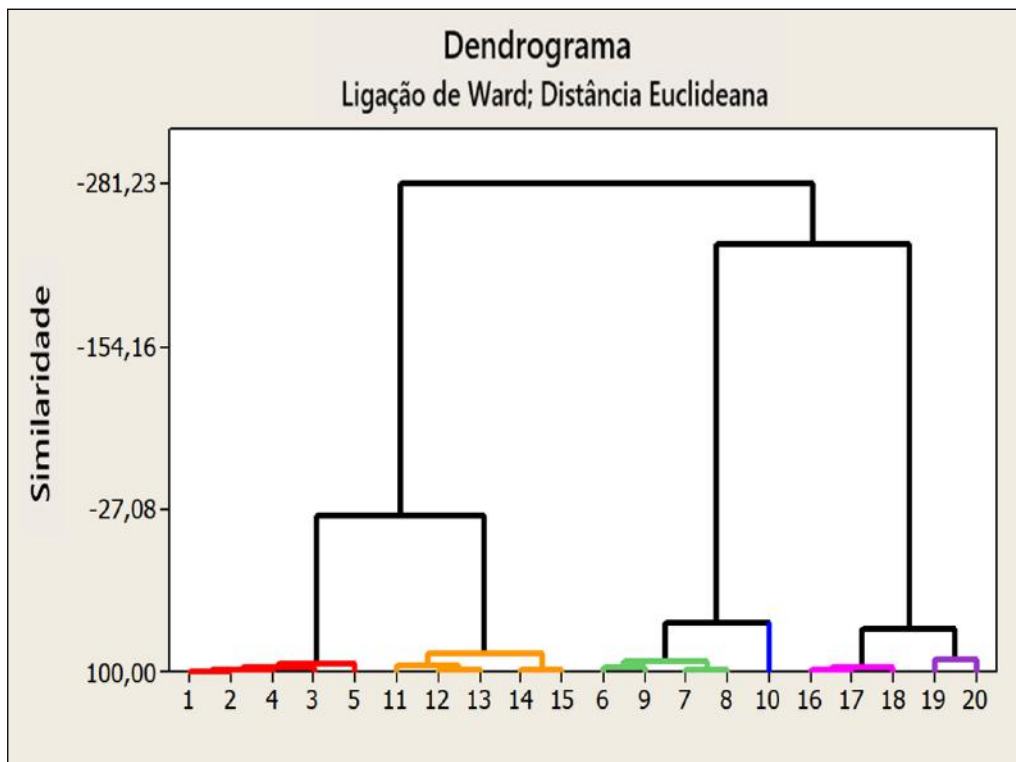
Quando pulverizado, além de formar uma espécie de revestimento nas folhas (Figura 4), o HBD também gerou alteração no contorno das bandas e as presenças de picos adicionais nos espectros das amostras dos grupos B e C, do segundo plantio (Figuras 10 e 11). É importante notar que, a Figura 10 sinaliza que, quando o HBD é pulverizado nas folhas, não se observa uma correlação entre a quantidade de HBD pulverizado e o valor da intensidades relativa $I_{1385/1650}$.

Após realizar a comparação visual dos espectros das amostras do segundo plantio, utilizou-se das análises estatísticas multivariadas, para verificar se existe uma diferença significativa entre os espectros das amostras dos grupos B e C lavadas e não lavadas, após a pulverização do HBD.

As técnicas de análise estatísticas multivariadas utilizadas neste trabalho, foram a análise de agrupamento hierárquico (HCA) e a análise de componentes principais (PCA).

A utilização da HCA, possibilitou a construção de agrupamentos das regiões de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1800 a 800 cm^{-1} dos espectros das amostras dos grupos B e C, do segundo plantio, sem serem lavadas (BSL e CSL) e após serem lavadas (BCL e CCL), de acordo com as suas similaridades, representando-as de maneira bidimensional, por meio do dendrograma apresentado na Figura 12.

Figura 12 - Dendrograma das regiões de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1800 a 800 cm^{-1} , dos espectros infravermelhos dos grupos BCL (1 a 5), BSL (6 a 10), CCL (11 a 15) e CSL (16 a 20).



Fonte: Autores.

Os coeficientes de similaridade, dos principais agrupamentos do dendrograma (Figura 12), estão demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5 - Os coeficientes de similaridade das regiões de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1800 a 800 cm^{-1} , dos espectros infravermelhos dos grupos BCL (1 a 5), BSL (6 a 10), CCL (11 a 15) e CSL (16 a 20).

Amostras	Similaridade (%)
1 a 5	93,05
11 a 15	86,06
6 a 10	62,51
16 a 20	67,04
(1 a 5) e (11 a 15)	-21,83
(6 a 10) e (16 a 20)	-233,62

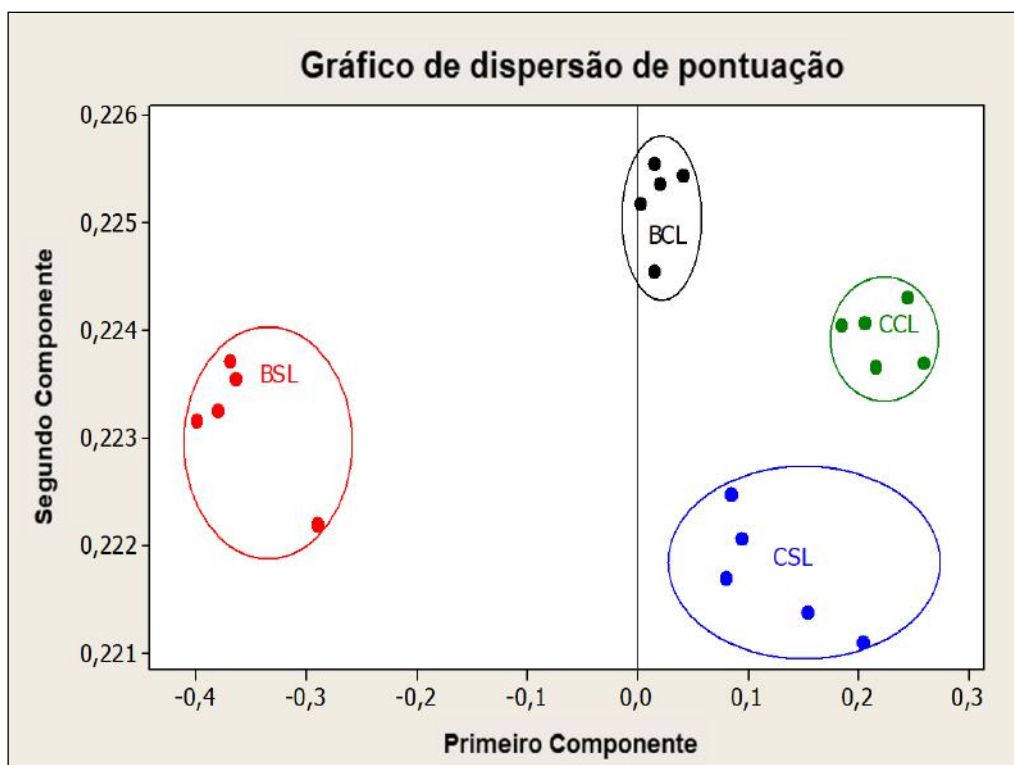
Fonte: Autores.

O agrupamento entre os espectros das amostras do grupo BCL (1 a 5) e os das amostras do grupo CCL (11 a 15), sugere que a lavagem pode ter diminuído a concentração do HBD nas folha analisadas. Os coeficientes de similaridades do BCL (93,05 %) e do CCL (86,06 %), indicam uma maior homogeneidade entre os espectros de seus respectivos agrupamentos, do que a entre os espectros dos agrupamentos do BSL (62,51 %) e CSL do (67,04 %). Portanto, pode-se concluir, que a presença de quantidades diferentes de HBD, antes e após as lavagens, pode ter causado a discriminação dos espectros em diferentes agrupamentos.

Utilizando a PCA, foi possível construir, e apresentar na Figura 13, o gráfico de dispersão de pontuação, que mostra a discriminação das regiões de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1800 a 800 cm^{-1} , dos espectros infravermelhos, dos grupos BSL; BCL; CSL e

CCL, em diferentes agrupamentos. Na PCA realizada, o primeiro componente contribuiu com 98,8 % de variação, o segundo com 0,9 % e o terceiro com 0,3 %.

Figura 13 - Gráfico de dispersão de pontuação das regiões de 3000 a 2800 cm^{-1} e 1800 a 800 cm^{-1} , dos espectros infravermelhos dos grupos BCL, BSL, CCL e CSL.



Fonte: Autores.

As intensidades das bandas em 1385 cm^{-1} das amostras dos grupos A (controle), BSL e CSL, do segundo plantio, foram calculadas a fim de se obter informações estruturais dos modos vibracionais da deformação angular da ligação C-H, que se mostraram sensíveis à presença de HBD, no primeiro plantio.

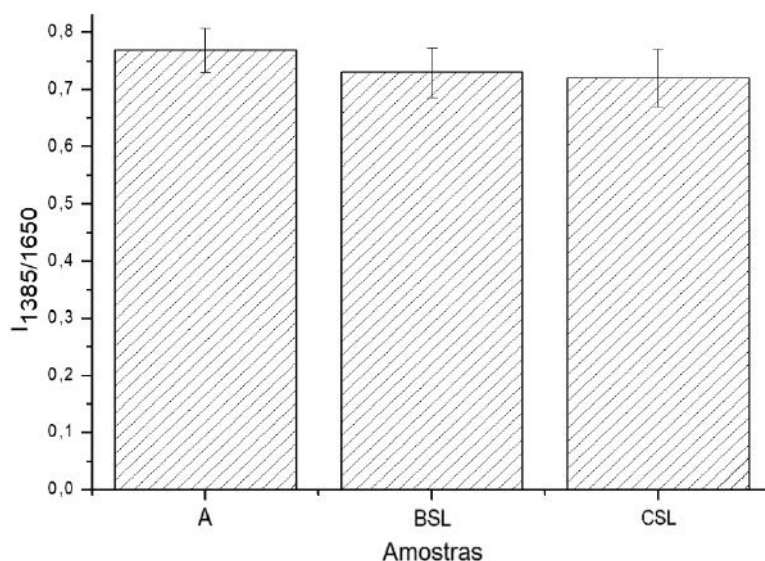
Os resultados dos cálculos das intensidades relativas $I_{1385/1650}$ indicam que praticamente não existe uma correlação entre a quantidade de HBD pulverizado e a intensidade relativa da banda em 1385 cm^{-1} . As variações nas intensidades relativas de $I_{1385/1650}$ das amostras dos grupos BSL e CSL, em relação a das amostras do grupo A, que estão apresentadas na Tabela 6 e na Figura 14, não possuem uma diferença estatisticamente significativa (para $p < 0,05$). Portanto, sugere-se que a alteração nas estruturas das folhas das plantas, que ocorreu quando o HBD foi aplicado apenas no solo, foi devida à sua absorção que neste experimento, foi mais intensa pelas raízes do que pelas folhas.

Tabela 6 - As intensidades relativas $I_{1385/1650}$ e as quantidades de herbicida pulverizado, das amostras dos grupos A, BSL e CSL, do segundo plantio.

Grupos	Herbicida pulverizado (g)	$I_{1385/1650}$	Desvio padrão
A	0	0,7684	0,0384
BSL	0,02	0,7290	0,0437
CSL	0,07	0,7194	0,0500

Fonte: Autores.

Figura 14 - Histograma das intensidades relativas $I_{1385/1650}$ das amostras dos grupos A, BSL e CSL, do segundo plantio.



Fonte: Autores.

4. Conclusão

Neste trabalho foi apresentado o potencial do uso das técnicas espectroscópicas para o estudo do efeito do HBD aplicado no solo e pulverizado nas folhas dos feijões de tipo de grão Carioca.

A interação do Diuron com os tecidos das plantas, foi observada por meio da variação das intensidades relativas da banda localizada em 1385 cm^{-1} , em função do aumento da dosagem do HBD, sendo que, essas alterações, foram observadas quando o HBD foi aplicado no solo e sugere-se que, sua absorção foi realizada pelas raízes das plantas.

O HBD aplicado no solo, ao contrário de quando foi pulverizado nas folhas, interage de forma expressiva com a estrutura da planta. Portanto esta banda localizada em 1385 cm^{-1} , poderia ser utilizada como uma banda marcadora da presença do HBD.

A região de 1200 a 1000 cm^{-1} , corresponde aos modos vibracionais das ligações C-O e C-C da molécula de celulose presente na parede celular das plantas. As alterações nas bandas desta região do espectro infravermelho das amostras analisadas, sugerem que o HBD se translocou para os tecidos das folhas dos feijões.

Baseando-se nos resultados obtidos pela HCA e PCA, realizados nas amostras do segundo plantio, pode-se sugerir, que a lavagem com água, pode ser eficiente para a remoção do HBD da superfície das folhas, nas quais ele foi pulverizado.

A espectroscopia vibracional no infravermelho, juntamente com as análises estatísticas multivariadas, mostrou ser útil e eficaz, no estudo dos efeitos da aplicação do HBD em plantas, por ser um método rápido, prático, não destrutivo e de baixo custo.

Para que se possa aprofundar ainda mais o estudo sobre os efeitos da aplicação do HBD em plantas, que são utilizadas para a produção agrícola, sugere-se que trabalhos futuros utilizem mudas de feijões de outros tipos de grãos, assim como, mudas de arroz ou de soja.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP pela aquisição do software Spectrum 10.5 da PerkinElmer pelo processo 2017/04013-0.

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Finanças 001.

Referências

- Akcha, F., Barranger, A., & Bachère, E. (2021). Genotoxic and epigenetic effects of Diuron in the Pacific oyster: in vitro evidence of interaction between DNA damage and DNA methylation. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(7), 8266–8280. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-11021-6/FIGURES/6>
- Almeida, J. T. F. de, Lander, V. A. R. K., Martins, J. M. de S., Carvalho, K. A., Barbosa, A. B., Gonçalves, I. K. C., Monteiro, P. H. T., Mauro, M., & Moreira, D. R. (2023). Análise do perfil do uso de agrotóxicos no estado do Mato Grosso Do Sul, políticas públicas relacionadas e impactos na saúde da população. *Revista Master - Ensino, Pesquisa e Extensão*, 8(15). <https://doi.org/10.47224/REVISTAMASTER.V8I15.264>
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2012). *Monografias de agrotóxicos*. <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia/monografiasdeagrotóxicos>
- Barbosa, L. C. de A. (2007). *Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos*. Ed. UFV.
- Bayu, A., Nandiyanto, D., Ragadhita, R., & Fiandini, M. (2023). Interpretation of Fourier Transform Infrared Spectra (FTIR): A Practical Approach in the Polymer/Plastic Thermal Decomposition. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 8(1), 113–126. <https://doi.org/10.17509/ijost.v8i1.53297>
- Bueno, S. G. S. (2021). *Indicadores da cadeia de agrotóxicos no Brasil entre os anos de 2015 e 2019* [Dissertação de mestrado profissional em bioenergia e grãos, Instituto Federal Goiano]. <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/2442>
- Castilhos, D., Dombroski, J. L. D., Bergamo, G. C., Gramacho, K. P., & Gonçalves, L. S. (2019). Neonicotinoids and fipronil concentrations in honeybees associated with pesticide use in Brazilian agricultural areas. *Apidologie*, 50(5), 657–668. <https://doi.org/10.1007/S13592-019-00676-X/TABLES/3>
- Cavalcante, J. K. G., Mendes, K. F., Inoue, M. H., dos Santos, P. R. J., Fonseca, A. P. da S., & Franco, E. L. P. (2018). Eficácia e seletividade do metribuzin e Diuron em pré-transplante do tomate sob diferentes coberturas vegetais. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 17(4), 611–615. <https://doi.org/10.7824/rbh.v17i4.615>
- Da Rocha, M. S., Arnold, L. L., Dodmane, P. R., Pennington, K. L., Qiu, F., De Camargo, J. L. V., & Cohen, S. M. (2013). Diuron metabolites and urothelial cytotoxicity: In vivo, in vitro, and molecular approaches. *Toxicology*, 314(2–3), 238–246. <https://doi.org/10.1016/J.TOX.2013.10.005>
- Depciuch, J., Kasprzyk, I., Sadik, O., & Parlińska-Wojtan, M. (2017). FTIR analysis of molecular composition changes in hazel pollen from unpolluted and urbanized areas. *Aerobiologia*, 33(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/S10453-016-9445-3/TABLES/4>
- Estrela, C. (2018). *Metodologia científica: ciência, ensino, pesquisa*. Artes Médicas.
- Field, J. A., Reed, R. L., Sawyer, T. E., Griffith, S. M., & Wigington, P. J. (2003). Diuron Occurrence and Distribution in Soil and Surface and Ground Water Associated with Grass Seed Production. *Journal of Environmental Quality*, 32(1), 171–179. <https://doi.org/10.2134/JEQ2003.171>
- Gao, S., Jiang, J. Y., Liu, Y. Y., Fu, Y., Zhao, L. X., Li, C. Y., & Ye, F. (2019). Enhanced Solubility, Stability, and Herbicidal Activity of the Herbicide Diuron by Complex Formation with β -Cyclodextrin. *Polymers*, 11(9), 1396. <https://doi.org/10.3390/POLYM11091396>
- Giacomazzi, S., & Cochet, N. (2004). Environmental impact of Diuron transformation: a review. *Chemosphere*, 56(11), 1021–1032. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2004.04.061>
- Huovinen, M., Loikkanen, J., Naarala, J., & Vähäkangas, K. (2015). Toxicity of Diuron in human cancer cells. *Toxicology in Vitro*, 29(7), 1577–1586. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2015.06.013>
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. (2020). *Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil*. <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>
- Li, J., Zhang, W., Lin, Z., Huang, Y., Bhatt, P., & Chen, S. (2021). Emerging Strategies for the Bioremediation of the Phenylurea Herbicide Diuron. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.686509/FULL>
- Liu, X., Renard, C. M. G. C., Bureau, S., & Le Bourvellec, C. (2021). Revisiting the contribution of ATR-FTIR spectroscopy to characterize plant cell wall polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 262, 117935. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.117935>
- Lopes, C. V. A., & De Albuquerque, G. S. C. (2021). Desafios e avanços no controle de resíduos de agrotóxicos no Brasil: 15 anos do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. *Cadernos de Saúde Pública*, 37(2), e00116219. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00116219>
- Magalhães, S., Goodfellow, B. J., & Nunes, A. (2021). FTIR spectroscopy in biomedical research: how to get the most out of its potential. *Applied Spectroscopy Reviews*, 56(8–10), 869–907. <https://doi.org/10.1080/05704928.2021.1946822>
- Manonmani, G., Sandhiya, L., & Senthilkumar, K. (2020). Mechanism and kinetics of Diuron oxidation by hydroxyl radical addition reaction. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(11), 12080–12095. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-07806-4/FIGURES/10>
- Marchi, G., Marchi, E. C. S., & Guimarães, T. G. (2008). *Herbicidas: mecanismos de ação e uso*.
- Marques, C. M. S., Pedroso, J. T., Bhattacharjee, T., Pupin, B., Pinto, J. G., Ferreira-Strixino, J., & Sakane, K. K. (2023). Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) of *Pseudomonas aeruginosa* post photodynamic therapy with Curcumin in vitro. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 285, 121916. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2022.121916>
- Mendes, E., & Duarte, N. (2021). Mid-Infrared Spectroscopy as a Valuable Tool to Tackle Food Analysis: A Literature Review on Coffee, Dairies, Honey, Olive Oil and Wine. *Foods*, 10(2), 477. <https://doi.org/10.3390/FOODS10020477>
- Mohammed, A. M., Huovinen, M., & Vähäkangas, K. H. (2020). Toxicity of Diuron metabolites in human cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 78, 103409. <https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2020.103409>

- Musumeci, M. R., Nakgawa, L. E., Luchini, L. C., Matallo, M. B., & Andrea, M. M. de. (1995). Degradação do Diuron-¹⁴C em solo e em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30(6), 775–778. <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4361>
- Oparin, R. D., Ivlev, D. V., & Kiselev, M. G. (2020). Conformational equilibria of pharmaceuticals in supercritical CO₂, IR spectroscopy and quantum chemical calculations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 230, 118072. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2020.118072>
- Pereira, D. C., Pupin, B., & Sakane, K. K. (2021). Evaluation of hydrogel use in the development of *Rapanea ferruginea* with water restriction by vibrational Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR-UATR). *Revista Ambiente & Água*, 16(5), e2744. <https://doi.org/10.4136/AMBI-AGUA.2744>
- Pinheiro, A., Moraes, J. C. S., & da Silva, M. R. (2011). Pesticidas no perfil de solos em áreas de plantação de cebolas em Ituporanga, SC. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 15(5), 533–538. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000500015>
- Ramamurthy, N., Biophysics, S. K.-R. journal of, & 2007, undefined. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of a plant (*Calotropis gigantea* Linn) from an industrial village, Cuddalore dt, Tamilnadu, India. *Romanian Journal of Biophysics*, 17(4), 269–276. <https://www.rjb.ro/articles/192/art%2006%20Ramamurthy%20doc.pdf>
- Rigotto, R. M., Vasconcelos, D. P., & Rocha, M. M. (2014). Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. *Cadernos de Saúde Pública*, 30(7), 1360–1362. <https://doi.org/10.1590/0102-311XPE020714>
- Roque, M. R. D. A., & De Melo, I. S. (2000). Isolamento e caracterização de bactérias degradadoras do herbicida Diuron. *Scientia Agrícola*, 57(4), 723–728. <https://doi.org/10.1590/S0103-9016200000400020>
- Salomão, P. E. A., Ferro, A. M. S., & Ruas, W. F. (2020). Herbicides in Brazil: a brief review. *Research, Society and Development*, 9(2), e32921990–e32921990. <https://doi.org/10.33448/RSD-V9I2.1990>
- Simões, M. da S., Bracht, L., Parizotto, A. V., Comar, J. F., Peralta, R. M., & Bracht, A. (2017). The metabolic effects of Diuron in the rat liver. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 54, 53–61. <https://doi.org/10.1016/J.ETAP.2017.06.024>
- Smith, B. (2011). *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. CRC press.
- Soares, A., Dorlivete, P., Shitsuka, M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. UFSM.
- Tandon, S., & Pant, R. (2019). Kinetics of Diuron under aerobic condition and residue analysis in sugarcane under subtropical field conditions. *Environmental Technology*, 40(1), 86–93. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1380709>
- Vieira, K. C., Silva, C. T., da Silva, M. M., & da Costa, A. S. V. (2020). Potencial de contaminação ambiental dos herbicidas utilizados nas culturas do milho, soja e cana de açúcar. *Research, Society and Development*, 9(9), e417997442. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7442>
- Vieira, R. F. (1999). Parâmetros microbiológicos indicadores do efeito do Diuron sobre a microflora do solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(5), 897–902. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X1999000500024>
- Walsh, M. G., & Shepherd, K. D. (2007). Infrared Spectroscopy—Enabling an Evidence-Based Diagnostic Surveillance Approach to Agricultural and Environmental Management in Developing Countries. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 15(1), 1–19, 15(1), 1–19. <https://opg.optica.org/abstract.cfm?uri=jnirs-15-1-1>
- Zbair, M., El Hadrami, A., Bellarbi, A., Monkade, M., Zradba, A., & Brahmī, R. (2020). Herbicide Diuron removal from aqueous solution by bottom ash: Kinetics, isotherm, and thermodynamic adsorption studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(2), 103667. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2020.103667>