

DETECÇÃO DE PROGESTERONA EM TECIDOS VEGETAIS DE *LACTUCA SP.* POR ESPECTROSCOPIA DE UV *PROGESTERONE DETECTION IN VEGETABLE TISSUE OF LACTUCA SP. BY UV SPECTROSCOPY*

Eliane Zanella Fabbris¹
Keller Paulo Nicolini²

Resumo: A sociedade pós-moderna usa diversas substâncias para melhorar a sua qualidade de vida. Inúmeras dessas substâncias são fármacos e muitos desses já são considerados contaminantes emergentes e presentes em diversos locais devido à ação antrópica. Há uma preocupação da comunidade científica mundial no sentido de monitorar os contaminantes emergentes e estabelecer protocolos de quantificação que possam estabelecer limites de tolerância dessas substâncias e assim proteger as comunidades humanas de possíveis problemas de saúde advindos dessa contaminação. Há indícios de inúmeros contaminantes emergentes (antimicrobianos, fungicidas, hormônios, anti-inflamatórios) em águas de superfície e em alimentos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença de progesterona em tecidos vegetais da alface (*Lactuca sp.*) através da espectroscopia ultravioleta (UV). As plantas foram cultivadas *in vitro* e testadas frente a diferentes concentrações de progesterona (5,10,100 e 1000 ppm). A parte da planta coletada para análise foi as folhas, utilizou-se como solvente etanol 92,8 °GL. Foi detectada a presença de progesterona após o intervalo de um dia da contaminação do substrato até o oitavo dia, sendo que as concentrações encontradas foram entre 0,14 e 1,11 ppm no extrato etanólico das folhas. Esse estudo indica a potencial contaminação de plantas, quando estas são irrigadas com água proveniente de mananciais contaminados com progesterona e seus metabólitos o que significa o consumo indireto desses contaminantes pela população, por meio da ingestão de plantas contaminadas.

Palavras-chave: Contaminantes emergentes. Hormônios. Saúde humana.

Abstract: Postmodern society uses various substances to improve their quality of life. Many of these substances are drugs and many of these are already considered emerging contaminants and present in various locations due to human action. There is a concern of the international scientific community to monitor emerging contaminants and establish quantification protocols that may establish tolerance limits of these substances and thus protect human communities from possible health problems resulting from this contamination. There is evidence of numerous emerging contaminants (antimicrobials, fungicides, hormones, anti-inflammatory drugs) in surface waters and foods. The aim of this study was to evaluate the presence of progesterone in tissues of lettuce (*Lactuca sp.*) by ultraviolet spectroscopy (UV). The plants were grown *in vitro* and tested against different concentrations of progesterone (5,10,100 and 1000 ppm). The part of the plant collected for analysis was the leaves. It was used as solvent the ethanol 92.8 °GL. It was detected the presence of progesterone after the interval of a day of substrate contamination until the eighth day, and the concentrations found were between 0,14 and 1,11 ppm in the ethanol extract of the leaves. This study indicates the potential contamination of plants, when they are irrigated with water from water sources contaminated with progesterone and its metabolites, which means the indirect consumption of these contaminants by the population during the ingestion of contaminated plants.

Keywords: Emerging Contaminants. Hormones. Human health.

¹ Acadêmica do curso de Farmácia, IFPR Palmas, eliazf@hotmail.com.

² Docente do Colegiado de Química, IFPR Palmas, keller.nicolini@ifpr.edu.br.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos nota-se uma preocupação da comunidade científica com os contaminantes emergentes pelo número de publicações sobre o tema. Os contaminantes emergentes estão presentes no meio ambiente em concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} . Essas substâncias englobam uma diversidade de compostos que estão sendo investigados, devido aos efeitos que essas substâncias podem provocar nos organismos expostos em concentrações traço (BILA; DEZOTTI, 2007).

Diversos grupos de substâncias têm sido considerados contaminantes emergentes, incluindo cianotoxinas, micotoxinas, aditivos de gasolina e industriais, retardantes de chama bromados, hormônios esteróides, surfactantes, produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal, compostos polifluoretados, nanomateriais e subprodutos de desinfecção, bem como os metabólitos resultantes dos mesmos (FARRÉ *et al.*, 2008; GAFFNEY *et al.*, 2014).

Podemos considerar a presença de compostos introduzidos recentemente no meio ambiente, os quais ainda não se conhecem seus efeitos ao ambiente e à saúde humana, e os compostos não tão recentes, que têm despertado atenção em todo o mundo devido a suspeita de seus efeitos prejudiciais causados pela exposição crônica (GAFFNEY *et al.*, 2014).

A dispersão no ambiente desses contaminantes se dá principalmente pela eliminação de esgoto doméstico tratado ou *in natura*, nos corpos d'água, efluentes industriais e pela aplicação de adubo orgânico oriundo de dejetos de animais, que posteriormente atingem mananciais superficiais por escoamento, ou aquíferos por infiltração (BERGÉ; VULLIET, 2015; LOPES *et al.*, 2010).

Diante de diversos compostos, uma atenção especial tem sido dada aos fármacos devido a sua constante liberação no meio. Vários estudos estão sendo desenvolvidos no âmbito mundial para avaliar os impactos causados no ambiente por essas substâncias (GAFFNEY *et al.*, 2014). Também existe um grande interesse científico em um grupo de substâncias químicas chamadas de

desreguladores endócrinos (DE), tais compostos podem simular ou inibir a ação dos hormônios naturais, alterando suas funções regulares, o que pode interferir no sistema endócrino de humanos e outros animais e, com isso, afetar a saúde, o crescimento e a reprodução dessas espécies (BILA; DEZOTTI, 2007; CASTRO, 2002).

Considera-se a existência de duas classes de substâncias que podem alterar o funcionamento do sistema endócrino: os hormônios naturais, que incluem estrogênio, progesterona e testosterona e os fitoestrogênios e as substâncias sintéticas, que incluem os hormônios sintéticos, bem como os xenoestrogênios, substâncias produzidas para utilização nas indústrias, na agricultura e para os bens de consumo (GHISELLI; JARDIM, 2007).

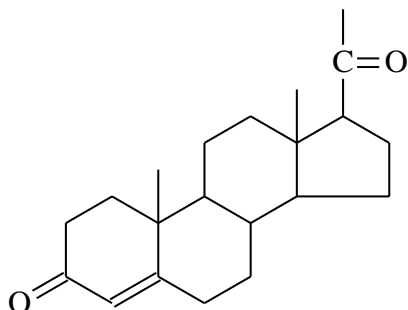
Dentre as alterações observadas em humanos pelos DE destacam-se: efeitos no sistema reprodutivo feminino (diferenciação sexual, função dos ovários, aumento no risco de câncer de mama e de vagina, ovários policísticos e endometriose) e no sistema reprodutivo masculino (redução na produção de espermatozoides, aumento do risco de câncer testicular e de próstata, infertilidade e alterações nos níveis hormonais da tireoide) (BILA; DEZOTTI, 2007).

Ainda segundo Bila e Dezotti (2007), alguns desses compostos considerados DE, como os hormônios, tem caráter lipossolúvel, e podem acumular-se em gordura presente na carne, peixe, ovos e derivados do leite. A exposição também pode vir da contaminação de frutas e vegetais e em baixas concentrações da água potável. No caso dos seres humanos estima-se que mais de 90 % dos compostos denominados DE, presentes no ambiente, sejam absorvidos por via digestiva, principalmente por meio de alimentos contaminados.

A progesterona como DE e contaminante ambiental têm sido citada em alguns trabalhos, Montagner e Jardim (2011) avaliaram a presença de produtos farmacêuticos e DE no Rio Atibaia, estado de São Paulo, Vulliet, Cren-Olive e Grenier-Loustalot (2009) avaliaram a presença de produtos farmacêuticos em água de superfície e água tratada na França e Henriques e seus colaboradores (2010) analisaram a presença de DE em águas de superfície e subterrâneas da EPAL (Empresa Portuguesa das Águas Livres, S.A.).

A progesterona (pregn-4-eno-3,20-diona) é um hormônio esteróide progestógeno cuja molécula precursora é o colesterol, possui fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$, estrutural conforme Figura 01 (BRUNTON, 2012) e massa molecular $314,46 \text{ g mol}^{-1}$ (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Figura 01 - Fórmula estrutural do hormônio progesterona



Os progestogênios podem ser naturais ou sintéticos. A progesterona é a progestina natural mais importante nos seres humanos. É sintetizada no ovário, nos testículos e nas supra-renais. No ovário é produzida principalmente pelo corpo lúteo, durante a segunda metade do ciclo menstrual. Após a fertilização a progesterona continua sendo secretada em grandes quantidades pela placenta até a hora do parto, sendo fundamental para a manutenção da gestação. Além de seus efeitos hormonais importantes, a progesterona atua como precursor dos estrogênios, androgênios e esteróides córtico-supra-renais (BRUNTON, 2012)

Os usos mais frequentes das progestinas são na contracepção (isoladas ou com um estrogênio), na terapia hormonal de mulheres pós-menopausa, amenorreia, esterelidade, endometriose, disfunções menstruais, carcinoma do útero e da mama, entre outros usos (BRUNTON, 2012; SILVA, 2012).

Os progestogênios naturais se desintegram e são eliminados pela urina em forma de glicuronato sódico de pregnanediol. Os outros metabólitos da progesterona são a pregnenolona e o pregnantriol (SILVA, 2012). Embora esses compostos estejam na forma inativa, a progesterona também é excretada na forma ativa livre (SHORE; SHEMESH, 2003), ou ainda alguns

micro-organismos são capazes de produzir enzimas que podem tornar a molécula ativa novamente (GHISELLI; JARDIM, 2007).

No mercado há preparações de progesterona micronizada em altas doses (100 - 200 mg) para uso oral devido à biodisponibilidade absoluta dessas preparações serem baixas. A progesterona também é disponível em solução oleosa para uso injetável (10 - 50 mg), como gel vaginal e dispositivo intrauterino (DIU) com liberação de aproximadamente 65 µg de progesterona por dia. Existem diversos compostos progestacionais sintéticos que atualmente são utilizados como contraceptivos em dosagens que variam entre 15 e 75 µg (BRUNTON, 2012; SILVA, 2012).

Os métodos mais utilizados para quantificação de hormônios e outros DE descritos na literatura são a cromatografia gasosa (GC) ou líquida (LC) associada à espectrometria de massas (MS) (BILA; DEZOTTI, 2007; GAFFNEY *et al.*, 2014; GUEDES-ALONSO *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2014; SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010).

A técnica de espectroscopia no ultravioleta para doseamento de progesterona está prevista na Farmacopeia Brasileira (2010). Essa técnica baseia-se na absorção da energia eletromagnética por moléculas, que dependem tanto da concentração quanto da estrutura das mesmas. Os elétrons das moléculas ao absorverem energia sofrem uma transição para um estado de maior energia ou estado excitado. A passagem para o estado excitado não é de natureza contínua, realizando-se em etapas chamadas de transições. Na região do ultravioleta e visível, as transições são eletrônicas e ocorrem em grupos químicos, denominados de cromóforos.

Diversas metodologias estão sendo pesquisadas para a quantificação de DE, no entanto, estes compostos não são monitorados no ambiente, uma vez que não existe ainda legislação específica.

A presença dos DE na água, e o fato de potencialmente causarem danos à saúde de humanos e de animais é uma preocupação mundial. Novas tecnologias de tratamento de água têm sido investigadas buscando-se uma remoção eficiente desses compostos, já que não são completamente removidos pelos processos convencionais de tratamento empregados.

Tratamentos como, adsorção em carvão ativado, filtração em membrana e processos oxidativos avançados, estão sendo investigados (BILA; DEZOTTI, 2007; LIMA *et al.*, 2014).

Estudos sugerem que a presença de micro-organismos endofíticos podem estar envolvidos na degradação de poluentes orgânicos, e por isso têm sido estudados para melhorar processos de fitorremediação em ambientes contaminados (AFZAL; KHAN; SESSITSCH, 2014; SAUVÊTRE; SCHRÖDER, 2015).

No Brasil, o lançamento de esgoto bruto em corpos d'água, compromete a qualidade dos recursos hídricos, atrelado ao não monitoramento (BRASIL, 2011) da remoção dos DEs, faz com que cada vez mais as pessoas fiquem sujeitas a entrar em contato com os DEs.

Faz-se necessário o estudo de novas técnicas de monitoramento dos contaminantes emergentes com o intuito de se estabelecer protocolos de monitoramento dessas substâncias e assim proteger a população de possíveis problemas de saúde advindos dessa contaminação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de progesterona (PGA) em tecido vegetal de alface (*Lactuca sp.*) através de espectroscopia de ultravioleta.

2 METODOLOGIA

A metodologia para o cultivo foi baseada na técnica utilizada por Alves *et al.* (2008). O cultivo da alface (*Lactuca sp.*) foi realizado *in vitro*, sendo que as unidades experimentais consistiram de vasos de plástico revestidos com sacos plásticos em seu interior, que continham 350 g de substrato. As sementes de alface (*Lactuca sp.*) utilizadas são da variedade delícia americana.

As plantas foram irrigadas com água destilada e cultivadas durante 28 dias, após foi realizada a exposição das mesmas por meio da contaminação do substrato, que ocorreu uma única vez. As concentrações de 5, 10, 100 e 1000 ppm de PGA (Fagron, pureza 98,41 %), relativas a massa de 350 g de substrato em cada um dos vasos. Foram utilizados três vasos para cada concentração de PGA e para as culturas controle. Utilizou-se no estudo uma

cultura controle contendo etanol nas mesmas condições experimentais, o etanol foi utilizado, devido à solubilidade da PGA.

Para a contaminação do substrato foi preparada uma solução estoque de PGA na concentração de 5000 ppm em 80% de etanol 92,8 °GL. Os volumes adicionados em cada amostra (Tabela 01) foram diluídos em água destilada para um volume final de 50 mL e adicionados no substrato de forma que não entrassem em contato com as folhas das plantas.

Tabela 01- Volume de solução estoque PGA diluída para 50 mL, adicionado nos diferentes vasos

Amostra	Volume de solução estoque de PGA
5 ppm	0,1 mL
10 ppm	0,2 mL
100 ppm	2,0 mL
1000 ppm	20,0 mL

A presença de PGA no organismo vegetal foi avaliada por meio de espectroscopia de ultravioleta seguindo o método proposto por Lichtenthaler (1987), mediante construção prévia da curva de calibração. As análises foram realizadas no tempo de 1, 2, 3 e 8 dias após a contaminação. Foi coletado 0,1 g de folhas frescas, trituradas em etanol 92,8 °GL e posteriormente filtradas, os extratos foi diluídos para 25 mL, em etanol 92,8 °GL. As medidas das absorbâncias dos extratos resultantes foram feitas em um espectrofotômetro, modelo UV/VIS Spectrophotometer, marca UV-Basic (Série nº AE1212006) em cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm, no comprimento de onda de 240 nm (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), utilizando etanol 92,8 °GL como referência.

A curva analítica foi construída com extrato etanólico da planta, obtido nas mesmas condições da análise das amostras. A curva analítica foi construída a partir da adição da solução estoque de PGA de concentração 1000 ppm, em etanol 92,8 °GL. A curva analítica foi construída com dezessete pontos, onde as concentrações das adições e os valores de absorbância estão apresentados na Tabela 02.

Tabela 02- Dados da construção da curva de calibração

Concentração PGA (ppm)	Absorbância (240 nm)
0	0,422
1,99	0,517
3,98	0,682
5,96	0,872
7,94	1,072
9,90	1,173
11,86	1,397
13,80	1,593
15,75	1,773
17,68	1,989
19,61	2,295
21,53	2,437
23,44	2,541
25,34	2,658
27,24	2,738
29,13	2,837
31,00	2,994

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espectroscopia molecular é amplamente utilizada em espécies que absorvem a radiação ultravioleta e visível. A absorção molecular por essas espécies permite que essa técnica possa ser utilizada para de sistemas orgânicos e inorgânicos, de forma rápida, fácil e com baixo custo (SKOOG *et al.*, 2015).

Foram realizados ensaios avaliando a absorção de energia no espectro eletrônico na faixa do ultravioleta e do visível (entre 200 e 700 nm). O comprimento de onda de 240 nm correspondeu a absorbância máxima para a PGA (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

O comprimento de onda de absorção eletrônica de compostos orgânicos depende de quão fortemente seus elétrons estão ligados. Espécies insaturadas

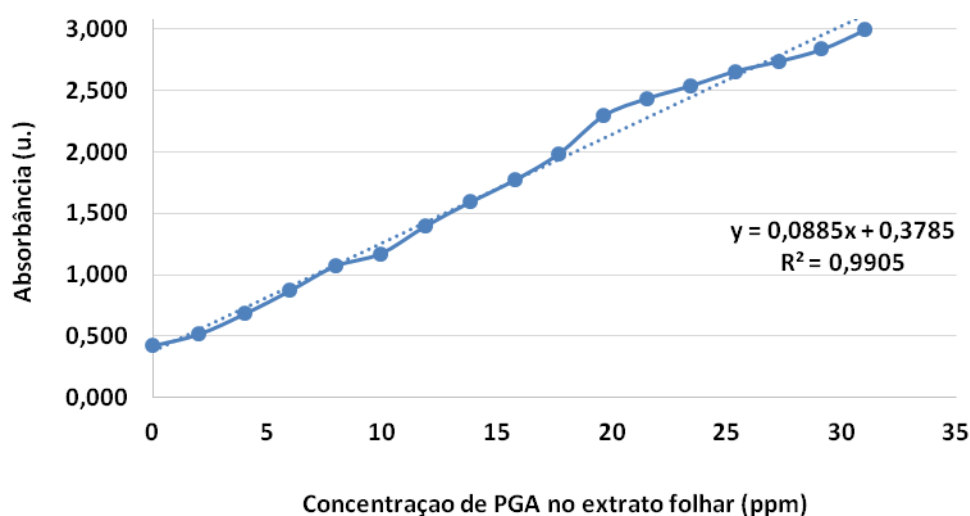
possuem elétrons que não estão fortemente presos e podem ser excitados pela radiação eletromagnética exibindo picos de absorção úteis. Os grupos orgânicos insaturados que absorvem nas regiões UV/VIS são conhecidos como cromóforos. O comprimento de onda e a intensidade dos picos podem sofrer influência do solvente, detalhes estruturais da molécula e a conjugação entre dois ou mais cromóforos pode causar deslocamento nos máximos de absorção para comprimento de onda mais longo (SKOOG *et al.*, 2015).

A escolha do etanol como solvente levou em consideração a solubilidade da PGA, o custo e a toxicidade. De acordo com Silverstein, Bassler e Morrill (1994) ocorre a absorção de energia na faixa do ultravioleta na região dos 240 nm para grupos insaturados carbonilas e cadeias cíclicas de seis carbonos presentes na estrutura da PGA.

Foram feitas avaliações da concentração relativa de PGA em etanol e da concentração de PGA em extrato etanólico relativas à curva de calibração.

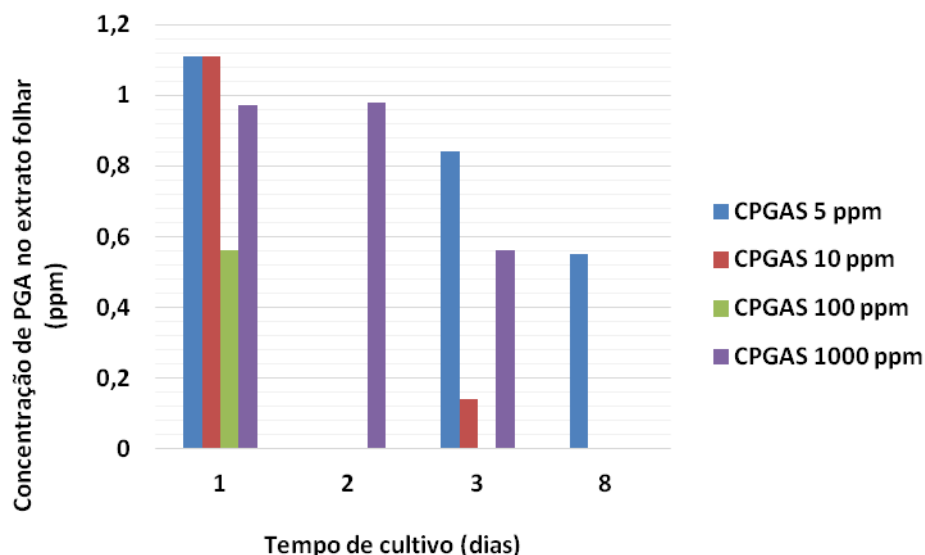
A curva de calibração resultante está representada na Figura 02. A partir dos pontos da curva de calibração foi possível calcular o coeficiente de correlação ($R^2=0,99$), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda um coeficiente de correlação de no mínimo 0,99 (BRASIL, 2003).

Figura 02 – Curva de calibração



Os resultados obtidos nas análises de espectroscopia de UV para avaliar a presença de PGA no extrato etanólico das folhas de alface (*Lactuca sp.*) estão apresentados na Figura 03.

Figura 03 – Concentração de PGA presente no extrato folhar da alface para as amostras expostas a 5 ppm de PGA (CPGAS 5 ppm), 10 ppm de PGA (CPGAS 10 ppm), 100 ppm de PGA (CPGAS 100 ppm) e 1000 ppm de PGA (CPGAS 1000 ppm) em função do tempo



No primeiro dia de análise, após a contaminação do substrato, foi verificada a presença de PGA no extrato folhar de todas as amostras avaliadas (CPGAS 5, 10, 100 e 1000 ppm).

No segundo dia, apenas a amostra exposta a CPGAS 1000 ppm apresentou aproximadamente 1 ppm de PGA no extrato folhar. No terceiro dia, foi detectada a presença de PGA nas amostras CPGAS 5, 10 e 1000 ppm, porém, em menores concentrações que as observadas no primeiro dia. Já no oitavo dia, detectou-se PGA no extrato folhar somente na amostra exposta a CPGAS 5 ppm.

Verifica-se que a *Lactuca sp.* apresenta estratégias metabólicas quando exposta a diferentes concentrações de PGA. Isso fica fortemente evidenciado porque no primeiro dia há detecção de PGA nos extratos folhares de todas as amostras estudadas e no segundo e oitavo dia observa-se a presença de PGA

no extrato folhar apenas para a amostra de maior e menor concentração, respectivamente.

Propõem-se duas hipóteses: I) A detecção de PGA no oitavo dia na menor concentração presente no substrato sugere que a presença de PGA no metabolismo vegetal é tolerada pela planta (IINO *et al.*, 2007). II) Maiores concentrações de PGA no substrato induzem a planta à alterar seu metabolismo radicular de forma a impedir a absorção ou metabolizar a PGA em subprodutos não detectados pelo método utilizado (JANECZKO *et al.*, 2015).

A progesterona após ser metabolizada no fígado é excretada na forma de glicuronídeos que são solúveis em água. No meio ambiente, esses conjugados são hidrolisados gerando novamente o hormônio na forma livre ou seus metabólitos (GHISELLI; JARDIM, 2007). Esses estudos indicam que a progesterona e seus metabólitos oriundos da excreção humana podem ser absorvidos pelas raízes das plantas quando irrigadas com água de mananciais contaminados por PGA e consumidos indiretamente na forma de contaminantes.

Hurtado *et al.* (2016), em estudos realizados com a alface (*Lactuca sativa*), em um sistema de plantio em condições controladas, demonstrou que diversas classes de fármacos foram incorporados à cultura por meio de um sistema de irrigação com água contaminada.

Hyland *et al.* (2015), também observaram em estudos realizados com irrigação de culturas, como morango e alface, com água recuperada a acumulação de contaminantes emergentes nestes alimentos.

A alface é considerada a principal hortaliça folhosa no Brasil, seu consumo médio diário por pessoa é de aproximadamente 29 g do vegetal, sendo consumida, principalmente, *in natura* na forma de saladas (MANTOVANI; FERREIRA; CRUZ, 2005; SALA; COSTA, 2012). A maior concentração encontrada neste trabalho (1,11 ppm) presente nas folhas de alface, sugere que uma pessoa que consome essa quantidade diariamente, estaria ingerindo uma quantidade de PGA relativa a 49,5 % da fração de hormônio liberada pelo uso de um DIU (dispositivo intrauterino) utilizado como método contraceptivo. Há uma preocupação maior no sentido de que a

população pode estar sendo exposta a estes contaminantes pelo consumo de alimentos contaminados pela água.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho abordou o estudo espectrofotométrico de extratos folhares da alface, permitindo a detecção de progesterona em meio etanólico em concentrações estimadas na ordem de ppm. Estudos analíticos e farmacológicos posteriores podem utilizar estas informações para avaliar a estratégia utilizada de modo a ampliar as possibilidades de análise de PGA de forma confiável, pelo desenvolvimento de protocolos específicos.

AGRADECIMENTOS

Aos bolsistas do projeto NEPLLI - Núcleo de Estudos e Pesquisa em Língua e Literaturas - curso de Letras, IFPR – Palmas pela tradução do texto em inglês.

REFERÊNCIAS

AFZAL, M.; KHAN, Q. M.; SESSITSCH, A. Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. **Chemosphere**, v. 117, p. 232-242, dez. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.078>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

ALVES, J. C.; SOUZA, A. P.; PÔRTO, M. L.; ARRUDA, J. A.; JÚNIOR, U. A. T.; SILVA, G. B.; ARAÚJO, R. C.; SANTOS, D. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de Vetiver, Jureminha e Algaroba. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Viçosa, v. 32, p. 1329-1336, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v32n3/a40v32n3.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2016.

BERGÉ, A.; VULLIET, E. Development of a method for the analysis of hormones and pharmaceuticals in earthworms by quick, easy, cheap, effective, rugged and safe (QuEChERS) extraction followed by liquid chromatography-

tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 7995-8008, 25 ago. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26302963>>. Acesso em: 15 set. 2016.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 651-666, 22 fev. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000300027>>. Acesso em: 20 set. 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jun. 2003.

BRASIL. Portaria do Ministério da Saúde nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2011.

BRUNTON, L.L. (Org.) **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

CASTRO, C. M. B. Perturbadores endócrinos ambientais: uma questão a ser discutida. **Engenharia sanitária e ambiental**, Belo Horizonte, v. 7, n. 1/2, p. 4-5, 2002. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/23130>>. Acesso em: 10 set. 2016.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

FARRÉ, M.; PÉREZ, S.; KANTIANI, L; BARCELÓ, D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 991-1007, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.010>>. Acesso em: 20 set. 2016.

GAFFNEY, V. J.; CARDOSO, V. V.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; ALMEIDA, C. M. M. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 138-149, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422014000100023>>. Acesso em: 10 set. 2016.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 695-706, 7 fev. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000300032>>. Acesso em: 20 set. 2016.

GUEDES-ALONSO, R.; MONTESDEOCA-ESPONDA, S.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J. Liquid chromatography methodologies for the determination of steroid hormones in aquatic environmental systems. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 3–4, p. 14–27, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.teac.2014.10.001>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

HENRIQUES, M.; CARDOSO, V. V.; RODRIGUES, A. M.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J.; ALMEIDA, C. M. M. Simultaneous Determination of Ten Endocrine Hormone Disrupters in Water Using SPE/LC-(ESI)MS-MS. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 2, p. 818-829, 20 set. 2010. Disponível em: <<http://www.SciRP.org/journal/jwarp>>. Acesso em: 20 ago. 2016.

HURTADO, C.; DOMÍNGUEZ, C.; PÉREZ-BABACE, L.; CANAMERAS, N.; COMAS, J.; BAYONA, J. M. Estimate of uptake and translocation of emerging organic contaminants from irrigation water concentration in lettuce grown under controlled conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 305, p. 139-148, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.11.039>>. Acesso em: 20 set. 2016.

HYLAND, K. C.; BLAINE, A. C.; DICKENSON, E. R. V.; HIGGINS, C. P. Accumulation of contaminants of emerging concern in food crops-part 1: edible strawberries and lettuce grown in reclaimed water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 10, p. 2213-2221, 12 maio 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25988333>>. Acesso em: 20 set. 2016.

IINO, M.; NOMURA, T.; TAMAKI, Y.; YAMADA, Y.; YONEYAMA, TAKEUCHI, Y.; MORI, M.; ASAMI, T.; NAKANO, T.; YOKOTA, T.; Progesterone: Its occurrence in plants and involvement in plant growth. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1664–1673, 2007. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/phytochem>. Acesso em: 26 dez. 2016.

JANECZKO, A.; OKLESTKOVA, J.; NOVAK, O.; SNIEGOWSKA-SWIERSKI, K.; SNACZKE, Z.; POCIECHA, E. Disturbances in production of progesterone and their implications in plant studies. **Steroids**, v. 96, p. 153–163, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2015.01.025>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes.. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.

LIMA, D. R. S.; AFONSO, R. J. C. F.; LIBÂNIO, M.; AQUINO, S. F. Avaliação da remoção de fármacos e de desreguladores endócrinos em águas de abastecimento por clarificação em escala de bancada. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 783-788, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140126>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

LOPES, L. G.; MARCHI, M. R. R.; SOUZA, J. B. G.; MOURA, J. A.; LORENZON, C. S.; CRUZ, C.; AMARAL, L. A. Estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboatão – São Paulo. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 639-643, 12 fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000300029>>. Acesso em: 20 set. 2016.

MANTOVANI, J. R.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. Produção de alface e acúmulo de nitrato em função da adubação nitrogenada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.758-762, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v23n3/a14v23n3.pdf>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 12 abr. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532011000800008>>. Acesso em: 15 set. 2016.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfaceicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-194, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362012000200002>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

SAUVÊTRE, A.; SCHRÖDER, P. Uptake of carbamazepine by rhizomes and endophytic bacteria of *Phragmites australis*. **Frontiers in Plant Science**. v. 6, p. 1-11, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00083>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

SHORE, L.S.; SHEMESH, M. Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, n. 11–12, p. 1859-1871, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1351/pac200375111859>>. Acesso em: 15 set. 2016.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos de Química Analítica**. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters: A Sewage-To-Tap Issue. **Water Air Soil Pollution**. v. 206, p. 57- 67, 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11270-009-0086-9>>. Acesso em: 20 ago. 2016.

VULLIET, E.; CREN-OLIVE, C.; GRENIER-LOUSTALOT, M. Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. **Environmental Chemistry Letters**, 12 out. 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s10311-009-0253-7>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

Enviado em: 21 set. 2016

Aceito em: 08 dez. 2016

Editor responsável: Alysson Ramos Artuso