



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
GESTÃO DE RECURSOS NATURAIS



THIAGO SANTOS DE ALMEIDA LOPES

**BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS IRRIGADAS COM
ÁGUAS EUTROFIZADAS DE RESERVATÓRIOS SUPERFICIAIS DO SEMIÁRIDO**

CAMPINA GRANDE – PB

2023

THIAGO SANTOS DE ALMEIDA LOPES

**BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS IRRIGADAS COM
ÁGUAS EUTROFIZADAS DE RESERVATÓRIOS SUPERFICIAIS DO SEMIÁRIDO**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais.

Área de Concentração: Engenharia de Recursos Naturais

Linha de Pesquisa: Recursos Hídricos

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Hermínio Cunha

Coorientadora: Profa. Dra. Weruska Brasileiro Ferreira

CAMPINA GRANDE – PB

2023

L864b

Lopes, Thiago Santos de Almeida.

Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas de reservatórios superficiais do semiárido / Thiago Santos de Almeida Lopes. - Campina Grande, 2023.

93 f. : il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2023.

"Orientação: Profª. Dra. Patrícia Hermínio Cunha, Profª. Dra. Weruska Brasileiro Ferreira."

Referências.

1. Irrigação. 2. Cianobactérias. 3. Cilindrospermopsina. 4. Culturas agrícolas. 5. Microcistinas. 6. Saxitoxina. 7. Vegetais. 8. Reservatório Epitácio Pessoa. I. Cunha, Patrícia Hermínio. II. Ferreira, Weruska Brasileiro. III. Título.

CDU 631.67(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
POS-GRADUACAO EM ENGENHARIA E GESTAO DE RECURSOS NATURAIS
Rua Aprigio Veloso, 882, - Bairro Universitario, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

FOLHA DE ASSINATURA PARA TESES E DISSERTAÇÕES

THIAGO SANTOS DE ALMEIDA LOPES

BIOACUMULAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM HORTALIÇAS IRRIGADAS COM ÁGUAS EUTROFIZADAS DE RESERVATÓRIOS SUPERFICIAIS DO SEMIÁRIDO

Tese apresentada
ao Programa de
Pós-Graduação
em Engenharia
e Gestão de
Recursos
Naturais como
pré-requisito
para obtenção
do título de
Doutor Engenharia
e Gestão de
Recursos
Naturais.

Aprovada em: 28/08/2023

Dra. Patrícia Hermínio Cunha/UFCG (Orientador PPGEGRN).

Prof.(a.) Dr.(a.) Weruska Brasileiro Ferreira (Coorientadora)

Dra. Vera Lúcia Antunes de Lima/UFCEG-PPGEGRN (Examinador Interno).

Dra. Viviane Farias Silva/UFCEG-PPGEGRN (Examinador Interno).

Dra. Neyliane Costa de Souza/UEPB (Examinador Externo).

Dr. Whelton Brito dos Santos/UEPB (Examinador Externo).



Documento assinado eletronicamente por **PATRICIA HERMINIO CUNHA FEITOSA, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 01/09/2023, às 09:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **VIVIANE FARIAS SILVA, VICE-COORDENADOR**, em 01/09/2023, às 10:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Whelton Brito dos Santos, Usuário Externo**, em 02/09/2023, às 00:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Weruska Brasileiro Ferreira, Usuário Externo**, em 02/09/2023, às 00:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **NEYLIANE COSTA DE SOUZA, Usuário Externo**, em 03/09/2023, às 20:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **VERA LUCIA ANTUNES DE LIMA, COORDENADORA DE PÓS GRADUAÇÃO**, em 05/09/2023, às 09:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **3655220** e o código CRC **2E8F0409**.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela oportunidade de realizar mais um sonho.

À minha família por todo amor, carinho e suporte no decorrer desta caminhada, especialmente a Ramon, por segurar minha mão a cada vitória e a cada derrota, por me manter firme em minha meta e me lembrar todos os dias que eu sou capaz.

Aos meus queridos amigos por todo o companheirismo e apoio.

A minhas orientadoras por toda compreensão, suporte e acreditarem no meu potencial.

Aos colegas do Laboratório de Referência em Tecnologias de Águas (LARTECA), em especial as meninas do projeto de Bioacumulação, por toda a ajuda.

Aos agricultores que me concederam acesso a suas propriedades e me permitiram fazer a coleta de amostras. Este trabalho não existiria sem vocês.

Aos colegas do Complexo de Laboratórios Prof. Edvaldo Oliveira Alves, por toda ajuda nessa reta final.

Aos membros da banca pela dedicação em contribuir com este trabalho.

Aos professores do PPGEGRN, por contribuírem com meu amadurecimento através de ensinamentos e debates.

À UFCG, pela disponibilidade desse curso de doutorado e infraestrutura, que tornaram possível a realização desta pesquisa.

À UEPB, pela parceria.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A eutrofização de reservatórios favorece o surgimento de cianobactérias e cianotoxinas em suas águas, que comumente são empregadas na irrigação de culturas agrícolas. Isso tem gerado preocupação, devido ao potencial de bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças destinadas ao consumo humano. Nesse cenário, o objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas de reservatórios superficiais do semiárido brasileiro. O trabalho foi dividido em três capítulos. O Capítulo I foi centrado na introdução do tema, na justificativa do trabalho e na revisão bibliográfica, onde se verificou a necessidade e a importância da realização de pesquisas acerca da problemática trabalhada. No Capítulo II, o foco foi estudar a bioacumulação de microcistinas (MCs), cilindrospermopsina (CYN) e saxitoxina (STX) em hortaliças irrigadas com águas do reservatório Epitácio Pessoa, importante manancial do Estado da Paraíba. As análises de cianotoxinas foram executadas através do método ELISA. Constatou-se que, no ponto de captação para irrigação, a água do reservatório Epitácio Pessoa estava eutrofizada e continha MCs, CYN e STX. As MCs apresentaram maior potencial de bioacumulação nas hortaliças estudadas e coentro e salsa demonstraram ser mais propensos ao acúmulo. Verificou-se que o método de irrigação influenciou nas concentrações de cianotoxinas em determinadas regiões da planta e que pimentões com diferentes idades não apresentaram diferença significativa na bioacumulação. Por fim, constatou-se que os consumos diários estimados (CDEs) de cianotoxinas a partir das hortaliças avaliadas foram menores que as ingestões diárias totais (IDTs) recomendadas. No Capítulo III, o foco foi avaliar a bioacumulação de MCs, CYN e STX em alface e coentro irrigados com águas eutrofizadas de um reservatório superficial da zona rural de Pocinhos, Paraíba, com ênfase na determinação de um melhor solvente, entre água e metanol, para a extração de MCs, CYN e STX dos tecidos vegetais; e nos efeitos da idade da planta e do uso de hipoclorito de sódio (NaClO) como higienizante sobre as concentrações de MCs, CYN e STX acumuladas nas hortaliças. A análise de cianotoxinas mais uma vez foi realizada pelo método ELISA. Constatou-se que a água do reservatório estudado estava eutrofizada e continha MCs, CYN e STX. Novamente as MCs apresentaram maior potencial de bioacumulação nas hortaliças estudadas e o coentro demonstrou ser mais propenso ao acúmulo. O metanol demonstrou ser o solvente mais adequado para extração de MCs, CYN e STX, a higienização com NaClO não foi eficaz na degradação destas toxinas e a idade da planta exerceu influência positiva na depuração de CYN, porém o mesmo não foi observado para MCs e STX. Por fim, constatou-se que os CDEs de MCs a partir do coentro excederam em até 3,61 vezes a IDT recomendada pela OMS, e que 70 g da alface estudada também seriam suficientes para ultrapassar a IDT de MCs. Os CDEs de CYN e STX a partir da alface e do coentro foram menores que os IDTs recomendados. De modo geral, o risco de bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças associado à crescente eutrofização das águas de reservatórios do semiárido ficou evidente e aponta para a necessidade da implantação de parâmetros de qualidade que englobem cianotoxinas em águas de irrigação, a fim de garantir a produção de alimentos saudáveis e seguros para consumo humano e, assim, proteger a saúde pública.

Palavras-chave: Cianobactérias. Cilindrospermopsina. Culturas agrícolas. Microcistinas. Saxitoxina.

ABSTRACT

The eutrophication of reservoirs favors the emergence of cyanobacteria and cyanotoxins in their waters, which are commonly used to irrigate agricultural crops. This has generated concern, due to the potential for bioaccumulation of cyanotoxins in vegetables intended for human consumption. In this scenario, the objective of this work was to evaluate the bioaccumulation of cyanotoxins in vegetables irrigated with eutrophicated waters from surface reservoirs in the Brazilian semi-arid region. The work was divided into three chapters. Chapter I was focused on the introduction of the topic, the justification of the work and the bibliographic review, where the need and importance of carrying out research on the problem addressed was verified. In Chapter II, the focus was to study the bioaccumulation of microcystins (MCs), cylindrospermopsin (CYN) and saxitoxin (STX) in vegetables irrigated with water from the Epitácio Pessoa reservoir, an important water source in the State of Paraíba. Cyanotoxin analyzes were performed using the ELISA method. It was found that, at the point of collection for irrigation, the water from the Epitácio Pessoa reservoir was eutrophic and contained MCs, CYN and STX. MCs showed greater bioaccumulation potential in the vegetables studied and coriander and parsley were more prone to accumulation. It was found that the irrigation method influenced cyanotoxin concentrations in certain regions of the plant and that peppers with different ages did not show a significant difference in bioaccumulation. Finally, it was found that the estimated daily intakes (EDIs) of cyanotoxins from the vegetables evaluated were lower than the recommended total daily intakes (TDIs). In Chapter III, the focus was to evaluate the bioaccumulation of MCs, CYN and STX in lettuce and coriander irrigated with eutrophicated waters from a surface reservoir in the rural area of Pocinhos, Paraíba, with emphasis on determining a better solvent, between water and methanol, for the extraction of MCs, CYN and STX from plant tissues; and the effects of plant age and the use of sodium hypochlorite (NaClO) as a sanitizer on the concentrations of MCs, CYN and STX accumulated in vegetables. The analysis of cyanotoxins was once again carried out using the ELISA method. It was found that the water in the studied reservoir was eutrophic and contained MCs, CYN and STX. Once again, MCs showed greater potential for bioaccumulation in the vegetables studied and coriander proved to be more prone to accumulation. Methanol proved to be the most suitable solvent for extracting MCs, CYN and STX, cleaning with NaClO was not effective in degrading these toxins and the age of the plant had a positive influence on the clearance of CYN, however the same was not observed for MCs and STX. Finally, it was found that the CDEs of MCs from coriander exceeded the TDI recommended by the WHO by up to 3.61 times, and that 70 g of the studied lettuce would also be enough to exceed the TDI of MCs. The CDEs of CYN and STX from lettuce and coriander were lower than the recommended TDIs. In general, the risk of bioaccumulation of cyanotoxins in vegetables associated with the increasing eutrophication of waters from semi-arid reservoirs has become evident and points to the need to implement quality parameters that encompass cyanotoxins in irrigation waters, in order to guarantee the production of healthy and safe food for human consumption and thus protect public health.

Keywords: Agricultural crops. Cyanobacteria. Cylindrospermopsin. Microcystins. Saxitoxin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais formas de distribuição de cianobactérias em reservatórios do semiárido:	20
Figura 2 – Fluxograma das etapas metodológicas empregadas no Capítulo II	46
Figura 3 – Localização do reservatório Eptácio Pessoa e das propriedades estudadas.....	47
Figura 4 – Fluxograma das etapas metodológicas empregadas no Capítulo III.....	68
Figura 5 – Localização do reservatório em estudo, situado na zona rural de Pocinhos, Paraíba	69
Figura 6 – Concentrações de microcistinas nas amostras de alface, com extração por metanol	79
Figura 7 – Concentrações de cilindrospermopsina nas amostras de alface, com extração por metanol	80
Figura 8 – Concentrações de saxitoxina nas amostras de alface, com extração por metanol .	81
Figura 9 – Concentrações de microcistinas nas amostras de coentro, com extração por metanol	83
Figura 10 – Concentrações de cilindrospermopsina nas amostras de coentro, com extração por metanol	83
Figura 11 – Concentrações de saxitoxina nas amostras de coentro, com extração por metanol	84

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Espécies de cianobactérias detectadas no reservatório Epitácio Pessoa	22
Quadro 2 – Valores máximos permitidos (VMP) de cianobactérias em águas que podem ser empregadas para irrigação, conforme Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005	23
Quadro 3 – Tipos de cianotoxinas, gêneros produtores e efeitos na saúde à curto e longo prazo	27
Quadro 4 – VMPs de cianotoxinas em águas de abastecimento de diversos países	29
Quadro 5 – Presença de cianotoxinas em hortaliças de cultivos reais e experimentais irrigados com águas contendo cianobactérias e cianotoxinas.....	30
Quadro 6 – Informações dos cultivos observados em cada uma das propriedades	49
Quadro 7 – Parâmetros físico-químicos e metodologias empregadas nas análises.....	50
Quadro 8 – Parâmetros físico-químicos e metodologias empregadas nas análises.....	70
Quadro 9 – Esquematização dos dados obtidos no estudo.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização das águas de irrigação em termos de parâmetros físico-químicos	52
Tabela 2 – Concentrações de cianotoxinas detectadas nas hortaliças coletadas em P1, P2 e P3	54
Tabela 3 – Consumo diário estimado de cianotoxinas das hortaliças coletadas em P1, P2 e P3	57
Tabela 4 – Caracterização da água de irrigação em termos de parâmetros físico-químicos ...	74
Tabela 5 – Concentrações de cianotoxinas detectadas nas hortaliças estudadas e p-valores do teste t de Student para diferentes tempos de cultivo e solventes de extração.....	76
Tabela 6 – Consumo diário estimado de MCs, CYN e STX através das hortaliças estudadas	85

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – Eutrofização de reservatórios no semiárido brasileiro e bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças para consumo humano.....	13
1.1 Introdução.....	13
1.2 Justificativa.....	15
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo Geral.....	17
1.3.2 Objetivos Específicos.....	17
1.4 Revisão Bibliográfica	19
1.4.1 Cianobactérias, eutrofização e qualidade da água de reservatórios do semiárido	19
1.4.2 Cianotoxinas: tipos e efeitos sobre a saúde humana	24
1.4.2.1 Hepatotoxinas.....	25
1.4.2.2 Neurotoxinas	26
1.4.2.3 Efeitos sobre a saúde humana	26
1.4.3 Bioacumulação e irrigação de culturas com águas contendo cianotoxinas.....	29
1.5 Conclusão	34
1.6 Referências	35
CAPÍTULO II - Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas do reservatório Epitácio Pessoa	43
Resumo	43
Abstract.....	43
2.1 Introdução.....	44
2.2 Metodologia.....	46
2.2.1 Caracterização da área de estudo	47
2.2.2 Coleta e preservação de amostras	49
2.2.3 Caracterização das águas de irrigação.....	50
2.2.4 Extração e determinação de cianotoxinas nas hortaliças	50

2.2.5	Análise dos resultados.....	51
2.3	Resultados e discussão	52
2.4	Conclusão	58
2.5	Referências	59
CAPÍTULO III – Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas: influências do solvente de extração, higienização e idade da planta		64
	Resumo	64
	Abstract.....	64
3.1	Introdução.....	65
3.2	Metodologia.....	67
3.2.1	Caracterização da área de estudo	68
3.2.2	Coleta e preservação de amostras	70
3.2.3	Caracterização da água de irrigação.....	70
3.2.4	Extração e determinação de cianotoxinas nas hortaliças	71
3.2.5	Análise dos resultados.....	72
3.3	Resultados e discussão	74
3.3.1	Caracterização da água de irrigação.....	74
3.3.2	Determinação do melhor solvente para extração de cianotoxinas em alface e coentro e bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais.....	75
3.3.3	Influências da higienização com hipoclorito de sódio e da idade da planta nas concentrações de cianotoxinas acumuladas em alface	78
3.3.4	Influências da higienização com hipoclorito de sódio e da idade da planta nas concentrações de cianotoxinas acumuladas em coentro.....	82
3.3.5	Consumo diário estimado de cianotoxinas.....	85
3.4	Conclusão	86
3.5	Referências	88
CONCLUSÕES GERAIS		92

PERSPECTIVAS FUTURAS E SUGESTÕES	93
---	-----------

CAPÍTULO I – Eutrofização de reservatórios no semiárido brasileiro e bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças para consumo humano

1.1 Introdução

O semiárido brasileiro é uma vasta região localizada no Nordeste e parte do Sudeste do Brasil, composto por 1.477 municípios dos Estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais e Espírito Santo (IBGE, 2022). Essa região é caracterizada por chuvas escassas e irregulares, temperaturas elevadas e altas taxas de evapotranspiração. A precipitação média anual na região varia de 300 a 800 mm, concentrada em um curto período (LIMA et al., 2022). Esse padrão de chuvas resulta em longos períodos de seca, tornando o semiárido uma das áreas mais áridas e vulneráveis do Brasil.

Nessa região, além das características climáticas, os solos são em sua maioria rasos ou de profundidade moderada e assentam em rocha cristalina, formando assim uma densa rede de rios efêmeros ou intermitentes (LIMA et al., 2022). A escassez de água é um desafio constante para a população local, exigindo o desenvolvimento de estratégias para a gestão sustentável dos recursos hídricos. Nesse cenário, os reservatórios artificiais surgem como a principal forma de armazenamento e a principal fonte de água para diversos usos.

Reservatórios são corpos d'água construídos ou modificados pelo homem com o intuito de promover abastecimento de água para usos múltiplos. Contudo, devido as condições ambientais do semiárido e à pressão antrópica exercida por atividades como industrialização, lançamento indiscriminado de poluentes e agricultura, o aumento das concentrações de nitrogênio e fósforo, que caracteriza o fenômeno da eutrofização, tem sido observado nas águas dos reservatórios dessa região.

A eutrofização, aliada às condições ideais de luminosidade, temperatura e pH, favorece o crescimento exacerbado de cianobactérias, resultando em florações (também chamadas de “*blooms*”). Estas geralmente permanecem na água por um período entre dois e quatro meses, contudo, em regiões quentes e subtropicais, podem persistir por muito mais tempo (CHORUS; BARTRAM, 1999).

Cianobactérias são uma variedade de microrganismos procariontes e autotróficos que podem ser encontrados em diferentes ambientes aquáticos e terrestres, inclusive em condições adversas, como elevadas temperaturas e salinidade. Apresentam características bioquímicas e estruturais semelhantes às das bactérias, no entanto, são similares às algas com relação ao tamanho e à presença de pigmentos que as possibilitam realizar fotossíntese, sendo esta sua principal forma de obtenção de energia (WHO, 2001; LAPOLLI; CORAL; RÉCIO, 2011).

Algumas espécies de cianobactérias podem produzir cianotoxinas, metabólitos tóxicos capazes de causar danos ao fígado, citotoxicidade, neurotoxicidade, distúrbios gastrointestinais, toxicidade cutânea e até mesmo a morte do homem e dos animais. Estima-se que cerca de 50 a 70% das florações de cianobactérias apresentem espécies tóxicas (SIVONEN et al., 1990; YOO et al., 1995; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).

A exposição humana às cianotoxinas pode ocorrer por diferentes formas, incluindo a ingestão de água contaminada e o contato em atividades recreativas (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Outra via conhecida é o consumo de animais aquáticos como peixes, moluscos e crustáceos, que podem absorver e acumular cianotoxinas em seus corpos e transportar para níveis superiores da cadeia trófica (FERRÃO-FILHO, 2009).

Uma via de ingestão que tem sido estudada é o consumo de hortaliças. Estudos apontam que, assim como nos animais aquáticos, a bioacumulação de cianotoxinas também é possível em vegetais (BIHN et al., 2013; CORDEIRO-ARAÚJO; CHIA; BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2017). Esse fenômeno pode ocorrer através das raízes, pela absorção das cianotoxinas presentes na água do solo, ou pela deposição química nas folhas, a partir de métodos de irrigação que molham a planta (CODD; METCALF; BEATTIE, 1999; KITTLER et al., 2012).

No Brasil, a irrigação de hortaliças comumente é realizada com águas de reservatórios superficiais que, em muitos casos, encontram-se eutrofizados, em condições que promovem o surgimento de florações de cianobactérias. O consumo de plantas irrigadas com estas águas categoriza uma possível rota de contaminação humana por cianotoxinas, que pode desencadear uma série de prejuízos para a saúde (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016; LEE et al., 2017). Apesar disso, a quantidade de estudos acerca da bioacumulação de cianotoxinas em culturas agrícolas ainda é limitada, sendo a grande maioria realizada em escala laboratorial (CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014; NERY; NERY; MEDEIROS, 2020).

Sabendo-se que a região semiárida enfrenta desafios significativos de escassez hídrica e seus reservatórios encontram-se cada vez mais eutrofizados e com crescente presença de cianobactérias e cianotoxinas, surge uma preocupação sobre a segurança alimentar e a saúde pública associadas ao consumo de hortaliças irrigadas com águas nessas condições, visto a capacidade de bioacumulação de cianotoxinas em tecidos vegetais.

A quantidade limitada de estudos disponíveis acerca dessa problemática é uma lacuna que precisa ser preenchida para orientar políticas de gestão hídrica, práticas agrícolas e medidas de controle de qualidade alimentar. Nesse cenário, este trabalho tem como objetivo avaliar a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas do semiárido brasileiro.

1.2 Justificativa

Este trabalho foi realizado em dois reservatórios da Paraíba, pertencentes ao semiárido brasileiro: o Eptácio Pessoa, localizado no município de Boqueirão-PB, e outro de pequeno porte, situado em uma propriedade rural em Pocinhos-PB.

Um dos fatores que motivaram a seleção do reservatório Eptácio Pessoa foi o seu significativo papel socioeconômico e ambiental na região. Esse reservatório está localizado na Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba e possui a segunda maior capacidade de armazenamento do estado da Paraíba, cerca de 466 milhões de m³ (PARAÍBA, 2019). Desempenha papel vital no suprimento de uma grande população, visto que abastece 25 municípios paraibanos, incluindo a maior cidade do interior do Estado, Campina Grande (ANA, 2017).

Nas últimas décadas (1997–2003 e 2012–2017), esse reservatório enfrentou duas crises hídricas severas. A segunda foi especialmente crítica, onde o nível de suas águas chegou a 3% de sua capacidade de armazenamento, o que quase levou o serviço de abastecimento ao colapso em março de 2017. Contudo, graças ao aceleração das obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco (PISF), a situação foi mitigada.

Além de ser uma importante fonte de abastecimento de água, o reservatório Eptácio Pessoa desempenha um papel crucial em atividades como irrigação, pesca, dessedentação de animais e lazer. Todavia, a intensa atividade antrópica realizada em seu entorno, incluindo desmatamento, agricultura irrigada, pecuária e moradias, tem causado impactos significativos na qualidade de suas águas. Essa situação é agravada pelo fato de que os rios que o alimenta atravessam áreas não saneadas do Estado, recebendo descargas de efluentes não tratados e de resíduos sólidos.

De acordo com o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), o índice de coleta de esgoto na Paraíba é de apenas 44,58% (BRASIL, 2022). Isso indica que a maior parte do esgoto não coletado (55,42%) é descartada de forma ambientalmente inadequada, o que corrobora a poluição de rios que alimentam os reservatórios do Estado.

Além disso, o elevado tempo de residência do reservatório Eptácio Pessoa (entre 3-5 anos), decorrente do ciclo hidrológico com longos períodos de estiagem, favorece a retenção dos nutrientes e poluentes exportados para o mesmo. Como resposta aos estresses antropogênicos e ambientais, incluindo os climáticos, suas águas tem sido classificadas como eutróficas (SILVA et al., 2020).

Essas condições contribuem para o surgimento de florações de cianobactérias nas águas, dentre elas espécies potencialmente produtoras de cianotoxinas, cujos efeitos sobre humanos e

animais podem ser severos e causar a morte. A principal rota de intoxicação é a ingestão direta de água contaminada, contudo, a capacidade das cianotoxinas de percorrerem a cadeia alimentar por meio de culturas agrícolas precisa ser investigada (BRASIL, 2003; CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014).

Os riscos à saúde humana associados às cianotoxinas e a escassez de estudos na área de bioacumulação em culturas irrigadas com águas eutrofizadas constituem motivações para este trabalho. Além disso, estudos relatam a ocorrência de cianobactérias potencialmente tóxicas no reservatório Epitácio Pessoa (CARLOS, 2013; NERY; NERY; MEDEIROS, 2020; SILVA, 2018; SILVA et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2011), cujas águas são empregadas para a irrigação de culturas comercializadas e consumidas pela população.

Os resultados obtidos a partir desse reservatório podem servir como um referencial para outras regiões com reservatórios similares, ampliando o conhecimento sobre os impactos da eutrofização e cianotoxinas em corpos d'água de grande escala.

Com relação à escolha do segundo reservatório, de pequeno porte, pode ser justificada com base na sua relevância local, sua contribuição para o conhecimento sobre bioacumulação de cianotoxinas em reservatórios menores e seu potencial para fornecer informações práticas e aplicáveis para a gestão sustentável de recursos hídricos em propriedades rurais e agrícolas. Além disso, estudos preliminares constataram que as águas desse reservatório se encontram eutrofizadas e com presença de cianobactérias e cianotoxinas.

Outro fator considerado para a realização deste trabalho é que no Brasil existe Resolução que estabelece os valores máximos permitidos (VMPs) de cianobactérias em águas que podem ser empregadas na irrigação (Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005), contudo, a referida Resolução não regulamenta VMPs de cianotoxinas, sendo estas abarcadas somente pela portaria de potabilidade (Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, alterado pela Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021). A falta de controle das concentrações de cianotoxinas em águas de irrigação aumenta a fragilidade da possível rota de exposição humana através do consumo de hortaliças contaminadas.

Por fim, o tema tratado neste trabalho se alinha com o Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, considerando sua aderência à área de concentração Engenharia de Recursos Naturais, com enfoque interdisciplinar, integrador e sistêmico.

Com base na problemática abordada, três hipóteses foram levantadas para esta pesquisa:

- A irrigação de hortaliças para consumo humano com águas eutrofizadas de reservatórios superficiais do semiárido brasileiro promove a bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais;

- Além da qualidade da água, a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças depende das características dos cultivos, como espécie vegetal, método de irrigação e idade da planta;
- A recomendação do Ministério da Saúde para higienização de hortaliças para consumo humano com hipoclorito de sódio não é suficiente para remoção de cianotoxinas dos tecidos vegetais.

Ressalta-se que esta pesquisa foi desenvolvida em parceria entre a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e a Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), por meio do Laboratório de Referência em Tecnologias de Águas (LARTECA), localizado no Campus I da UEPB, na cidade de Campina Grande, Paraíba.

O trabalho está estruturado em três capítulos. O Capítulo I corresponde à introdução da problemática trabalhada, justificativa, objetivos e revisão bibliográfica. Os Capítulos II e III são estudos independentes centrados no tema do trabalho. Cada capítulo apresenta seus objetivos específicos, detalhados a seguir.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas de reservatórios superficiais do semiárido brasileiro, considerando as características dos cultivos, os solventes utilizados no método de extração e a higienização das hortaliças antes do consumo.

1.3.2 Objetivos Específicos

CAPÍTULO I – Eutrofização de reservatórios no semiárido brasileiro e bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças para consumo humano:

- Apresentar o tema, contextualizando a relevância do problema estudado;
- Justificar a pesquisa, ressaltando a sua importância e destacando os fatores motivadores para a sua realização nas áreas estudadas;
- Revisar a literatura, visando fornecer uma base sólida de conhecimentos acerca do tema trabalhado e, assim, possibilitar a compreensão da relevância dos objetivos e resultados apresentados nos capítulos subsequentes.

CAPÍTULO II – Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas do reservatório Epitácio Pessoa:

- Caracterizar as águas de irrigação provenientes do reservatório Epitácio Pessoa em três propriedades situadas no seu entorno;
- Quantificar, nas três propriedades estudadas, as concentrações de microcistinas (MCs), cilindrospermopsina (CYN) e saxitoxina (STX) acumuladas nas hortaliças irrigadas com as águas do Epitácio Pessoa;
- Identificar qual cianotoxina, dentre MCs, CYN e STX, apresenta maior potencial de bioacumulação em tecidos vegetais;
- Determinar, dentre as hortaliças estudadas, quais espécies são mais propensas à bioacumulação de cianotoxinas, isto é, quais espécies acumulam mais;
- Verificar se o método de irrigação e a idade da planta exercem influência sobre as concentrações de cianotoxinas acumuladas nos tecidos vegetais;
- Averiguar se os consumos diários estimados (CDEs) de MCs, CYN e STX, a partir das hortaliças estudadas, superam a ingestão diária total (IDT) recomendada para cada uma dessas cianotoxinas.

CAPÍTULO III – Cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas no semiárido: influências do solvente de extração, higienização e crescimento vegetal:

- Caracterizar a água de irrigação de uma propriedade rural situada em Pocinhos-PB, proveniente de um reservatório superficial de pequeno porte;
- Quantificar as concentrações de MCs, CYN e STX acumuladas em alface e coentro irrigados com a água avaliada;
- Determinar qual solvente dentre água destilada e metanol é mais adequado para a extração de MCs, CYN e STX de tecidos vegetais;
- Verificar se a higienização com hipoclorito de sódio e a idade da planta exercem influência sobre os níveis de MCs, CYN e STX acumulados nos tecidos vegetais;
- Averiguar se os CDEs de MCs, CYN e STX, a partir das hortaliças estudadas, superam a IDT recomendada para cada uma dessas cianotoxinas.

1.4 Revisão Bibliográfica

1.4.1 Cianobactérias, eutrofização e qualidade da água de reservatórios do semiárido

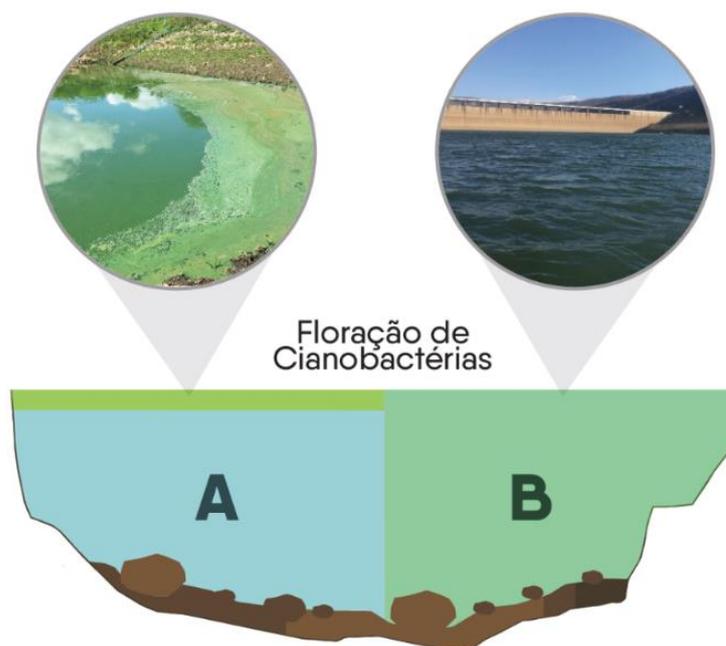
Cianobactérias são uma variedade de microrganismos procariontes e autotróficos que podem ser encontrados em diferentes habitats, que vão desde sistemas aquáticos e terrestres até ambientes com as mais adversas condições, como elevada salinidade e temperaturas extremas. Apresentam características bioquímicas e estruturais semelhantes às das bactérias, no entanto, são similares às algas com relação ao tamanho e à presença de pigmentos que as possibilitam realizar fotossíntese, sendo esta sua principal forma de obtenção de energia (WHO, 2001; LAPOLLI; CORAL; RÉCIO, 2011).

Consideradas como as mais antigas produtoras de oxigênio, as cianobactérias possuem papel fundamental no ciclo global do carbono e no fornecimento de oxigênio para a atmosfera por meio da fotossíntese, assim como na manutenção dos ecossistemas aquáticos. Contudo, a contaminação dos corpos hídricos, principalmente no tocante ao aporte de nutrientes como nitrogênio e fósforo (eutrofização), favorece a multiplicação desses microrganismos e formação de grandes aglomerados conhecidos como florações ou *blooms*, o que resulta na predominância das cianobactérias sobre a comunidade fitoplânctônica (LAPOLLI; CORAL; RÉCIO, 2011; NERY et al., 2019).

As florações de cianobactérias podem ser facilmente identificadas na superfície da água, em virtude da tonalidade de cor que apresentam. Estes microrganismos vivem em suspensão e sua localização na coluna de água (Figura 1) depende da disponibilidade de nutrientes e da intensidade de luz. Por esse motivo, podem estar presentes em diferentes profundidades. Com relação ao tempo de permanência na água, as florações podem durar poucas horas ou um longo período, dependendo das condições ambientais (FRANCO et al., 2019; NERY et al., 2019).

O aumento da ocorrência de florações de cianobactérias em corpos hídricos é motivo de preocupação, principalmente devido à capacidade que algumas espécies destes microrganismos apresentam de produzir e liberar metabólitos tóxicos na água, conhecidos como cianotoxinas. Estas toxinas podem, em função de sua concentração, ocasionar danos severos tanto ao homem quanto aos animais. Além disso, as florações provocam alterações nos aspectos organolépticos e estéticos da água, tornando-a pouco agradável (BRASIL, 2003; LAPOLLI; CORAL; RÉCIO, 2011).

Figura 1 – Principais formas de distribuição de cianobactérias em reservatórios do semiárido: (a) na superfície do corpo d'água e (b) em toda a coluna d'água



Fonte: Nery et al. (2019)

A predominância de cianobactérias se dá, geralmente, com o crescimento excessivo de poucas ou até mesmo uma única espécie produtora de cianotoxinas, que inibem a sua predação por consumidores primários, como microcrustáceos, larvas de peixes e moluscos. Isso faz com que estes se alimentem de outros microrganismos, como microalgas não tóxicas, o que, por sua vez, acarreta no desequilíbrio da cadeia alimentar e afeta todo o ecossistema aquático. Por esse motivo, muitas vezes restam apenas as espécies de cianobactérias tóxicas como organismos fitoplantônicos dominantes (BRASIL, 2003).

Ambientes lânticos, como represas e lagos, que apresentam elevados tempos de retenção e são facilmente eutrofizados, constituem ecossistemas que favorecem a expansão das florações de cianobactérias. Mananciais com essas características são, por muitas vezes, as únicas fontes de água disponíveis para abastecimento humano nas diversas regiões do Brasil, dentre elas o semiárido (SANT'ANNA et al., 2008).

Mendes et al. (2017) descrevem as principais características presentes em reservatórios do semiárido que favorecem a proliferação de cianobactérias, entre elas: altas concentrações de nutrientes (especialmente fósforo), elevados valores de pH, baixas concentrações de CO_2 , maior estabilidade da coluna de água, pouca luz subaquática, além de condições meteorológicas como altas temperaturas, baixas precipitações, elevada radiação solar e velocidades reduzidas dos ventos.

De acordo com Vasconcelos et al. (2011), a ocorrência de florações de cianobactérias tem aumentado nos reservatórios da Paraíba. Conforme os autores, 3% dentre os 20 maiores reservatórios do Estado apresentavam florações de cianobactérias em 2006. Esse valor passou a ser 20% em 2007, 45% em 2008 e 62% em 2009. Também observaram que nestes mananciais houve um crescente acúmulo de fósforo total, com médias de 30, 45, 133 e 179 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os anos 2006, 2007, 2008 e 2009, respectivamente. Por fim, relataram o aumento da eutrofização nestes reservatórios: 7,7% estavam eutrofizados em 2006, 30,8% em 2007, 42,3% em 2008 e 57,7% em 2009.

Isto aponta para uma tendência no aumento da ocorrência de florações de cianobactérias nestes reservatórios relacionada com a eutrofização dos mesmos. Conforme Vasconcelos et al. (2011), este fenômeno pode ser associado aos usos múltiplos da água nas bacias hidrográficas do Estado, que incluem atividades como irrigação, pecuária e piscicultura, além da ausência de tratamento de esgotos, que são lançados nos cursos dos rios.

A determinação do estado trófico de um corpo hídrico é fundamental para obtenção de informações sobre o mesmo. De forma geral, a classificação é dada por: oligotrófico, quando o ambiente apresenta baixas concentrações de nutrientes e produtividades primárias; mesotrófico, quando os níveis de nutrientes são moderados e há um crescimento equilibrado de algas; e eutrófico, quando o ambiente é rico em nutrientes e o crescimento acelerado de algas, incluindo cianobactérias, é observado (BARRETO et al., 2014; CARLSON, 1977).

Com relação ao estado trófico do reservatório Epitácio Pessoa, Araujo Júnior (2009) verificou que o mesmo foi classificado, de acordo com o Índice de Estado Trófico (IET), como oligo-mesotrófico (no período entre 1989-1991), mesotrófico (2002-2003), oligotrófico (2005-2007) e oligo-mesotrófico (2008). No entanto, a partir do ano de 2013, Cardoso (2022) relata que o mesmo passou a ser classificado como eutrófico, mantendo, até o ano de 2019, seu estado trófico oscilando entre mesotrófico e eutrófico, o que aponta para a degradação da qualidade desse reservatório com o decorrer do tempo.

A partir da problemática da eutrofização, Silva et al. (2020) e Nery, Nery e Medeiros (2020) avaliaram a ocorrência de florações de cianobactérias no reservatório Epitácio Pessoa e detectaram a presença de espécies potencialmente produtoras de cianotoxinas. O Quadro 1 reúne os dados dos seus estudos.

Quadro 1 – Espécies de cianobactérias detectadas no reservatório Epitácio Pessoa

Ano de obtenção dos dados	Espécies de cianobactérias detectadas	Referência
2019	<i>Chroococcus dispersus</i> , <i>Amphiheterocytum lacustre</i> , <i>Aphanocapsa elachista</i> , <i>Coelomorum tropicalis</i> , <i>Cuspidothrix tropicalis</i> , <i>Limnothrix planctonica</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Microcystis protocystis</i> , <i>Phormidium breve</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix isothrix</i> , <i>Pseudanabaena galeata</i> , <i>Raphidiopsis raciborskii</i>	Nery; Nery; Medeiros (2020)
2017	<i>Chroococcus dispersus</i> , <i>Chroococcus limneticus</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Planktothrix isothrix</i> , <i>Spirulina subsalsa</i> , <i>Aphanizomenon gracile</i> , <i>Dolichospermum solitarium</i> , <i>Aphanocapsa annulata</i> , <i>Aphanocapsa incerta</i> , <i>Eucapis densa</i> , <i>Limnococcus limneticus</i> , <i>Merismopedia glauca</i> , <i>Pseudanabaena catenata</i> , <i>Pseudanabaena galeata</i> , <i>Synechocystis aquatilis</i>	Silva et al. (2020)

Legenda: As espécies de cianobactérias em negrito são relatadas como potencialmente produtoras de cianotoxinas. Fonte: Adaptado de Nery, Nery e Medeiros (2020) e Silva et al. (2020).

A presença de florações de cianobactérias em mananciais destinados ao abastecimento de água aumenta o risco de exposição humana às cianotoxinas, uma vez que a ingestão de água é a principal rota de intoxicação (BRASIL, 2003). Neste contexto, para manter a água potável para o consumo, procedimentos relacionados ao monitoramento de cianobactérias na água estão presentes na Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021, que altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, e dispõe em seu Art. 43:

Art. 43 Para minimizar os riscos de contaminação da água para consumo humano com cianotoxinas, os responsáveis por SAA ou SAC com captação em mananciais superficiais devem realizar monitoramento para identificação e contagem de células de cianobactérias, de acordo com a Tabela do Anexo 12, considerando, para efeito de alteração da frequência de monitoramento, o resultado da última amostragem.

§ 1º Em complementação ao monitoramento do Anexo 12, deve ser realizada análise de clorofila-a no manancial, com frequência mensal, como indicador de potencial aumento da contagem de cianobactérias.

I - Quando os resultados da análise prevista no § 1º deste artigo revelarem que a concentração de clorofila-a é igual ou superior a 10 µg/L, deve-se proceder a nova coleta de amostra para análise do fitoplâncton;

II - Se a contagem de células de cianobactérias representar 10% ou mais do fitoplâncton, deve ser realizado monitoramento semanal de cianobactérias no manancial, no ponto de captação; e

III - O monitoramento de clorofila-a descrito no § 1º deste Artigo pode ser substituído pelo monitoramento mensal de cianobactérias no ponto de captação, atendendo o limite de contagem de células de cianobactérias menor ou igual a 10.000 células/mL.

§ 2º Quando a contagem de células de cianobactérias exceder 20.000 células/mL, deve-se realizar análise das cianotoxinas microcistinas, saxitoxinas e cilindrospermopsinas no ponto de captação com frequência no mínimo semanal:

I - As análises de cianotoxinas no ponto de captação devem permanecer enquanto se mantiver contagem de células de cianobactérias superior a 20.000 células/mL.

§ 3º Alternativamente ao monitoramento de cianobactérias pode ser realizado o monitoramento semanal de cianotoxinas na água bruta (entrada da ETA).

I - Quando o monitoramento de cianotoxinas for realizado semanalmente na água bruta, fica dispensada a realização do monitoramento de cianobactérias e clorofila-a no ponto de captação.

§ 4º Quando a análise de cianotoxinas realizada na água bruta (entrada da ETA) ou em pelo menos um ponto de captação for superior ao VMP expresso no Anexo 10, será obrigatória a realização da análise de cianotoxinas na saída do tratamento com frequência semanal.

§ 5º Quando a análise de cianotoxinas na água bruta (entrada da ETA) ou em todos os pontos de captação for inferior ao VMP expresso no Anexo 10, será dispensada a realização desta análise na saída do tratamento.

§ 6º O monitoramento de cianobactérias, quando exigido, deve ser realizado em cada ponto de captação e deve identificar os gêneros presentes.

§ 7º Em função dos riscos à saúde associados às cianotoxinas, é vedado o uso de algicidas para o controle do crescimento de microalgas e cianobactérias no manancial de abastecimento ou qualquer intervenção que provoque a lise das células.

§ 8º As autoridades ambientais e de recursos hídricos definirão a regulamentação das excepcionalidades sobre o uso de algicidas nos cursos d'água superficiais.

§ 9º Quando detectada a presença de cianotoxinas na água tratada, na saída do tratamento, será obrigatória a comunicação imediata a autoridade de saúde pública, às clínicas de hemodiálise e às indústrias de injetáveis.

Apesar disso, não há legislação específica para regular a qualidade da água de irrigação no Brasil, sendo esta abarcada pela Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Com base nesta, o Quadro 2 elenca as classes de águas que podem ser usadas para irrigação e seus respectivos valores máximos de concentrações de cianobactérias.

Quadro 2 – Valores máximos permitidos (VMP) de cianobactérias em águas que podem ser empregadas para irrigação, conforme Resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005

Água		Especificações do uso na irrigação	VMP de cianobactérias (cel.mL ⁻¹)
Tipo	Classe		
Doce	I	Irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película	20.000
Doce	II	Irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto	50.000
Doce	III	Irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras	100.000
Salobra	I	Irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto	Não especificado

Fonte: Adaptado de Brasil (2005).

É possível observar uma fragilidade relacionada à ausência de limites para cianotoxinas na Resolução mencionada, o que, considerando a possibilidade de bioacumulação nas culturas

irrigadas, oferece riscos à saúde do consumidor, principalmente no tocante às hortaliças que são consumidas cruas.

1.4.2 Cianotoxinas: tipos e efeitos sobre a saúde humana

As toxinas de cianobactérias, conhecidas como cianotoxinas, têm presença dominante entre os produtos do metabolismo secundário desses microrganismos e constituem um grupo heterogêneo de substâncias químicas que apresentam propriedades toxicológicas diversas (SIVONEN; JONES, 1999). Podem ser formadas em todos os estágios do crescimento das células, contudo, são liberadas quando ocorre seu rompimento (lise), permanecendo até várias semanas na água, conforme condições do meio (KOTAK et al., 1995; CHORUS, 2001).

Apesar das causas da produção dessas toxinas não estarem devidamente esclarecidas, uma hipótese bastante aceita é que sua produção exerça função protetora contra herbivoria (CARMICHAEL, 1992). Vale salientar que nem todas as florações de cianobactérias são constituídas por espécies tóxicas. No entanto, é relatado na literatura que cerca de 50 a 70% dos florescimentos apresentam espécies com capacidade para produzir compostos tóxicos (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; SIVONEN et al., 1990; YOO et al., 1995).

De acordo com a classificação toxicológica, as cianotoxinas podem ser divididas em: hepatotoxinas, que produzem lesões no fígado que causam alterações morfológicas e funcionais nos hepatócitos, levando à autofagia, necrose ou proliferação celular, dependendo da dose e duração da exposição; neurotoxinas, que causam envenenamento letal agudo e interferem na transmissão do impulso nervoso, podendo causar paralisia muscular e, conseqüentemente, respiratória; e dermatotoxinas, que não são letais, no entanto provocam irritações e processos inflamatórios (CARMICHAEL, 1992; SIQUEIRA; OLIVEIRA-FILHO, 2008).

A maior parte dos estudos se concentram nas hepatotoxinas e neurotoxinas, devido ao elevado número de casos de intoxicações que elas provocam (CHORUS; BARTRAM, 1999; SIVONEN; JONES, 1999; CODD, 2000). Essas classes de cianotoxinas serão explanadas nas seções a seguir.

Com relação as dermatotoxinas, são essencialmente produzidas por cianobactérias marinhas, sendo responsáveis por alguns casos de dermatites relatados por banhistas em águas costeiras. Entre elas estão as debromoapliasiatoxinas e a lingbiatoxina-a. Existe ainda um grupo denominado de lipopolissacarídeos (LPS), produzidos pela maioria das cianobactérias, mas que possuem ação tóxica menor quando comparados às toxinas de outras bactérias, como a *Salmonella* (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; CHORUS; BARTRAM, 1999).

1.4.2.1 Hepatotoxinas

O tipo mais comum de intoxicação relacionado à cianobactérias é por hepatotoxinas. As espécies reconhecidas como produtoras dessas toxinas pertencem aos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc* e *Cylindrospermopsis*. As hepatotoxinas já caracterizadas são as microcistinas (MCs), a cilindrospermopsina (CYN) e as nodularinas (CARMICHAEL, 1994; MOLICA; AZEVEDO, 2009).

As MCs têm estrutura geral constituída por sete aminoácidos, sendo identificadas, principalmente, pelas letras correspondentes aos dois L-aminoácidos variáveis, que podem assumir mais de 60 combinações, dentre elas LR (leucina-arginina), RR (arginina-arginina), YA (tirosina-alanina) e YR (tirosina-arginina), e também pelas metilações e desmetilações dos dois aminoácidos não usuais: ácido 3-amino-metoxi-10-fenil-2,6,8-trimetil-deca-4,6-dienóico (Adda) e N-metil-dehidroalanina (Mdha) (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; LEAL; SOARES, 2004).

Dentre as cianotoxinas em geral, as MCs são as mais estudadas, devido à predominância de espécies produtoras destas toxinas em água doce e também do maior conhecimento sobre sua toxicologia e mecanismos de ação (FERRÃO-FILHO, 2009; DJEDIAT et al., 2010; SANCHES et al., 2012; BAVITHRA et al., 2020). Em animais de laboratório, a toxicidade das MCs apresenta dose letal em 50% da população exposta (DL₅₀) entre 25-150 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo (p.c.) por via intraperitoneal (i.p.) e entre 5000-10900 µg.kg⁻¹ (p.c.) por via oral (CHORUS; BARTRAM, 1999).

A CYN é um alcaloide hepatotóxico. Esta toxina tem ação lenta, sendo necessário de cinco a sete dias para o seu efeito tóxico máximo. A DL₅₀ (i.p.) em animais de laboratório é de 2 mg.kg⁻¹ (p.c.) após 24 horas e 0,2 mg.kg⁻¹ (p.c.) após cinco dias. Por administração oral, a DL₅₀ é de 6 mg.kg⁻¹ (p.c.) (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010). Estudos relatam duas variantes desta toxina: 7-epicilindrospermopsina, produzida pela *Aphanizomenon ovalisporum* (BANKER et al., 1997) e deoxicilindrospermopsina, identificada em *C. raciborskii* (NORRIS et al., 1999).

As nodularinas são caracterizadas por uma estrutura cíclica de pentapeptídeos, cuja nomenclatura é definida devido as variações no grau de metilação, composição e isomerização de seus aminoácidos. São conhecidas oito nodularinas distintas, cuja DL₅₀ (i.p.) em animais de laboratório varia de 50 a 200 µg.kg⁻¹ (p.c.) (RINEHART; NAMIKOSHI; CHOI, 1994).

1.4.2.2 Neurotoxinas

As neurotoxinas usualmente apresentam estrutura principal sob a forma de alcaloides e são produzidas por espécies de cianobactérias presentes nos gêneros *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Aphanizomenon*, *Trichodesmium*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis*. Essas toxinas podem agir por meio de diferentes mecanismos fisiológicos em vertebrados, no entanto, todas levam à morte por parada respiratória, que geralmente é bastante rápida (entre 5 e 30 min). Podem ser divididas em três famílias: anatoxina-a e homoanatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxinas (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; MOLICA; AZEVEDO, 2009).

A anatoxina-a possui estrutura química constituída pela amina secundária 2-acetil-9-azabiciclo(4-2-1)-no-2-eno. As homoanatoxinas-a são homólogas às anatoxinas-a, contudo, apresentam um grupo propionil no C2 ao invés do grupo acetil. A DL_{50} (i.p.) de ambas em animais de laboratório, após 24 horas de exposição, varia entre 200 e 250 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (p.c.) (CARMICHAEL, 1992; CHORUS; BARTRAM, 1999).

A anatoxina-a(s) apresenta estrutura química formada por um éster fosfatado de metil guanidina e possui toxicidade 10 vezes maior quando comparada à anatoxina-a, com valores de DL_{50} (i.p.), após 24 h, variando de 20 a 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (p.c.) em bioensaios com camundongos. O “s” no nome refere-se à intensa salivação observada em animais intoxicados por esta toxina (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; MOLICA; AZEVEDO, 2009).

As saxitoxinas são constituídas por um grupo de alcaloides carbamatos que podem ser não sulfatados: saxitoxina (STX) e neosaxitoxina; com um único grupo sulfato: G-toxinas; ou com dois sulfatos: C-toxinas. Além dessas, estruturas com grupo decarbamoil (deSTX ou deGTX) e toxinas relacionadas têm sido observadas. São extremamente tóxicas, com destaque para a STX que apresenta DL_{50} (i.p.) de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (p.c.), enquanto que por consumo oral o valor da DL_{50} é de 263 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (p.c.) em animais de laboratório (CHORUS; BARTRAM, 1999; SIVONEN; JONES, 1999).

1.4.2.3 Efeitos sobre a saúde humana

Em humanos, a exposição à cianotoxinas pode acontecer de diversas formas, contudo, a via mais importante é a oral, onde a intoxicação se dá principalmente por consumo de água ou alimentos contaminados, podendo inclusive envolver a ingestão de água durante atividades recreativas. Outras formas de exposição possíveis são o contato com a pele e a inalação (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Os efeitos provocados por cada grupo de cianotoxinas dependem da classe à qual elas se integram, bem como da região alvo que venha a proporcionar sua ação toxicológica, e podem ocorrer poucos minutos após a contaminação ou dias depois (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010). O Quadro 3 apresenta as principais cianotoxinas encontradas em eventos de florações de cianobactérias em ambientes naturais, os gêneros produtores e os efeitos na saúde à curto e à longo prazo.

Quadro 3 – Tipos de cianotoxinas, gêneros produtores e efeitos na saúde à curto e longo prazo

Cianotoxina	Principais gêneros de cianobactérias produtores	Efeitos na saúde	
		Curto prazo	Longo prazo
Microcistinas	<i>Microcystis, Anabaena, Plankthotrix</i>	Dor gastrointestinal, inflamação hepática e hemorragia, insuficiência hepática levando à morte, pneumonia e dermatite	Promotor de tumor e insuficiência hepática levando à morte
Nodularinas	<i>Nodularia</i>	Semelhante às microcistinas	Semelhante às microcistinas
Cilindrospermopsina	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia, Raphidiopsis, Anabaena</i>	Dor gastrointestinal, inflamação e hemorragia do fígado, pneumonia e dermatite	Mal-estar, anorexia e insuficiência hepática levando à morte
Anatoxinas	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Plankthotrix, Oscillatoria</i>	Formigamento, queimação e paralisia respiratória levando à morte	Arritmia cardíaca levando à morte
Saxitoxinas	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya</i>	Formigamento, queimação, dormência, sonolência, fala incoerente e paralisia respiratória levando à morte	Dormência da boca, garganta e extremidades, paralisia muscular aguda e insuficiência respiratória
Lingbiatoxinas	<i>Lyngbya</i>	Dermatite e tumores de pele	Dermatite aguda e lesão renal
Lipopolissacarídeos	Cianobactérias em geral	Dor gastrointestinal e dermatite	Febre, leucopenia, hipotensão, disfunção cardiopulmonar, coagulação intravascular disseminada e insuficiência multissistêmica

Fonte: Adaptado de Di Bernardo, Minillo e Dantas (2010) e Mutoti, Gumbo e Jideani (2022).

As hepatotoxinas provocam ruptura da estrutura hepática por choque hipovolêmico e acúmulo excessivo de sangue no fígado. Também inibem as proteínas fosfatases tipo 1 ou 2 (PP1 ou PP2), que são componentes essenciais para a estruturação e funcionamento das células hepáticas. Além de afetar o fígado, as hepatotoxinas causam danos aos rins, baço, coração e outros órgãos. Podem ainda ocasionar efeitos a longo prazo devido à exposição crônica, como o surgimento de tumores (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

As neurotoxinas são os compostos mais tóxicos produzidos pelas cianobactérias. Elas interferem no sistema neuromuscular, causando paralisia dos músculos respiratórios e morte por insuficiência respiratória em poucos minutos, como observado em bioensaios com ratos de laboratório. Os sintomas mais comuns das saxitoxinas, uma das neurotoxinas mais frequentes, envolvem tonturas, dormência da boca e extremidades, fraqueza muscular, náusea, vômito, sede e taquicardia (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Relatos de reações alérgicas provenientes das cianobactérias também estão descritos na literatura. A exposição às dermatotoxinas, incluindo os lipopolissacarídeos (LPS), tem sido associada a uma série de efeitos patológicos em seres humanos, tais como irritação cutânea ou ocular. Além disso, os LPS podem agravar os danos hepáticos induzidos pelas hepatotoxinas (STEWART; SCHLUTER; SHAW, 2006).

Uma ocorrência associada à presença de cianobactérias em águas de abastecimento no Brasil aconteceu em 1988, na represa de Itaparica em Paulo Afonso-BA, onde cerca de 2000 casos de gastroenterite foram relatados e resultaram na morte de 88 pessoas em um período de 42 dias (JOCHIMSEN et al., 1998; POURIA et al., 1998; TEIXEIRA et al., 1993).

Outro caso de intoxicação humana envolvendo cianotoxinas ocorreu no Brasil em 1996, na cidade de Caruaru-PE, quando pacientes que recebiam tratamento de diálise renal de rotina começaram a se queixar de dor de cabeça, dor ocular, náusea e vômito. Um total de 76 pacientes morreu de complicações hepáticas devido ao uso de água contaminada. MCs foram encontradas no sangue e no fígado das vítimas.

Na Inglaterra, Turner et al. (1990) relataram que dois recrutas em exercício de canoagem consumiram água de um reservatório com *Microcystis aeruginosa* e desenvolveram pneumonia basal esquerda entre 4-5 dias depois.

Na Austrália, o emprego de sulfato de cobre para eliminar florações de cianobactérias provocou a lise celular, resultando na liberação de toxinas e consequente hospitalização de 140 crianças e 10 adultos devido à problemas no fígado e nos rins. Neste caso, a *C. raciborskii* foi identificada como agente etiológico (BYTH, 1980; HAWKINS; GRIFFITHS, 1993).

Devido aos riscos associados à saúde, a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu o valor provisório de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ como limite máximo de MC-LR em águas para abastecimento humano. A justificativa para esse valor ser provisório é pelo fato do mesmo ser específico apenas para a MC-LR, visto que os dados toxicológicos das outras variantes ainda são limitados (WHO, 1998; BORTOLI; PINTO, 2015). O Quadro 4 elenca os valores máximos permitidos (VMPs) de cianotoxinas estabelecidos em diversos países para águas de abastecimento.

Quadro 4 – VMPs de cianotoxinas em águas de abastecimento de diversos países

País	VMP de cianotoxinas
Brasil	1,0 µg.L ⁻¹ CYN; 1,0 µg equivalente de MC-LR.L ⁻¹ e 3 µg equivalente de STX.L ⁻¹
África do Sul	0 – 0,8 µg.L ⁻¹ MC
Austrália	1,3 µg.L ⁻¹ MC-LR ou equivalente
Canadá	1,5 µg.L ⁻¹ MC-LR
China, Coréia, França, Japão, Noruega, Polônia e República Tcheca	1,0 µg.L ⁻¹ MC-LR
Espanha	1,0 µg.L ⁻¹ MCs
Itália	0,84 µg.L ⁻¹ MCs
Nova Zelândia	1 µg.L ⁻¹ CYN, 2 µg.L ⁻¹ homoanatoxina-a, 1 µg.L ⁻¹ MC-LR ou equivalente, 1 µg.L ⁻¹ nodularina e 3 µg.L ⁻¹ STX ou equivalente

Legenda: CYN - cilindrospermopsina; MC - microcistina; MCs - somatório das concentrações de todas as variantes de microcistinas; STX - saxitoxina. Fonte: Adaptado de Bortoli e Pinto (2015) e Brasil (2021).

No entanto, além da possibilidade de intoxicação humana através do abastecimento de água, há o risco de contaminação através da cadeia alimentar. A bioacumulação de cianotoxinas tem sido demonstrada em diversos estudos, onde as toxinas atingem os humanos por meio do consumo de peixe. Alguns, como a tilápia, podem consumir as células de cianobactérias junto com toxinas na água, acumulando-as no fígado, rins, músculos e vísceras. Em escala global, cerca de 2000 casos de intoxicação são relatados anualmente, com 15% de mortalidade devido à ingestão de peixe ou marisco com saxitoxinas (FERRÃO-FILHO, 2009).

No Brasil, a ocorrência da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii*, que é uma espécie produtora de saxitoxina, tem sido frequente em águas de reservatórios de diversos estados, chegando a atingir números de células superiores aos limites aceitáveis para evitar riscos à saúde humana (BRASIL, 2003; LANDSBERG, 2002).

1.4.3 Bioacumulação e irrigação de culturas com águas contendo cianotoxinas

A bioacumulação é um processo pelo qual substâncias químicas ou poluentes presentes no ambiente se acumulam progressivamente nos tecidos de organismos vivos ao longo do tempo. Essas substâncias podem ser de origem natural ou provenientes de atividades humanas, como pesticidas, metais pesados ou compostos orgânicos tóxicos, como as cianotoxinas.

A bioacumulação ocorre ao longo das cadeias alimentares, onde os organismos nos níveis mais baixos acumulam pequenas quantidades das substâncias tóxicas e, ao serem consumidos por outros, transferem essas substâncias em níveis cada vez mais altos. Esse fenômeno pode levar a problemas de saúde e impactos ambientais, pois os organismos no topo da cadeia alimentar podem estar expostos a altas concentrações das substâncias acumuladas, causando efeitos adversos em suas populações e ecossistemas em geral.

Dentro dos ecossistemas aquáticos, diversos estudos tem relatado a bioacumulação de cianotoxinas em vertebrados e invertebrados, que incluem zooplâncton, moluscos, crustáceos e peixes, onde o consumo destes animais representa um potencial risco para a saúde humana (FERRÃO-FILHO, 2009). No entanto, a capacidade das cianotoxinas de percorrerem a cadeia alimentar por meio de culturas agrícolas ainda não foi completamente investigada (CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014; CALADO et al., 2017; DÍEZ-QUIJADA et al., 2019).

Uma prática agrícola comum envolve o uso de água de reservatórios de abastecimento público, rios e lagoas para irrigar lavouras. Contudo, a utilização de águas eutrofizadas, cujas características favorecem o surgimento de florações de cianobactérias, podem expor as plantas terrestres ao contato com cianotoxinas, que eventualmente podem ser absorvidas e acumuladas nos tecidos vegetais (CODD; METCALF; BEATTIE, 1999; CRUSH et al., 2008). Isso faz com que o consumo de culturas e produtos hortícolas irrigados com águas superficiais se torne uma rota potencialmente perigosa de exposição humana à estas toxinas, incluindo as MCs e CYN (HEREMAN; BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2012).

Neste cenário, estudos acerca da bioacumulação de cianotoxinas em culturas agrícolas têm sido realizados em todo o mundo. O Quadro 5 reúne resultados publicados nesta área entre o período de 1999-2023.

Quadro 5 – Presença de cianotoxinas em hortaliças de cultivos reais e experimentais irrigados com águas contendo cianobactérias e cianotoxinas

Espécie vegetal	Concentrações de cianotoxinas detectadas na hortaliça ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Características dos cultivos	Referência
Alface (<i>Lactuca sativa</i>)	Zonas das folhas maduras: Basal: 0,094 MC-LR ps Distal: $0,883 \pm 0,025$ MC-LR ps Central: $2,487 \pm 0,092$ MC-LR ps	Cultivo pulverizado com água de fonte local contendo florações de <i>M. aeruginosa</i>	Codd, Metcalf e Beattie (1999)
Canola (<i>Brassica napus</i> L.)	Brotos: $0,651 \pm 0,079$ MC-LR pu	Testes de germinação de 10 dias: mergulho e irrigação das sementes em solução com $0-3 \mu\text{g MCs}\cdot\text{mL}^{-1}$	Chen et al. (2004)
Arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	Brotos: $0,005 \pm 0,001$ MC-LR pu		
Brócolis (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>)	Raízes: 0,0024 MC-LR pu Demais partes: não detectado	Cultivo experimental controlado com aplicação entre 23-26 μg de MCs por planta	Järvenpää et al. (2007)
Mostarda branca (<i>Sinapis alba</i>)	Raízes: 0,0026 MC-LR pu Demais partes: não detectado		
Alface (<i>Lactuca sativa</i>)	Folhas: 0,79 MCs ps Raízes: 0,68 MCs ps	Cultivo experimental em estufa com aplicação de água na terra e nas folhas, sendo 3 ou 6 aplicações de $170 \mu\text{g}$ de MCs por planta	Crush et al. (2008)
Trevo (<i>Trifolium repens</i>)	Folhas: 0,20 MCs ps Raízes: 1,45 MCs ps		
Azevém (<i>Lolium perene</i>)	Folhas: não detectado Raízes: 0,20 MCs ps		
Canola (<i>Brassica napus</i>)	Folhas: não detectado Raízes: 0,12 MCs ps		

Continua...

Quadro 5 – Presença de cianotoxinas em hortaliças de cultivos reais e experimentais irrigados com águas contendo cianobactérias e cianotoxinas (continuação)

Espécie vegetal	Concentrações de cianotoxinas detectadas na hortaliça ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Características dos cultivos	Referência
Alface (<i>Lactuca sativa</i>) Endro (<i>Anethum graveolens</i>) Couve (<i>Brassica oleracea</i>) Rabanete (<i>Raphanus sativus</i>) Rúcula (<i>Eruca sativa</i>) Salsa (<i>Petroselinum hortense</i>)	Variação entre 0,7-1,2 MCs pu nas folhas e raízes, sendo a maior concentração para <i>Raphanus sativus</i> e a menor para <i>Brassica oleracea</i>	Cultivos irrigados com águas subterrâneas com dominância da cianobactéria <i>Oscillatoria limnetica</i> e $0,3-1,8 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$	Mohamed e Al Shehri (2009)
Maçã (<i>Malus pumila</i>)	Brotos: $0,51 \pm 0,14$ MC-LR pu	Experimentos de 7 e 14 dias com brotos em meio sólido contendo $0-3 \mu\text{g MC-LR}\cdot\text{mL}^{-1}$	Chen et al. (2010)
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	Raízes: 14,8 CYN ps Folhas: 12,2 CYN ps	Experimentos com mudas (de 20 dias) irrigadas entre 2-9 dias com solução contendo $2,5 \mu\text{g CYN}\cdot\text{L}^{-1}$	Prieto et al. (2011)
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	21 das 44 amostras de grãos apresentaram $(0,04-3,19)\times 10^{-3}$ MC-LR	Cultivos irrigados com águas de um lago contendo florações de cianobactérias	Chen et al. (2012)
Couve frisada (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i>)	Folhas: 0,0035 CYN pu	Cultivos experimentais com aplicação de $35,5 \mu\text{g CYN}\cdot\text{L}^{-1}$ durante 30 dias	Kittler et al. (2012)
Mostarda castanha (<i>Brassica juncea</i>)	Folhas: 0,0043 CYN pu		
Alface (<i>Lactuca sativa</i> L.)	Folhas: 0,033-0,143 MC-LR Folhas: 0,006-0,015 MC-RR	Cultivos experimentais com irrigação no solo por 15 dias com água contendo $0-10 \mu\text{g MC-LR}\cdot\text{L}^{-1}$ e $0-3 \mu\text{g MC-RR}\cdot\text{L}^{-1}$	Bittencourt-Oliveira et al. (2016)
Pimentão L. (<i>Capsicum annuum</i>)	Folhas: não detectado Frutos: 0,118 MC-LR ps e 0,077 MC-RR ps	Cultivos experimentais regados 2x por semana durante 14 semanas com solução de $245 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$	Drobac et al. (2017)
Alface (<i>Lactuca sativa</i> L.)	Parte comestível: $\approx 0,06$ MC-LR Não comestível: $\approx 0,1$ MC-LR	Experimento controlado com 12 aplicações de solução contendo entre $0-10 \mu\text{g MC-LR}\cdot\text{L}^{-1}$ por gotejamento e spray	Lee et al. (2017)
Cenoura (<i>Daucus carota</i>)	Parte comestível: $\approx 0,2$ MC-LR Não comestível: $\approx 0,05$ MC-LR		
Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Grãos: $\approx 0,045$ MC-LR Raízes: $\approx 0,025$ MC-LR		
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Raízes: $4,818 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$ Caules: $4,091 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$ Folhas: $3,369 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$	Cultivo experimental de plantas irrigadas com solução contendo entre $0-6 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$ por 24 dias	Al-Sultan e Hatem (2019)
Repolho (<i>Brassica oleracea</i>)	Entre 0,62-2,11 MCs	Hortaliças compradas em quatro mercados da cidade de Zaria, Estado de Kaduna, Noroeste da Nigéria	Chia et al. (2019)
Alface (<i>Lactuca sativa</i>)	Entre 0,17-4,41 MCs		
Rabanete (<i>Raphanus sativus</i> L. var. Large Red)	Raízes: $678,8 \pm 33,4$ MCs Folhas: $342,2 \pm 45,1$ MCs	Cultivos irrigados com água de reservatório na Grécia contendo $3,76 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$	Levizou et al. (2020)
Cenoura (<i>Daucus carota</i> subsp. <i>sativus</i> var. Nantes 2)	Raízes: $634,6 \pm 54,9$ MCs Folhas: $2848,9 \pm 635,7$ MCs		

Continua...

Quadro 5 – Presença de cianotoxinas em hortaliças de cultivos reais e experimentais irrigados com águas contendo cianobactérias e cianotoxinas (continuação)

Espécie vegetal	Concentrações de cianotoxinas detectadas na hortaliça ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Características dos cultivos	Referência
Pimentão (<i>Capsicum annuum</i>)	Folhas: $\approx 2,0$ MCs Frutos: $\approx 1,4$ MCs	Cultivos irrigados por gotejamento com águas do reservatório Epitácio Pessoa	Nery, Nery e Medeiros (2020)
Coentro (<i>Coriandrum sativum</i>)	Folhas: $\approx 3,0$ MCs Caules: $\approx 2,8$ MCs		
Espinafre (<i>Amaranthus hybridus</i>)	Montante: $0,306 \times 10^{-3}$ MCs Jusante: $0,217 \times 10^{-3}$ MCs	Cultivos irrigados com águas de um córrego na Nigéria contendo concentrações $< 0,05 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$	Abdullahi et al. (2022)
Repolho (<i>Brassica oleracea</i>)	Montante: $0,014 \times 10^{-3}$ MCs Jusante: $0,031 \times 10^{-3}$ MCs		
Alface (<i>Lactuca sativa</i>)	Montante: $0,085 \times 10^{-3}$ MCs Jusante: $0,462 \times 10^{-3}$ MCs		
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Montante: $0,233 \times 10^{-3}$ MCs		
Cenoura (<i>Daucus carota</i>)	Jusante: $0,050 \times 10^{-3}$ MCs e $0,116 \times 10^{-3}$ MCs	Cultivos irrigados com águas contendo $45-600 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$, de um lago do sul do Egito	Bakr et al. (2022)
Alface (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>longifolia</i>)	1,044 MCs		
Rúcula (<i>Eruca sativa</i>)	1,089 MCs	Hortaliças cultivadas com águas contendo entre $38,56-44,12 \mu\text{g MCs}\cdot\text{L}^{-1}$, de um reservatório do semiárido do Marrocos	Redouane et al. (2023)
Romã	$26,49 \pm 8,31 \mu\text{g MCs}\cdot\text{kg}^{-1}$ pu		
Damasco	$1,24 \pm 0,24 \mu\text{g MCs}\cdot\text{kg}^{-1}$ pu		
Ameixa	$2,04 \pm 0,45 \mu\text{g MCs}\cdot\text{kg}^{-1}$ pu		
Uva	$0,44 \pm 0,03 \mu\text{g MCs}\cdot\text{kg}^{-1}$ pu		
Azeitona	$5,32 \pm 0,18 \mu\text{g MCs}\cdot\text{kg}^{-1}$ pu		

Legenda: CYN - cilindrospermopsina; MC - microcistina; MCs - somatório das concentrações de todas as variantes de microcistinas; ps - peso seco; pu - peso úmido. Fonte: elaborado pelo autor com informações das referências mencionadas na última coluna deste quadro.

Os estudos apresentados no Quadro 5 corroboram o potencial de bioacumulação de cianotoxinas em culturas irrigadas com águas contendo florações de cianobactérias. Os dados demonstram que, quando a irrigação é realizada diretamente no solo, existe a possibilidade das cianotoxinas serem absorvidas pelas raízes e transportadas para as demais partes da planta. No entanto, os valores acumulados nas raízes são, na maioria das vezes, superiores que nas folhas (CRUSH et al., 2008; KITTLER et al., 2012; MOHAMED; AL SHEHRI, 2009).

Um destes estudos, Kittler et al. (2012), observou que na couve e na mostarda-castanha faixas de 10-15% e 12-21%, respectivamente, de CYN aplicada no solo, foram transportadas das raízes até as folhas. O fato de a maior parte das cianotoxinas ficar retida nas raízes é apontado como vantagem por Gutiérrez-Praena et al. (2013), visto que uma grande parte das culturas estudadas são hortaliças em que as raízes não são consumidas pelo homem.

Não obstante, além da possibilidade de acúmulo interno, a irrigação pode promover a bioacumulação de cianotoxinas nas superfícies externas de vegetais comestíveis quando a água contaminada seca sobre as folhas ou fica presa no centro das plantas (CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014).

Codd, Metcalf e Beattie (1999) verificaram que MCs foram retidas em alfaces irrigadas por aspersão de água contendo cianobactérias e, mesmo após lavagem, tanto as células como as cianotoxinas não foram completamente removidas, o que impediu a comercialização do lote contaminado. Neste segmento, pode-se afirmar que o modo como a irrigação é efetuada é um dos principais fatores que devem ser avaliados no tocante à bioacumulação, visto que influencia diretamente na localização onde as cianotoxinas serão retidas na planta e, conseqüentemente, nos riscos associados à saúde humana.

Todavia, com relação às concentrações totais de cianotoxinas acumuladas nas plantas, o método de irrigação pode não exercer tanta influência. É o que demonstra a pesquisa de Lee et al. (2017), onde culturas de alface, cenoura e feijão verde foram irrigadas com águas contendo MC-LR por meio de dois métodos de irrigação: gotejamento e aspersão. Segundo os autores, não houve diferenças estatisticamente significantes relacionadas aos métodos de irrigação para a alface e a cenoura. Para o feijão verde houve diferença, mas somente no tocante à raiz.

Além da bioacumulação de cianotoxinas em culturas agrícolas poder variar de acordo com as diferentes partes da planta (raízes, caules, folhas e frutos) e com os métodos de irrigação, as características individuais de cada espécie também são um fator relevante. Crush et al. (2008) verificaram que, dentre as quatro culturas abordadas em seu estudo, as espécies com as maiores folhas eram mais vulneráveis à retenção de água contaminada.

Outro fator capaz de influenciar na concentração de cianotoxinas acumulada é a idade da planta. Nery, Nery e Medeiros (2020) identificaram concentrações maiores de MCs em coentros com 60 dias de idade, quando comparados aos com 30 dias, indicando que quanto maior o tempo de exposição da planta à toxina, maior será o teor acumulado. Porém, no mesmo estudo, os autores verificaram que para o pimentão não houve diferença significativa entre as plantas de idades distintas, o que mais uma vez ressalta a influência das características de cada espécie vegetal no acúmulo de cianotoxinas.

O modo como a bioacumulação ocorre pode variar até mesmo de acordo com a forma sob a qual a cianotoxina está disponível na água. Kittler et al. (2012) apontaram que o extrato bruto da cianobactéria *A. flos aquae* 22D11 favoreceu o acúmulo de CYN na couve e na mostarda-castanha, quando comparado à cianotoxina purificada, o que, segundo os autores, possivelmente ocorreu devido à presença de compostos no extrato bruto que aumentam a adesão da toxina às raízes.

Outro fator já determinado na literatura é a correlação positiva entre as concentrações de cianotoxinas na água e nas plantas (MOHAMED; AL SHEHRI, 2009). Contudo, o fator de

bioacumulação (percentual de cianotoxinas transferido da água para a planta) tem apresentado comportamento inverso (KITTLER et al., 2012; LEE et al., 2017).

O acúmulo e a persistência de cianotoxinas nos solos agrícolas também merece atenção. O estudo de Lee et al. (2017) relata que MCs permanecem no solo após a colheita, o que pode impactar negativamente os organismos presentes no mesmo e o crescimento de novas culturas, visto que a maioria das MCs são solúveis em água e altamente estáveis. Além disso, a presença de MCs no solo contribui para uma potencial contaminação de águas subterrâneas.

Devido ao potencial de bioacumulação de cianotoxinas em culturas agrícolas, a OMS recomenda que a ingestão diária total (IDT) de MC-LR para humanos não deve exceder $0,04 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corpóreo (WHO, 2001). Contudo, valores superiores a esse limite podem ser encontrados em plantas expostas às MCs em níveis ambientalmente relevantes (CHIA et al., 2019; GUTIÉRREZ-PRAENA et al., 2013; LEVIZOU et al., 2020; MOHAMED; AL SHEHRI, 2009).

Corroborando tal afirmação, Bittencourt-Oliveira et al. (2016) relataram o acúmulo de MCs em alface irrigada com solução contendo MC-LR e MC-RR e calcularam que a ingestão de 4 folhas (cerca de 40 g) desta alface contaminada era suficiente para exceder a IDT recomendada pela OMS. Lee et al. (2017) também demonstraram que a bioacumulação de MC-LR nas partes comestíveis de alface, cenoura e feijão-verde excederiam o IDT.

Apesar de estudos demonstrarem a bioacumulação de cianotoxinas em culturas irrigadas com águas contendo florações de cianobactérias, Corbel, Mougin e Bouaïcha (2014) salientam que muitos deles são realizados em hidroponia, onde as raízes das plantas ficam em contato direto com a solução de toxinas e, por isso, podem superestimar o acúmulo. Além disso, estudos em escala real, que abordem ecossistemas eutrofizados, ainda são escassos.

Neste cenário, destaca-se a importância de mais pesquisas que possibilitem uma melhor compreensão acerca da bioacumulação e persistência de cianotoxinas em culturas agrícolas, a consolidação de teorias e resultados já publicados, a avaliação dos reais riscos à saúde pública e a implementação de rotinas de monitoramento de águas de irrigação e dos produtos irrigados, em termos de cianotoxinas e outros contaminantes emergentes.

1.5 Conclusão

A partir da revisão bibliográfica realizada, pôde-se verificar que a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas é um problema multifacetado que envolve questões de saúde pública, segurança alimentar e conservação ambiental.

A importância da realização de pesquisas contínuas acerca desta problemática ficou evidente, especialmente em ambientes agrícolas reais e ecossistemas eutrofizados, a fim de promover uma melhor compreensão dos processos de bioacumulação e desenvolver estratégias eficazes de mitigação.

Foi enfatizada a crescente incidência de florações de cianobactérias em corpos d'água, muitas vezes exacerbada devido a atividades humanas, que resultam na eutrofização das águas e oferecem condições favoráveis à multiplicação desses microrganismos. Isso pode acarretar na presença de significativas concentrações de cianotoxinas nos mananciais, o que representa uma séria ameaça à qualidade da água e à saúde pública.

Foram abordados os diferentes grupos de cianotoxinas (hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas) bem como seus efeitos adversos à saúde humana. Verificou-se que os sintomas de intoxicação por cianotoxinas podem variar desde problemas gastrointestinais até paralisia muscular grave e morte e que a exposição a essas toxinas também está associada a riscos a longo prazo, como o desenvolvimento de tumores.

Foram identificadas várias variáveis que podem afetar a bioacumulação em hortaliças, como o método de irrigação, a espécie e a idade da planta e a forma como as cianotoxinas estão presentes na água. A influência desses fatores pode estar relacionada com a intensidade da bioacumulação e, conseqüentemente, com os riscos associados à saúde humana.

Em conclusão, a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças é um problema complexo e que requer uma abordagem interdisciplinar para proteger a saúde pública, garantir a segurança alimentar e conservar o meio ambiente. O conhecimento gerado por meio de pesquisas nesta área é fundamental para orientar políticas e práticas agrícolas mais seguras, e para preservar a qualidade da água e a saúde das comunidades em todo o mundo.

Este estudo sublinha a importância contínua da vigilância e da gestão adequada dos ecossistemas aquáticos e terrestres, a fim de enfrentar os desafios apresentados pela presença de cianobactérias e suas toxinas nos ambientes naturais e sistemas alimentares.

1.6 Referências

ABDULLAHI, H.; TANIMU, Y.; AKINYEMI, S. A.; DO CARMO BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.; CHIA, M. A. Assessment of microcystins in surface water and irrigated vegetables in Kwaru stream, Hayin Danmani, Kaduna-Nigeria. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 52, p. 78303-78313, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21381-w>

AL-SULTAN, A.; HATEM, M. T. Toxic Effects of Purified Microcystins from Soil Blue-Green Alga *Oscillatoria pseudogeminata* on Tomato Plant *Lycopersicon esculentum*. **Baghdad Science Journal**, v. 16, n. 1, 2019.

ANA. Agência Nacional de Águas (Brasil). **Reservatórios do Semiárido Brasileiro: Hidrologia, Balanço Hídrico e Operação: Anexo A**. Brasília: ANA, 2017. 103 p.

ARAUJO JÚNIOR, R. J. **Evolução temporal dos níveis tróficos do açude Epitácio Pessoa, semi-árido paraibano**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2009.

BAKR, A.; ALZAIN, M. N.; ALZAMEL, N. M.; LOUTFY, N. Accumulation of microcystin from *Oscillatoria limnetica* Lemmermann and *Microcystis aeruginosa* (Kützing) in two leafy green vegetable crop plants *Lactuca sativa* L. and *Eruca sativa*. **Plants**, v. 11, n. 13, p. 1733, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11131733>

BANKER, R.; CARMELI, S.; HADAS, O.; TELTSCH, B.; PORAT, R.; SUKENIK, A. Identification of Cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) Isolated from Lake Kinneret, Israel 1. **Journal of Phycology**, v. 33, n. 4, p. 613-616, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00613.x>

BARRETO, L. V.; FRAGA, M. S.; BARROS, F. M.; ROCHA, F. A.; AMORIM, J. S.; CARVALHO, S. R.; BONOMO, P.; SILVA, D. P. Estado trófico em uma seção do rio Catolé Grande sob diferentes níveis de vazão. **Revista Ambiente & Água**, v. 9, p. 250-260, 2014. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1231>

BAVITHRA, G; AZEVEDO, J; OLIVEIRA, F; MORAIS, J; PINTO, E; FERREIRA, I. M. P. L. V. O; VASCONCELOS, V; CAMPOS, A; ALMEIDA, C. M. R. Assessment of constructed wetlands' potential for the removal of cyanobacteria and microcystins (MC-LR). **Water**, v. 12, n. 10, 2020. DOI: 10.3390/w12010010

BIHN, E. A.; SMART, C. D.; HOEPTING, C. A.; WOROBO, R. W. Use of surface water in the production of fresh fruits and vegetables: a survey of fresh produce growers and their water management practices. **Food Protection Trends**, v. 33, p. 307-314, 2013. DOI: 10.3390/toxins11110624

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; CHIA, M. A.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; DE OLIVEIRA, Ê. T.; DOS SANTOS, F. Lettuce irrigated with contaminated water: Photosynthetic effects, antioxidative response and bioaccumulation of microcystin congeners. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 83-90, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.02.014>

BORTOLI, S.; PINTO, E. Cianotoxinas: características gerais, histórico, legislação e métodos de análises. **Ecologia de reservatórios e interfaces**, p. 321-339, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2003.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2021.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Sistema Nacional de Saneamento. **Diagnóstico Temático dos Serviços de Água e Esgotos – ano de referência 2020**. Brasília: Secretaria Nacional de Saneamento, 2022.

BYTH, S. Palm Island mystery disease. **Medical journal of Australia**, v. 2, n. 1, p. 40-42, 1980.

CALADO, S. L. M.; WOJCIECHOWSKI, J.; SANTOS, G. S.; DE MAGALHAES, V. F.; PADIAL, A. A.; CESTARI, M. M.; DE ASSIS, H. C. D. S. Neurotoxins in a water supply reservoir: An alert to environmental and human health. **Toxicon**, v. 126, p. 12-22, 2017. DOI: 10.1016/j.toxicon.2016.12.002

CARDOSO, A. S. **Modelagem quali-quantitativa da água no eixo leste do Projeto de Integração do rio São Francisco: o caso do Alto Curso do rio Paraíba**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

CARLOS, A. C. **Dinâmica da população de cianobactérias em um reservatório eutrófico do semiárido brasileiro no período da seca**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

CARLSON, R. E. A trophic state index for lakes 1. **Limnology and oceanography**, v. 22, n. 2, p. 361-369, 1977.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites: the cyanotoxins. **Journal of applied bacteriology**, v. 72, n. 6, p. 445-459, 1992. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1992.tb01858.x

CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. **Scientific American**, v. 270, n. 1, p. 78-86, 1994.

CHEN, J.; SONG, L.; DAI, J.; GAN, N.; LIU, Z. Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape (*Brassica napus* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). **Toxicon**, v. 43, n. 4, p. 393-400, 2004. DOI: 10.1016/j.toxicon.2004.01.011

CHEN, J.; DAI, J.; ZHANG, H.; WANG, C.; ZHOU, G.; HAN, Z.; LIU, Z. Bioaccumulation of microcystin and its oxidative stress in the apple (*Malus pumila*). **Ecotoxicology**, v. 19, n. 4, p. 796-803, 2010. DOI: 10.1007/s10646-009-0456-5

CHEN, J.; HAN, F. X.; WANG, F.; ZHANG, H.; SHI, Z. Accumulation and phytotoxicity of microcystin-LR in rice (*Oryza sativa*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 76, p. 193-199, 2012. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2011.09.022

CHIA, M. A.; AUTA, Z. Z.; ESSION, A. E.; YISA, A. G.; ABOLUDE, D. S. Assessment of microcystin contamination of *Amaranthus hybridus*, *Brassica oleracea*, and *Lactuca sativa* sold in markets: a case study of Zaria, Nigeria. **Environmental monitoring and assessment**, v. 191, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7725-4>

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E&FN Spon, 1999.

CHORUS, I. **Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences**. Berlim: Springer, 2001.

CODD, G. A. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. **Ecological engineering**, v. 16, n. 1, p. 51-60, 2000. DOI: 10.1016/S0925-8574(00)00089-6

CODD, G. A.; METCALF, J. S.; BEATTIE, K. A. Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. **Toxicon**, v. 37, n. 8, p. 1181-1185, 1999. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00244-X

CORBEL, S.; MOUGIN, C.; BOUAÏCHA, N. Cyanobacterial toxins: modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. **Chemosphere**, v. 96, p. 1-15, 2014. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.07.056

CORDEIRO-ARAÚJO, M; CHIA, M. A; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. do C. Potential human health risk assesment of cylindrospermopsin accumulation and depuration in lettuce an arugula. **Harmful Algae**, v. 68, p. 217 – 223, 2017. DOI: 10.1016/j.hal.2017.08.010

CRUSH, J. R.; BRIGGS, L. R.; SPROSEN, J. M.; NICHOLS, S. N. Effect of irrigation with lake water containing microcystins on microcystin content and growth of ryegrass, clover, rape, and lettuce. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 23, n. 2, p. 246-252, 2008.

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. D. B. **Florações de algas e de cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento**. São Carlos: LDiBE, 2010.

DÍEZ-QUIJADA, L.; PUERTO, M.; GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; LLANA-RUIZ-CABELLO, M.; JOS, A.; CAMEÁN, A. M. Microcystin-RR: Occurrence, content in water and food and toxicological studies. A review. **Environmental research**, v. 168, p. 467-489, 2019. DOI: 10.1016/j.envres.2018.07.019

DJEDIAT, C.; MALÉCOT, M; LUZE, A. de; Localization of microcystin-LR in medaka fish tissues after cyanotoxin gavage. **Toxicon**, v. 55, p. 531–535, 2010. DOI: 10.1016/j.toxicon.2009.10.005

FERRÃO-FILHO, A. S. Bioacumulação de cianotoxinas e seus efeitos em organismos aquáticos. **Oecol. Bras.**, v. 13, n. 2, p. 272-312, 2009.

FRANCO, M. T. O.; JARDIM, V. H. P.; PAMPLONA, A. K. A.; SOBREIRA, H. A.; OLIVEIRA, M. N. V.; DELVAUX, J. C. Ocorrência de cianobactérias em manancial de água no município de Ituiutaba-MG. **Global Science and Technology**, v. 12, n. 1, 2019.

GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; JOS, Á.; PICHARDO, S.; MORENO, I. M.; CAMEÁN, A. M. Presence and bioaccumulation of microcystins and cylindrospermopsin in food and the effectiveness of some cooking techniques at decreasing their concentrations: A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 139-152, 2013. DOI: 10.1016/j.fct.2012.10.062

HAWKINS, P. R.; GRIFFITHS, D. J. Artificial destratification of a small tropical reservoir: effects upon the phytoplankton. **Hydrobiologia**, v. 254, n. 3, p. 169-181, 1993.

HEREMAN, T. C.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Bioaccumulation of microcystins in lettuce. **Journal of phycology**, v. 48, n. 6, p. 1535-1537, 2012. DOI: 10.1111/jpy.12006

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Semiárido Brasileiro: o que é**. 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/cartas-e-mapas/mapas-regionais/15974-semiarido-brasileiro.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 24 jul. 2023.

JÄRVENPÄÄ, S.; LUNDBERG-NIINISTÖ, C.; SPOOF, L.; SJÖVALL, O.; TYYSTJÄRVI, E.; MERILUOTO, J. Effects of microcystins on broccoli and mustard, and analysis of accumulated toxin by liquid chromatography–mass spectrometry. **Toxicon**, v. 49, n. 6, p. 865-874, 2007. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.12.008

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E. M.; ANTUNES, M. B. D.; DE MELO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S. T.; AZEVEDO, S.; JARVIS, W. R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New England Journal of Medicine**, v. 338, n. 13, p. 873-878, 1998.

KITTLER, K.; SCHREINER, M.; KRUMBEIN, A.; MANZEI, S.; KOCH, M.; ROHN, S.; MAUL, R. Uptake of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in Brassica vegetables. **Food chemistry**, v. 133, n. 3, p. 875-879, 2012. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.01.107

KOTAK, B. G.; LAM, A. K. Y.; PREPAS, E. E.; KENEFICK, S. L.; HRUDEY, S. E. Variability of the hepatotoxin microcystin-lr in hypereutrophic drinking water lakes. **Journal of phycology**, v. 31, n. 2, p. 248-263, 1995. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1995.00248.x

LANDSBERG, J. H. The effect of harmful algal blooms on aquatic organisms. **Rev. Fish. Sci.**, v. 10, p. 174-204, 2002.

LAPOLLI, F. R.; CORAL, L. A.; RECIO, M. Á. L. Cianobactérias em mananciais de abastecimento–problemática e métodos de remoção. **Revista Dae**, v. 185, p. 1-17, 2011. DOI: 10.4322/dae.2014.066

LEAL, A. C.; SOARES, M. C. P. Hepatotoxicidade da cianotoxina microcistina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. Suplemento 11, 2004. DOI: 10.1590/S0037-86822004000700013

LEE, S.; JIANG, X.; MANUBOLU, M.; RIEDL, K.; LUDSIN, S. A.; MARTIN, J. F.; LEE, J. Fresh produce and their soils accumulate cyanotoxins from irrigation water: implications for public health and food security. **Food Research International**, v. 102, p. 234-245, 2017. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.09.079

LEVIZOU, E.; PAPADIMITRIOU, T.; PAPAVALASILEIOU, E.; PAPADIMITRIOU, N.; KORMAS, K. A. Root vegetables bioaccumulate microcystins-LR in a developmental stage-dependent manner under realistic exposure scenario: The case of carrot and radish. **Agricultural Water Management**, v. 240, p. 106274, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106274>

LIMA, F. J. D. O.; LOPES, F. B.; ANDRADE, E.; ROCHA, F. C. D.; MEIRELES, A. C. Spatio-temporal dynamics of toxic cyanobacteria in an artificial lake in the Brazilian semi-arid region. **Revista Caatinga**, v. 35, p. 423-435, 2022.

MEDEIROS, C.; AZEVÊDO, E.; BARBOSA, E.; MOLOZZI, J. Effectiveness of abundance and biomass curves in detecting environmental alterations in semi-arid region reservoirs. **Biota Neotropica**, v.18, n. 2, 2018. DOI: 10.1590/1676-0611-BN-2017-0423

MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; NERY, J. F.; FERREIRA, L. M.; BARBOSA, J. E. L. O sucesso das cianobactérias nos reservatórios do semiárido: uma revisão de literatura. In: Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 20. **Anais**. Florianópolis: 2017.

MOHAMED, Z. A.; AL SHEHRI, A. M. Microcystins in groundwater wells and their accumulation in vegetable plants irrigated with contaminated waters in Saudi Arabia. **Journal of hazardous materials**, v. 172, n. 1, p. 310-315, 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.07.010

MOLICA, R.; AZEVEDO, S. M. F. O. Ecofisiologia de cianobactérias produtoras de cianotoxinas. **Oecol. Bras**, v. 13, n. 2, p. 229-246, 2009.

MUTOTI, M.; GUMBO, J.; JIDEANI, A. I. O. Occurrence of cyanobacteria in water used for food production: A review. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 125, p. 103101, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2021.103101>

NERY, J. F.; NERY, G. K. M.; MEDEIROS, S. S.; FERREIRA, W. B. **Cianobactérias no semiárido: guia ilustrado**. Campina Grande: INSA, 2019.

NERY, J. F.; NERY, G. K. M.; MEDEIROS, S. S. Microcystin bioaccumulation in cultures irrigated with eutrophized waters in Brazilian Semiarid. **wjpls**, v. 6, n. 2, p. 5-9, 2020.

NORRIS, R. L.; EAGLESHAM, G. K.; PIERENS, G.; SHAW, G. R.; SMITH, M. J.; CHISWELL, R. K.; SEAWRIGHT, A. A.; MOORE, M. R. Deoxycylindrospermopsin, an analog of cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 14, n. 1, p. 163-165, 1999. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-7278\(199902\)14:1%3C163::AID-TOX21%3E3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:1%3C163::AID-TOX21%3E3.0.CO;2-V)

PARAÍBA. GOVERNO DO ESTADO. **Nota técnica AESA/GEMOH: 001/2019**. Dispõe sobre as atualizações das curvas Cota x Área x Volume (CAV) com respectiva alteração dos volumes finais de reservatórios do Estado. Secretaria da Infraestrutura, dos Recursos Hídricos

e do Meio ambiente, Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba – AESA. 3 p.3, 2019.

POURIA, S.; DE ANDRADE, A.; BARBOSA, J.; CAVALCANTI, R. L.; BARRETO, V. T. S.; WARD, C. J.; PREISER, W.; POON, G. K.; NEILD, G. H.; CODD, G. A. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. **Lancet**, v. 352, n. 9121, p. 21-26, 1998.

PRIETO, A.; CAMPOS, A.; CAMEÁN, A.; VASCONCELOS, V. Effects on growth and oxidative stress status of rice plants (*Oryza sativa*) exposed to two extracts of toxin-producing cyanobacteria (*Aphanizomenon ovalisporum* and *Microcystis aeruginosa*). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 74, n. 7, p. 1973-1980, 2011. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2011.06.009

REDOUANE, E. M.; TAZART, Z.; LAHROUNI, M.; MUGANI, R.; ELGADI, S.; ZINE, H.; ZERRIFI, S. E. A.; HAIDA, M.; MARTINS, J. C.; CAMPOS, A.; OUFDOU, K.; VASCONCENLOS, V. OUDRA, B. Health risk assessment of lake water contaminated with microcystins for fruit crop irrigation and farm animal drinking. *Environmental Science and Pollution Research International*, v. 30, n. 33, p. 80234, 2023. <https://doi.org/10.1007%2Fs11356-023-27914-1>

RINEHART, K. L.; NAMIKOSHI, M.; CHOI, B. W. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). **Journal of applied phycology**, v. 6, p. 159-176, 1994.

SANCHES, S. M; PRADO, E. L; FERREIRA, I. M; BRAGA, H. F; VIEIRA, E. M. Presença da toxina microcistina em água, impactos na saúde pública e medidas de controle. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 33, n. 2, p. 181-187, 2012.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; WERNER, V. R.; DOGO, C. R.; RIOS, F. R.; CARVALHO, L. R. Review of toxic species of cyanobacteria in Brazil. **Algological Studies**, v. 126, p. 251-265, 2008. DOI: 10.1127/1864-1318/2008/0126-0251

SILVA, D. L. **Restauração de águas eutrofizadas do semiárido brasileiro através da técnica Flock & Lock**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.

SILVA, R. D. S.; SEVERIANO, J. S.; OLIVEIRA, D. A.; MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; CHIA, M. A.; BARBOSA, J. E. L. Spatio-temporal variation of cyanobacteria and cyanotoxins in public supply reservoirs of the semi-arid region of Brazil. **Journal of Limnology**, v. 79, n. 1, p. 13-29, 2020.

SIQUEIRA, D. B.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Cianobactérias de água doce e saúde pública: uma revisão. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 3, n. 1, p. 109-127, 2008.

SIVONEN, K.; NIEMELÄ, S. I.; NIEMI, R. M.; LEPISTÖ, L.; LUOMA, T. H.; RÄSÄNEN, L. A. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters. **Hydrobiologia**, v. 190, n. 3, p. 267-275, 1990.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial Toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E&FN Spon; 1999.

STEWART, I.; SCHLUTER, P. J.; SHAW, G. R. Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health—a review. **Environmental Health**, v. 5, n. 1, p. 7, 2006.

TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S. P.; HAGE, E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. **Bulletin of Pan American Health Organization**, v. 27, n. 3, p. 9; 1993.

TURNER, P. C.; GAMMIE, A. J.; HOLLINRAKE, K.; CODD, G. A. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. **BMJ: British Medical Journal**, v. 300, n. 6737, p. 1440, 1990.

VASCONCELOS, J. F.; BARBOSA, J. E. L.; DINIZ, C. R.; CEBALLOS, B. S. O. Cianobactérias em reservatórios do Estado da Paraíba: ocorrência, toxicidade e fatores reguladores. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 39, n. 2, p. 1-20, 2011.

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HRUDEY, S. E. **Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide**. American Water Works Association, 1995.

WHO. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in Drinking-water. **Guidelines for drinking-water quality**. 4 ed. Geneva: World Health Organization, 2001.

ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. **Toxins**, v. 5, n. 10, p. 1896-1917, 2013. DOI: 10.3390/toxins5101896

CAPÍTULO II - Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas do reservatório Epitácio Pessoa

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas do reservatório Epitácio Pessoa, localizado no semiárido brasileiro. O estudo foi realizado em três propriedades situadas nas proximidades do mesmo, que apresentavam cultivos com diferentes espécies de hortaliças e métodos de irrigação. As águas de irrigação foram avaliadas em termos de parâmetros físico-químicos e cianotoxinas: microcistinas (MCs), cilindrospermopsina (CYN) e saxitoxina (STX). As análises de cianotoxinas também foram realizadas nas hortaliças, a partir dos extratos das folhas de alface, coentro, couve, espinafre, pimentão, rúcula e salsa e dos frutos do pimentão, para avaliação da bioacumulação. Conforme caracterização das águas de irrigação, constatou-se que no ponto de captação o reservatório Epitácio Pessoa estava eutrofizado. MCs, CYN e STX foram detectadas nas águas das três propriedades estudadas, contudo, em valores abaixo dos limites estabelecidos pela portaria de potabilidade brasileira. Dentre estas, as MCs apresentaram maior potencial de bioacumulação nos tecidos vegetais. Com relação às diferentes espécies de hortaliças estudadas, verificou-se que coentro e salsa demonstraram ser mais propensas ao acúmulo e que o método de irrigação pode influenciar nas concentrações finais de cianotoxinas em determinadas regiões da planta. No tocante à idade da planta, a bioacumulação não foi alterada de maneira significativa. Por fim, constatou-se que os consumos diários estimados (CDEs) de cianotoxinas a partir das hortaliças avaliadas foram menores que as ingestões diárias totais (IDTs) recomendadas. Apesar disso, ficou evidente que a bioacumulação de cianotoxinas em plantas agrícolas irrigadas com águas eutrofizadas constitui uma nova rota de contaminação humana e pode ser considerada um problema iminente devido à crescente exploração dos recursos hídricos e degradação da qualidade das águas dos mananciais.

Palavras-chave: Cilindrospermopsina. Eutrofização. Microcistinas. Saxitoxinas. Toxinas de cianobactérias.

Bioaccumulation of cyanotoxins in vegetables irrigated with water from the Epitácio Pessoa reservoir

Abstract

The objective of this work was to evaluate the bioaccumulation of cyanotoxins in vegetables irrigated with water from the Epitácio Pessoa reservoir, located in the Brazilian semi-arid region. The study was carried out on three properties located close to it, which had crops with different species of vegetables and irrigation methods. Irrigation waters were evaluated in terms of physicochemical parameters and cyanotoxins: microcystins (MCs), cylindrospermopsin (CYN) and saxitoxin (STX). Analyzes of cyanotoxins were also carried out on vegetables, using extracts from lettuce leaves, coriander, cabbage, spinach, peppers, arugula and parsley, and from pepper fruits, to assess bioaccumulation. According to the characterization of the irrigation water, it was found that the Epitácio Pessoa reservoir was eutrophic at the catchment point. MCs, CYN and STX were detected in the waters of the three properties studied, however, at values below the limits established by the Brazilian potability ordinance. Among these, MCs

showed a greater potential for bioaccumulation in plant tissues. Regarding the different vegetable species studied, it was found that coriander and parsley showed greater sensitivity to accumulation and that the irrigation method can influence the final concentrations of cyanotoxins in certain regions of the plant. Regarding the stage of plant growth, bioaccumulation was not significantly altered. Finally, it was found that the estimated daily intakes (EDCs) of cyanotoxins from the evaluated vegetables were lower than the recommended total daily intakes (TDIs). Despite this, it was evident that the bioaccumulation of cyanotoxins in agricultural plants irrigated with eutrophic water constitutes a new route of human contamination and can be considered an imminent problem due to the increasing exploitation of water resources and degradation of the water quality of springs.

Keywords: Cyanobacterial toxins. Cylindrospermopsin. Eutrophication. Microcystins. Saxitoxin.

2.1 Introdução

Os reservatórios representam corpos d'água de extrema relevância, construídos ou adaptados pela ação humana, com o propósito de atender diversas necessidades fundamentais, tais como fornecimento de água potável, irrigação, produção de energia e recreação. No contexto específico do semiárido brasileiro, caracterizado por sua escassez hídrica e rios intermitentes que frequentemente secam durante a maior parte do ano, a presença desses reservatórios desempenha um papel vital na mitigação dos impactos da seca e na promoção de atividades agrícolas.

No entanto, a pressão antrópica exercida por atividades como industrialização, lançamento indiscriminado de poluentes, desmatamento e agricultura, tem causado a degradação da qualidade da água dos reservatórios. Uma das consequências é o aumento das concentrações de nutrientes (nitrogênio e fósforo) na água, que caracteriza o fenômeno da eutrofização (CALADO et al., 2017).

A eutrofização, aliada às condições ideais de luminosidade, temperatura e pH, favorece o crescimento exacerbado de cianobactérias, grupo de procariontes fotossintéticos unicelulares ou multicelulares com distribuição ubíqua, o que resulta em florações (também chamadas de “*blooms*”). Estas geralmente permanecem na água por um período entre dois e quatro meses, contudo, em regiões quentes e subtropicais, podem persistir por muito mais tempo (CHORUS; BARTRAM, 1999; SIVONEN; JONES, 1999).

Algumas espécies de cianobactérias podem produzir cianotoxinas, metabólitos tóxicos para humanos e outros mamíferos, aves, peixes, crustáceos, moluscos e zooplâncton, capazes de ocasionar danos ao fígado, citotoxicidade, neurotoxicidade, distúrbios gastrointestinais, toxicidade cutânea e até mesmo a morte. Estima-se que cerca de 50 a 70% das florações de

cianobactérias apresentem espécies tóxicas (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; SIVONEN et al., 1990; SIVONEN; JONES, 1999; YOO et al., 1995).

A exposição humana às cianotoxinas pode ocorrer por diferentes formas, incluindo a ingestão de água contaminada e o contato em atividades recreativas (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Outra via bastante estudada é o consumo de animais aquáticos como peixes, moluscos e crustáceos, que podem absorver e acumular cianotoxinas em seus corpos e transportar para níveis superiores da cadeia trófica (ABDALLAH et al., 2021; FERRÃO-FILHO, 2009; ZAMORA-BARRIOS; NANDINI; SARMA, 2019).

Os vegetais também podem apresentar a capacidade de bioacumulação de cianotoxinas (BIHN et al., 2013; CORDEIRO-ARAÚJO; CHIA; BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2017). A irrigação de culturas agrícolas comumente é realizada com águas de reservatórios superficiais que, em muitos casos, encontram-se eutrofizados, em condições que promovem o surgimento de florações de cianobactérias. O consumo de plantas irrigadas com estas águas categoriza uma possível rota de intoxicação humana com cianotoxinas, o que pode desencadear uma série de prejuízos para a saúde (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016; LEE et al., 2017).

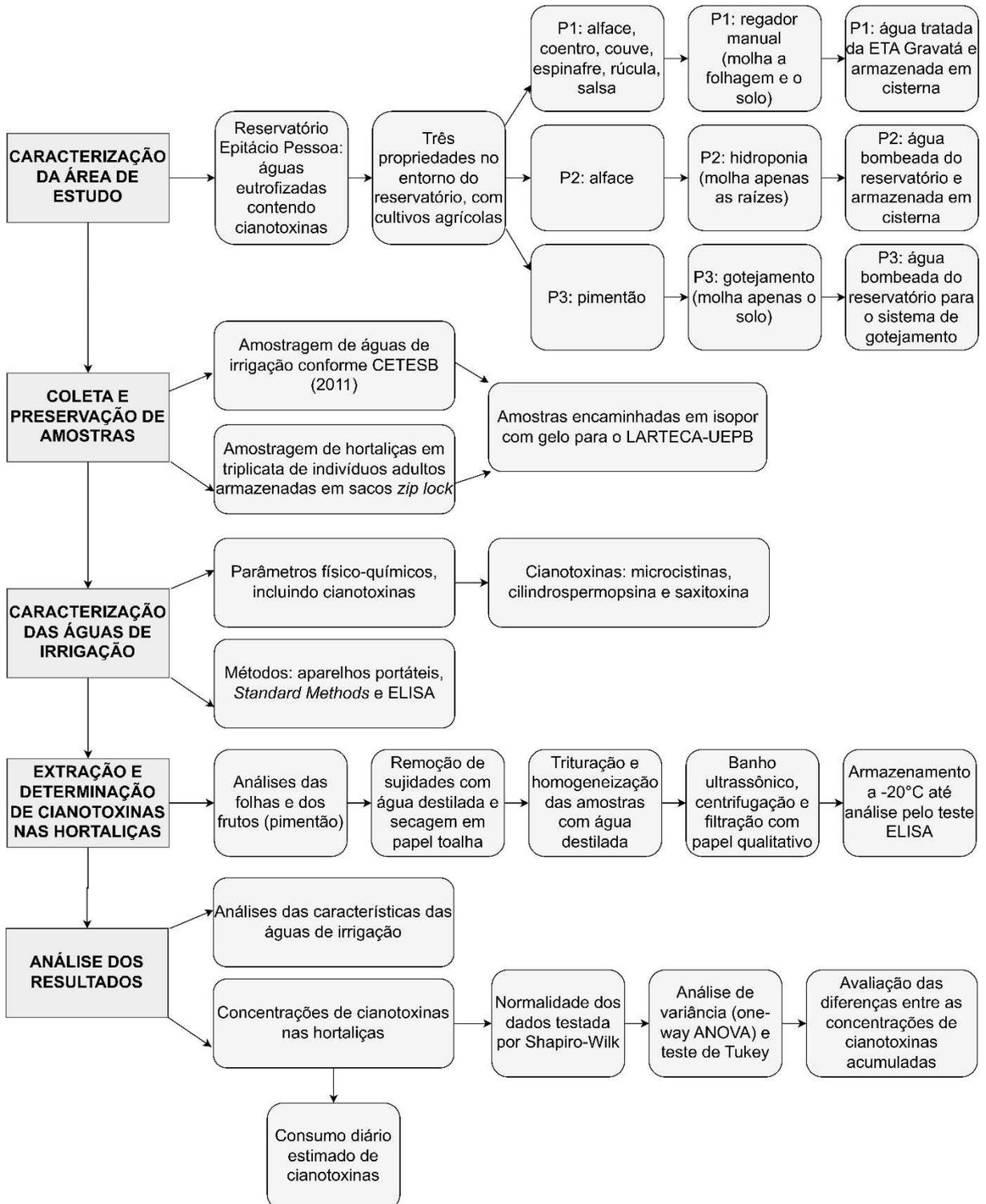
Estudos apontam que microcistinas (MCs), um dos tipos de cianotoxinas predominantes e que são encontradas entre 40-75% das florações de cianobactérias de todo o mundo, tendem a se acumular nos tecidos comestíveis de hortaliças folhosas. Estas constituem uma via direta de contaminação, visto que são consumidas cruas. No entanto, mesmo após fervura, fritura ou cozimento à vapor, as MCs são capazes de permanecer em sua forma química original, o que indica que não há uma forma segura de preparar vegetais para consumo humano se estiverem contaminados com cianotoxinas (BURATTI et al., 2017; CHEN et al., 2010; CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014; ZHANG; WHALEN; SAUVÉ, 2021).

Apesar disso, a quantidade de estudos acerca da bioacumulação de cianotoxinas em culturas agrícolas ainda é limitada, sendo a grande maioria realizada em escala laboratorial sob condições controladas, que muitas vezes não retratam as condições ambientais reais (CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014; MACHADO et al., 2017; NERY; NERY; MEDEIROS, 2020). Diante deste cenário, este trabalho tem como objetivo avaliar a bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas do reservatório Epitácio Pessoa, localizado no semiárido brasileiro.

2.2 Metodologia

A metodologia do estudo realizado neste capítulo foi dividida em cinco etapas, que estão esquematizadas na Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma das etapas metodológicas empregadas no Capítulo II

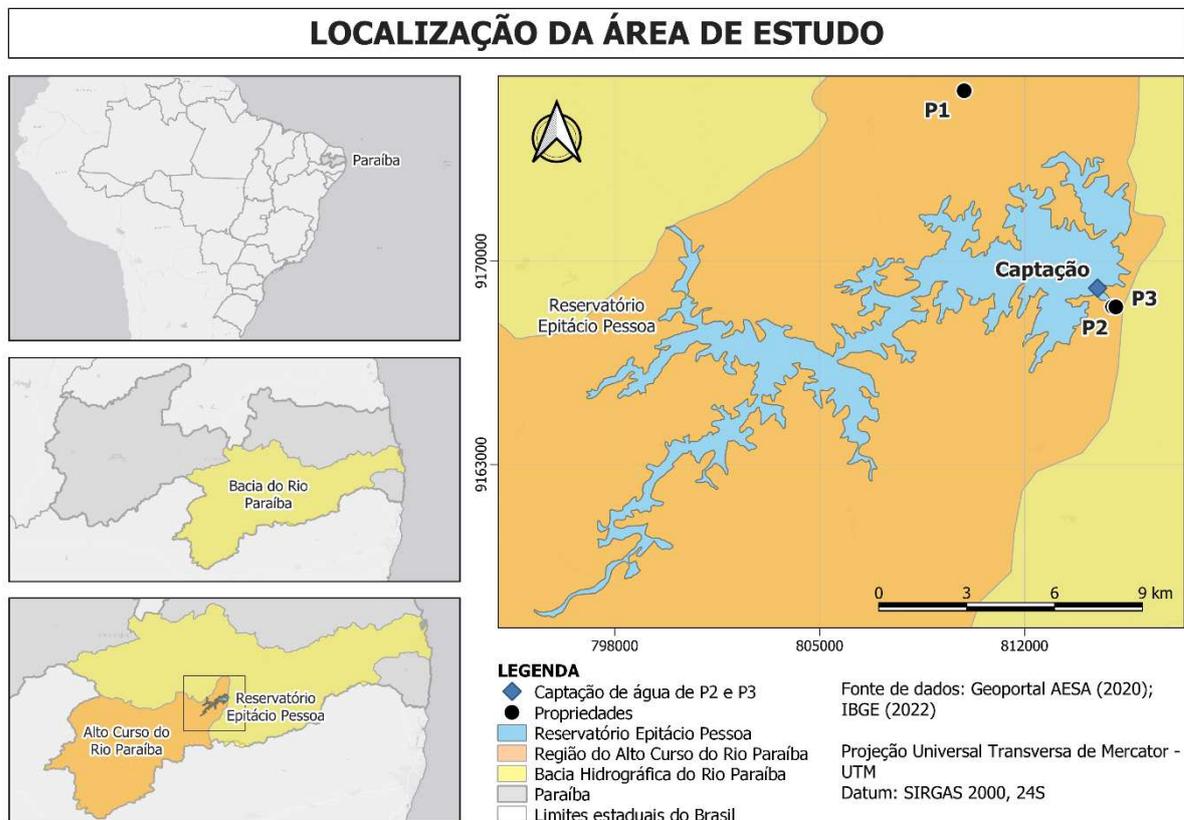


Fonte: elaborado pelo autor.

2.2.1 Caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado em três propriedades situadas nas proximidades do reservatório Epitácio Pessoa (Figura 3). Este manancial está localizado no município de Boqueirão, Paraíba, e apresenta grande importância social e econômica para o Estado, visto que abastece 25 sedes municipais, dentre elas a cidade de Campina Grande, um dos principais centros urbanos do interior do Nordeste brasileiro (ANA, 2017).

Figura 3 – Localização do reservatório Epitácio Pessoa e das propriedades estudadas



Fonte: elaborado pelo autor.

O reservatório Epitácio Pessoa (Figura 3) está inserido na Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba, na região do Alto Curso do Rio Paraíba, sob as coordenadas geográficas 07°29'52,39"S e 36°08'30,74"W. Possui uma capacidade de 466.525.964 m³ de água e recebe águas dos rios Paraíba e Taperoá. Suas principais demandas de retirada de água são: abastecimento humano urbano (69%), irrigação (24%), abastecimento humano rural (4%) e dessedentação animal (3%) (ANA, 2017; PARAÍBA, 2019).

Conforme a classificação climática de Köppen (1936), a região onde esse reservatório está situado apresenta clima semiárido, tipo BSh, que tem como características temperaturas

elevadas, com médias em torno de 26 °C, precipitação anual média de 400 mm concentrada entre os meses de fevereiro e abril, e evaporação anual de aproximadamente 2000 mm. A geologia é composta principalmente por rochas cristalinas e solos rasos e argilosos, altamente suscetíveis à erosão. A vegetação dominante é a caatinga arbustiva arbórea aberta, já quase que totalmente antropizada (SILVA et al., 2017).

Nas últimas décadas (1997–2003 e 2012–2017), o Eptácio Pessoa enfrentou duas crises hídricas severas. A segunda foi especialmente crítica, onde o nível das águas chegou a 3% de sua capacidade de armazenamento, o que quase levou o serviço de abastecimento ao colapso em março de 2017. Essa situação foi mitigada com a chegada das águas da transposição do rio São Francisco, em abril de 2017. A recarga do reservatório possibilitou o aumento do volume de água, que chegou a 35,13% de sua capacidade em abril de 2018 (CARDOSO, 2022).

Apesar de ser uma importante fonte de abastecimento de água e desempenhar papel crucial em atividades como irrigação, dessedentação de animais, pesca e lazer, o reservatório Eptácio Pessoa tem sofrido impactos negativos da intensa atividade antrópica no seu entorno, que inclui desmatamento, agricultura irrigada, pecuária e moradias, e isso tem afetado de forma significativa a qualidade de suas águas. Essa situação é agravada pelo fato de que os rios que o alimenta atravessam áreas não saneadas do Estado, recebendo descargas de resíduos sólidos e de efluentes não tratados.

O elevado tempo de residência desse reservatório (3-5 anos), devido ao ciclo hidrológico com longos períodos de estiagem, favorece a retenção dos nutrientes e poluentes exportados para o mesmo. Além disso, o reservatório tem sofrido com o processo de assoreamento, como relatado por Silva et al. (2017), o que tem diminuído a sua capacidade total de armazenamento de água ao longo dos anos. Como resposta aos estresses antropogênicos e ambientais, incluindo os climáticos, suas águas têm sido classificadas como eutróficas (SILVA et al., 2020).

As propriedades selecionadas para o estudo, Figura 3, estão situadas nas proximidades do Eptácio Pessoa e apresentaram culturas irrigadas com as águas deste. Ressalta-se que, por ser um estudo em escala real, trabalhou-se com os recursos disponíveis em cada uma destas localidades durante o período estudado, incluindo as espécies de hortaliças presentes, os diferentes métodos de irrigação e as diversas qualidades das águas. Isso ajuda a refletir a realidade e diversidade das condições ambientais que podem influenciar a bioacumulação de cianotoxinas nas hortaliças. O Quadro 6 dispõe de informações acerca dos cultivos nas propriedades onde o estudo foi realizado.

Apesar de as três propriedades utilizarem águas do reservatório Eptácio Pessoa para a irrigação, estas passaram por formas diferentes de tratamento e armazenamento. Em P1, a água

era coletada na Estação de Tratamento de Águas Gravatá e fornecida mensalmente por meio de carro pipa à propriedade, sendo armazenada em cisterna. Em P2, a água usada nos cultivos era bombeada do reservatório, sem nenhum tratamento, e armazenada em cisterna, que alimentava o sistema hidropônico. Já em P3, a água era bombeada diretamente do reservatório para o sistema de gotejamento, sem tratamento e sem armazenamento. Vale salientar que as propriedades P2 e P3 eram próximas e faziam a captação de água no mesmo ponto (7°30'29" S e 36°09'02" O), indicado na Figura 3.

Quadro 6 – Informações dos cultivos observados em cada uma das propriedades

Propriedade	Porte do cultivo	Espécies cultivadas	Tipo de irrigação e qualidade da água	Área molhada
P1: 7°26'49" S e 36°11'32" O	Agricultura familiar, para consumo próprio	Alface, coentro, couve, espinafre, rúcula e salsa	Manual com regador, a partir de água tratada do reservatório armazenada em cisterna	Folhas e solo
P2: 7°30'49" S e 36°08'45" O	Pequeno porte, para comercialização na região	Alface	Hidropônica, a partir de água bruta do reservatório armazenada em cisterna	Raízes
P3: 7°30'49" S e 36°08'41" O	Médio porte, para comercialização na região e nacional	Pimentão	Gotejamento, com água bruta bombeada diretamente do reservatório	Solo

Fonte: elaborado pelo autor.

2.2.2 Coleta e preservação de amostras

A coleta de amostras nas propriedades ocorreu em junho de 2021, sendo realizada uma campanha de coleta em cada propriedade. A coleta, preservação e armazenamento das amostras de água foi realizado de acordo com o Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011). Em P1 e P2, a coleta de amostras de águas de irrigação foi realizada nas cisternas, visto que era a partir delas que a água era direcionada aos cultivos. Já em P3, a amostragem de água foi realizada no ponto de captação do sistema de gotejamento, no reservatório Epitácio Pessoa.

A coleta de amostras vegetais foi realizada em triplicata nas plantas adultas, sendo estas armazenadas em sacos plásticos do tipo *zip lock*. Todas as amostras de águas e vegetais foram encaminhadas, em caixas de isopor com gelo, para o Laboratório de Referência em Tecnologia de Águas (LARTECA), localizado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), onde foram realizadas as análises.

2.2.3 Caracterização das águas de irrigação

Foram determinados *in loco* os parâmetros sólidos totais dissolvidos, por meio de sonda multimétrica (HANNA HI 9829), e pH e temperatura, através de pHmetro portátil (KASVI). Os demais parâmetros foram analisados no LARTECA/UEPB, sendo as análises realizadas em triplicata. O Quadro 7 elenca os parâmetros físico-químicos determinados nas águas de irrigação e seus métodos de análise.

Quadro 7 – Parâmetros físico-químicos e metodologias empregadas nas análises

Parâmetro	Método
Cor aparente	Colorímetro portátil (PoliControl AquaColor Cor)
Turbidez	Turbidímetro portátil (PoliControl AP2000)
Sólidos dissolvidos totais (STD)	Sonda multimétrica modelo HANNA HI 9829
pH	pHmetro portátil (KASVI)
Temperatura	pHmetro portátil (KASVI)
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	Colorimétrico (4500-NO ₂ -B)*
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	Espectrofotométrico (4500-NO ₃ -B)*
Fósforo total (Ptotal)	Método do Ácido Ascórbico (4500-PE)*
Fósforo reativo solúvel (Prs)	Método do Ácido Ascórbico (4500-PE)*
Clorofila <i>a</i>	Espectrofotométrico (10200H)*
Microcistinas (MCs)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)
Cilindropermopsina (CYN)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)
Saxitoxina (STX)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)

Legenda: (*) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA; AWWA; WPCF, 2012).

Fonte: elaborado pelo autor.

As concentrações totais de cianotoxinas na água foram determinadas pelo método imunoenzimático ELISA através de kits Abraxis (Warminster, PA, EUA) específicos para cada toxina. A metodologia seguiu o protocolo do fabricante e a leitura das amostras foi realizada em uma leitora de microplacas ELISA com comprimento de onda de 450 nm. Para extrair as toxinas das células foram efetuados três ciclos de congelamento e descongelamento das amostras, conforme Silva et al. (2020).

2.2.4 Extração e determinação de cianotoxinas nas hortaliças

A extração de cianotoxinas dos tecidos vegetais foi realizada com base nos protocolos estabelecidos por Bittencourt-Oliveira et al. (2016) e Levizou et al. (2017), com adaptações.

Em laboratório, as amostras coletadas em triplicata foram suavemente lavadas com água destilada, para remoção de possíveis sujidades, e secas suavemente com papel absorvente. Lee et al. (2017) verificaram que essa etapa não altera as concentrações de cianotoxinas acumuladas

nas hortaliças. Em seguida, de cada triplicata de amostras, as partes a serem analisadas foram misturadas para formar uma amostra composta. De alface, coentro, couve, espinafre, rúcula e salsa foram analisadas as folhas, enquanto que do pimentão foram analisados folhas e frutos.

Após essa etapa, realizou-se a trituração de 10 g de massa fresca de cada amostra com almofariz e pistilo e homogeneizou-se com 20 mL de água destilada. Os extratos obtidos foram levados para banho ultrassônico (15 w e 22,5 KHz) por 10 min, para o rompimento celular. Em seguida, foram centrifugados por 10 min a 4000 rpm e os sobrenadantes filtrados em filtro de papel qualitativo e armazenados a -20 °C até a quantificação de cianotoxinas pelo método ELISA (kits Abraxis).

2.2.5 Análise dos resultados

No Brasil, não há regulamentação das concentrações de MCs, CYN e STX em águas de irrigação, contudo, a portaria de potabilidade para águas de abastecimento (Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021, que altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017) estabelece os limites máximos de 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para MCs, 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para CYN e 3,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para STX, sendo estes os padrões considerados para o estudo. Em relação ao estado trófico da água, adotou-se a classificação de Thornton e Rast (1993), adequada para regiões semiáridas.

Para testar as diferenças entre as concentrações de MCs, CYN e STX acumuladas nas hortaliças estudadas foi realizada uma análise de variância (one-way ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. As análises estatísticas foram realizadas considerando um nível de significância de 5%, através dos softwares Past 4.13 (HAMMER; HARPER, 2001).

Devido ao potencial de bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que a ingestão diária total (IDT) de MCs para humanos não deve exceder 0,04 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corpóreo (WHO, 2001). Com relação à CYN, um IDT provisório de 0,03 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ foi estabelecido por Humpage e Falconer (2003). Já para STX, a Autoridade de Saúde do Oregon (OHA) determinou um IDT de 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (FARRER et al., 2015).

Neste trabalho, para avaliar os impactos da bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais, calculou-se o consumo diário estimado (CDE) de MCs, CYN e STX (Equação 1) para cada hortaliça e comparou-se os resultados com os IDTs recomendados.

$$\text{CDE } (\mu\text{g.kg}^{-1}) = (\text{CCH} * \text{CMDH}) / \text{PC}$$

Equação 1

Onde: CCH é a concentração de cianotoxina na hortaliça ($\mu\text{g.g}^{-1}$), CMDH é o consumo médio diário de hortaliças (g) e PC é o peso do consumidor (kg). Para o cálculo considerou-se que uma pessoa de 60 kg consome em média 40 g de hortaliças por dia (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016; LEVIZOU et al., 2017).

2.3 Resultados e discussão

A partir da caracterização das águas de irrigação coletadas nas propriedades P1, P2 e P3, em termos de parâmetros físico-químicos, foi possível verificar a diferença na qualidade das águas brutas (P2 e P3) com relação à água tratada (P1), que apresentou os menores valores dos parâmetros cor aparente e turbidez, assim como de outros parâmetros, como sólidos totais dissolvidos (STD) e clorofila *a* (Tabela 1). Apesar disso, observa-se que a água de P1 contém uma maior concentração de nutrientes (N-NO₃⁻, Ptotal e Prs), que provavelmente é oriunda de impurezas presentes na cisterna de armazenamento.

Tabela 1 – Caracterização das águas de irrigação em termos de parâmetros físico-químicos

Parâmetro	Unidade	P1	P2	P3
Cor aparente (uC)	uC	10,73 ± 0,38	28,73 ± 1,24	31,90 ± 0,46
Turbidez (uT)	uT	0,23 ± 0,02	1,56 ± 0,22	2,26 ± 0,21
Sólidos dissolvidos totais (STD)	mg.L ⁻¹	54,00 ± 1,00	160,50 ± 0,71	148,33 ± 2,89
pH	-	9,90 ± 0,20	8,90 ± 0,20	9,8 ± 0,20
Temperatura	°C	25,60 ± 0,50	27,50 ± 0,50	27,2 ± 0,50
Nitrito (N-NO ₂)	μg.L ⁻¹	5,60 ± 0,17	8,35 ± 0,21	2,25 ± 0,12
Nitrato (N-NO ₃)	μg.L ⁻¹	407,50 ± 0,70	109,50 ± 2,10	57,5 ± 3,50
Fósforo total (Ptotal)	μg.L ⁻¹	500,00 ± 14,14	300,00 ± 28,28	300,0 ± 15,00
Fósforo reativo solúvel (Prs)	μg.L ⁻¹	90,00 ± 4,50	87,50 ± 0,71	49,5 ± 0,71
Clorofila <i>a</i>	μg.L ⁻¹	1,08 ± 0,05	8,66 ± 0,76	32,51 ± 0,95
Microcistinas (MCs)	μg.L ⁻¹	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Cilindrospermopsina (CYN)	μg.L ⁻¹	0,10 ± 0,04	0,19 ± 0,09	0,09 ± 0,04
Saxitoxina (STX)	μg.L ⁻¹	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,01

Fonte: autor.

Thornton e Rast (1993) definem que a partir de 60 μg.L⁻¹ de fósforo total e 12 μg.L⁻¹ de clorofila *a* o ambiente pode ser classificado como eutrófico, em regiões semiáridas. Com base neste estudo e nos dados obtidos em P3 (água coletada diretamente no reservatório Epitácio Pessoa), pode-se determinar que neste ponto a água estava eutrofizada.

Barbosa et al. (2021) monitoraram a qualidade da água do reservatório Epitácio Pessoa entre os anos 2015 e 2019 e verificaram que, durante todo este período, o mesmo foi classificado como eutrófico. No estudo de Silva et al. (2020) quatro reservatórios da bacia do Rio Paraíba, incluindo o Epitácio Pessoa, foram avaliados entre 2016 e 2017 e também foram classificados como eutróficos, além de apresentarem espécies tóxicas de cianobactérias e cianotoxinas. Já Nery, Nery e Medeiros (2020) avaliaram a água do reservatório Epitácio Pessoa em 2019 e também detectaram a presença de cianobactérias e cianotoxinas.

Dentre os fatores que contribuem para a eutrofização deste reservatório, destacam-se a intensa atividade antrópica em sua bacia de drenagem, bem como o elevado tempo de residência (entre 3 e 5 anos) decorrente do ciclo hidrológico com longos períodos de estiagem, que propicia uma maior retenção dos nutrientes e poluentes carregados para o mesmo (MEDEIROS et al., 2018). Como resposta aos estresses antropogênicos e ambientais, incluindo os climáticos, suas águas encontram-se eutrofizadas, favorecendo o surgimento de florações potencialmente tóxicas de cianobactérias, como relatado por Silva et al. (2020) e Nery, Nery e Medeiros (2020).

A classificação trófica das águas coletadas em P1 e P2 não foi avaliada pois as mesmas estavam fora do reservatório e sofreram mudanças de qualidade provocadas pelo tratamento (P1) e/ou armazenamento em cisterna (P1 e P2). Isso pode ser evidenciado pelos dados de clorofila *a*, cujo valor médio em P3 ($32,41 \mu\text{g.L}^{-1}$) foi bastante superior aos encontrados em P1 e P2 ($1,08 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $8,66 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente).

As concentrações médias de cianotoxinas nas águas apresentaram baixas variações e ficaram abaixo dos limites máximos estabelecidos pela portaria de potabilidade brasileira (BRASIL, 2021). Apesar disso, Silva et al. (2020) identificaram MCs e STX nas águas do Epitácio Pessoa em concentrações superiores a $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$, entre 2016 e 2017, enquanto Nery, Nery e Medeiros (2020) detectaram uma concentração média de $1,73 \pm 0,95 \mu\text{g.L}^{-1}$ de CYN no mesmo, em 2019. Isso indica que a presença de MCs e CYN neste reservatório pode oscilar para valores acima dos estabelecidos na legislação. Para STX são necessários mais estudos.

A Tabela 2 expõe as concentrações de cianotoxinas detectadas nas hortaliças coletadas em P1, P2 e P3.

Observa-se que MCs, CYN e STX foram detectadas na maioria das hortaliças coletadas (exceto CYN na couve e na rúcula). Com isso, pode-se constatar que as concentrações de cianotoxinas presentes nas águas estudadas (Tabela 1), apesar de estarem em conformidade com os padrões de potabilidade brasileiros, foram suficientes para promover bioacumulação nos tecidos vegetais.

A partir da Tabela 2 é possível verificar que a concentração de MCs em cada espécie de hortaliça difere estatisticamente e é maior que as respectivas concentrações de CYN e STX. Com base nisso, pode-se afirmar que esta cianotoxina é a que apresenta maior potencial de bioacumulação nas espécies vegetais estudadas.

Tabela 2 – Concentrações de cianotoxinas detectadas nas hortaliças coletadas em P1, P2 e P3

Propriedade	Hortaliça	MCs ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	CYN ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	STX ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
P1	Alface	2,17 ± 0,16 d	0,14 ± 0,00 fg	0,22 ± 0,01 fg
	Coentro	7,83 ± 0,49 a	0,54 ± 0,06 fg	0,22 ± 0,02 fg
	Couve	2,31 ± 0,10 d	<LD*	0,06 ± 0,01 g
	Espinafre	4,12 ± 0,12 c	0,05 ± 0,01 g	0,14 ± 0,04 fg
	Rúcula	0,63 ± 0,06 f	<LD*	0,02 ± 0,00 g
	Salsa	5,47 ± 0,25 b	0,40 ± 0,17 fg	0,06 ± 0,01 g
P2	Alface	1,55 ± 0,07 e	0,03 ± 0,01 g	0,18 ± 0,02 fg
P3	Pimentão (folha)	4,36 ± 0,09 c	0,35 ± 0,11 fg	0,05 ± 0,01 g
	Pimentão (5,0 cm)**	1,59 ± 0,02 e	0,19 ± 0,00 fg	0,05 ± 0,00 g
	Pimentão (7,5 cm)**	1,41 ± 0,07 e	0,16 ± 0,00 fg	0,04 ± 0,00 g

Legenda: dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$); (*) menor que o limite de detecção do método ($0,04 \mu\text{gCYN}\cdot\text{L}^{-1}$); (**) diâmetro do pimentão (fruto). Fonte: autor.

As MCs são as cianotoxinas mais estudadas devido sua elevada toxicidade e detecção frequente em águas superficiais, em concentrações que muitas vezes excedem a recomendada pela OMS, de $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (CORBEL et al., 2015). Neste estudo, o fato de as MCs promoverem maior bioacumulação, quando comparada com as demais cianotoxinas, reforça a sua relevância no meio científico e o seu potencial de atingir o ser humano através do consumo de hortaliças contaminadas.

Um dos fatores que pode contribuir para a maior bioacumulação de MCs em hortaliças é a sua alta estabilidade nas águas de irrigação, relacionada à sua estrutura química. As MCs são peptídeos cíclicos, compostos por aminoácidos unidos por ligações peptídicas, o que torna suas moléculas mais resistentes ao calor, à hidrólise, à oxidação e à ação de enzimas e outras substâncias que poderiam degradá-las e às conferem meia-vida entre 5 e 60 dias no solo, a partir do qual podem ser absorvidas pelas plantas (CHEN et al., 2006; CHORUS; BARTRAM, 1999; CORBEL; MOUGIN; BOUAÏCHA, 2014; MACHADO et al., 2017; PANTELIC et al., 2013).

Apesar das menores proporções, CYN e STX também promoveram bioacumulação nas hortaliças estudadas (Tabela 2). Ressalta-se que as concentrações de CYN estavam próximas ou superiores às de MCs nas águas estudadas, no entanto, os valores acumulados nas hortaliças foram 88 a 98% menores. Isso pode indicar um menor potencial da CYN para bioacumulação em hortaliças em comparação às MCs, quando observado a presença de ambas nas águas de

irrigação. Com relação à STX, a concentração acumulada em cada hortaliça foi estatisticamente semelhante à de CYN.

Machado et al. (2017) avaliaram diversos estudos realizados em escala laboratorial, com cultivos de hortaliças em condições controladas e irrigados com águas contendo cianotoxinas, e constataram que o padrão de bioacumulação de CYN se assemelhava ao da MC-LR (variação de MCs dominante em florações de cianobactérias). Uma possível explicação para que neste estudo o acúmulo de CYN tenha sido bastante inferior ao de MCs é o fato de o sistema avaliado ser um ecossistema real, com variação de condições ambientais e concentrações de cianotoxinas e de outras substâncias presentes simultaneamente na água, cujas interações podem resultar em efeitos diferentes dos obtidos quando cada toxina é aplicada isoladamente na planta.

Kittler et al. (2012) apontaram que o extrato bruto da cianobactéria *A. flos aquae* 22D11 favoreceu a bioacumulação de CYN na couve e na mostarda-castanha, quando comparado à cianotoxina purificada, o que, segundo os autores, possivelmente ocorreu devido à presença de compostos no extrato bruto que aumentam a adesão da toxina às raízes. Contudo, no presente estudo, a presença simultânea de CYN com MCs, STX e outras prováveis substâncias nas águas de irrigação pode ter afetado e reduzido a sua absorção pelas hortaliças.

Com relação à espécie vegetal, verifica-se que os maiores valores de MCs acumulados ocorreram no coentro e na salsa (Tabela 2). A propensão dessas hortaliças à bioacumulação de cianotoxinas tem sido relatada no meio científico. Nery, Nery e Medeiros (2020) analisaram amostras de coentros cultivados nas proximidades do reservatório Epitácio Pessoa, cujas águas apresentavam $0,73 \pm 0,35 \mu\text{g.L}^{-1}$ de MCs, e detectaram, em espécimes com 30 e 60 dias de idade, concentrações acima de 1,0 e 3,0 $\mu\text{gMCs.kg}^{-1}$, respectivamente. Já a salsa, de acordo com Zhang, Whalen e Sauvé (2021), pode acumular até três vezes mais MCs em suas partes comestíveis que outras hortaliças.

No tocante ao método de irrigação, verifica-se que a alface de P1, irrigada com regador manual, acumulou mais MCs que a alface de P2, cultivada em hidroponia. Isso indica que os métodos de irrigação que molham a folhagem da planta podem promover maior bioacumulação de cianotoxinas nessa região do que a irrigação localizada no solo, como o gotejamento, ou nas raízes, como é o caso da hidroponia. Tal assertiva é corroborada por Zhang, Whalen e Sauvé (2021), que afirmam que o nível de bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças depende do local de exposição à água contaminada.

O método de irrigação está intimamente ligado ao mecanismo pelo qual a cianotoxina irá se acumular na planta. Em métodos que molham a folhagem, ocorre a deposição química na região que entra em contato com a água contaminada. Já na irrigação localizada no solo ou por

hidroponia, as cianotoxinas presentes na água são absorvidas através das raízes (CRUSH et al., 2008; KITTLER et al., 2012; MOHAMED; AL SHEHRI, 2009).

Zhang, Whalen e Sauvé (2021), apontam que nos sistemas hidropônicos há uma maior biodisponibilidade de cianotoxinas que nos cultivos baseados em solo, o que pode favorecer a absor o e transporte destas ao longo da planta, visto que permanecem na  gua. Apesar disso, a alface em P1 apresentou maior bioacumula o de MCs nas folhas que a alface em P2. Uma justificativa para esse caso   o fato de cultivos com irriga o localizada acumularem mais cianotoxinas nas raízes que nas demais partes da planta, como indicam os estudos de Gutiérrez-Praena et al. (2013) e Zhang, Whalen e Sauvé (2021).

Kittler et al. (2012) observaram que das concentra es de CYN aplicadas no solo, entre 10-15% e 12-21% foram transportadas das raízes até as folhas de couve e de mostarda-castanha, respectivamente. Codd, Metcalf e Beattie (1999) verificaram que MCs foram retidas em alfaces irrigadas por aspersão de água contendo cianobactérias e, mesmo após lavagem, tanto as células como as MCs não foram completamente removidas.

Sabendo-se que na irriga o localizada apenas uma fra o das cianotoxinas absorvidas   transportada das raízes para as folhas e que a deposi o química resultante da irriga o por aspersão promove a bioacumula o nas folhas de modo que a lavagem pode não ser suficiente para garantir a segurança alimentar, o método de irriga o mais recomendado para cultivos irrigados com águas contaminadas por cianotoxinas será aquele que molha apenas o solo ou as raízes. No entanto, vale salientar que essa recomenda o   válida para hortaliças folhosas, cujas raízes não são consumidas.

Em P3, verifica-se mais uma vez a capacidade de deslocamento das cianotoxinas ao longo da planta, visto que, apesar da irriga o ser via gotejamento em um sistema solo-planta, concentra es de cianotoxinas foram encontradas tanto nas folhas como nos frutos do pimentão. Nessa hortaliça, a maior bioacumula o de MCs ocorreu nas folhas ($4,36 \pm 0,09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), o que também foi observado no estudo de Nery, Nery e Medeiros (2020) e   corroborado por Zhang, Whalen e Sauvé (2021), que relatam que MCs tendem a se acumular preferencialmente nas raízes e folhas, seguidos pelos caules e depois pelos grãos e frutos. No caso do pimentão isso pode ser considerado uma vantagem, visto que a parte comestível são os frutos.

Gutiérrez-Praena et al. (2014) e Nery, Nery e Medeiros (2020) registraram a diminui o das concentra es de MCs durante o amadurecimento de pimentões e tomates, respectivamente, indicando que o crescimento e a maturaa o dos frutos estão diretamente relacionados com a depura o dos níveis de cianotoxinas. Esse fenômeno também pode ocorrer em hortaliças folhosas, conforme estudo de Cordeiro-Araújo et al. (2016), onde alfaces expostas durante sete

dias a 5 e 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de MC-LR, apresentaram eliminação da cianotoxina após 29 e 37 dias, respectivamente.

Todavia, neste trabalho, as concentrações de MCs, CYN e STX foram estatisticamente semelhantes para os pimentões de 5,0 e 7,5 cm de diâmetro, isto é, em diferentes idades vegetais. O fato de as hortaliças estudadas serem continuamente irrigadas com as águas do reservatório Eptácio Pessoa contendo MCs, CYN e STX, pode ter impedido o processo de depuração ou até mesmo reduzido a sua eficácia, visto que a interrupção da exposição da planta às cianotoxinas é um dos fatores importantes para a sua ocorrência.

A Tabela 3 apresenta os CDEs médios de MCs, CYN e STX nas hortaliças estudadas.

Tabela 3 – Consumo diário estimado de cianotoxinas das hortaliças coletadas em P1, P2 e P3

Propriedade	Hortaliça	MCs ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	CYN ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	STX ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
P1	Alface	0,0014	0,0001	0,0001
	Coentro	0,0052	0,0004	0,0001
	Couve	0,0015	*	0,0000
	Espinafre	0,0027	0,0000	0,0001
	Rúcula	0,0004	*	0,0000
	Salsa	0,0036	0,0003	0,0000
	P2	Alface	0,0010	0,0000
P3	Pimentão (folha)	0,0029	0,0002	0,0000
	Pimentão (5,0 cm)*	0,0011	0,0001	0,0000
	Pimentão (7,5 cm)*	0,0009	0,0001	0,0000

Legenda: (*) não calculado, pois a concentração de CYN detectada na hortaliça foi menor que o limite de detecção do método ($0,04 \mu\text{gCYN.L}^{-1}$); (**) diâmetro do pimentão (fruto). Fonte: autor.

Os valores obtidos não excederam os valores dos IDTs recomendados de $0,04 \mu\text{gMCs.kg}^{-1}$, $0,03 \mu\text{gCYN.kg}^{-1}$ e $0,05 \mu\text{gSTX.kg}^{-1}$. O maior CDE calculado, de MCs no coentro, corresponde a apenas 13% do IDT. Apesar disso, o potencial de bioacumulação de cianotoxinas em tecidos vegetais fica evidente, uma vez que, mesmo em baixas concentrações de MCs, CYN e STX, observou-se acúmulo nas hortaliças estudadas.

Assim, com a crescente exploração dos recursos hídricos e as condições ambientais do semiárido que favorecem o crescimento exacerbado de cianobactérias, a ingestão de culturas irrigadas com águas eutrofizadas configura-se como uma nova rota de contaminação humana por cianotoxinas e possível preocupação a longo prazo nesta região.

Tal problemática, inclusive, tem sido observada em outras regiões do planeta. Chia et al. (2019) compraram amostras de alface e repolho em quatro mercados na Nigéria e detectaram MCs em todas, com CDEs máximos de $1,41 \mu\text{g.kg}^{-1}$ e $2,94 \mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente, superiores ao IDT recomendado pela OMS ($0,04 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Já Levizou et al. (2020) cultivaram rabanete e

cenoura com águas de um reservatório, também na Nigéria, contendo $3,76 \mu\text{gMCs.L}^{-1}$ e tiveram como resultados níveis de bioacumulação que excedem em até 4 vezes o IDT da OMS em caso de ingestão das hortaliças.

Bakr et al. (2022) avaliaram cultivos de alface e rúcula irrigados com águas de um lago do Sul do Egito, contendo entre $45\text{-}600 \mu\text{g MCs.L}^{-1}$ e detectaram bioacumulação de MCs em ambas, em níveis que ultrapassariam o IDT com o consumo de 300 g dessas hortaliças. Levizou et al. (2017), utilizaram água do reservatório Karla, na Grécia, contendo $1,81 \mu\text{gMCs.L}^{-1}$, para irrigar alfaces e obtiveram espécimes com CDE de $0,240 \mu\text{gMCs.kg}^{-1}$, correspondente a 6 vezes o IDT da OMS. Concentrações de MCs próximas e até superiores às encontradas no reservatório Karla já foram detectadas em diferentes mananciais do semiárido brasileiro, dentre eles Epitácio Pessoa, Camalaú, Mucutú e Poções (NERY; NERY; MEDEIROS, 2020; SILVA et al., 2020).

Nesse cenário, destaca-se a importância do monitoramento e controle de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas em reservatórios de usos múltiplos e do estabelecimento de uma legislação específica que limite as concentrações máximas de cianotoxinas em águas de irrigação e em hortaliças no Brasil.

2.4 Conclusão

Nas águas de irrigação estudadas, provenientes do reservatório Epitácio Pessoa, foram detectadas microcistinas, cilindrospermopsina e saxitoxina, o que pode ser atribuído a fatores como a eutrofização do reservatório e as condições ambientais da região. As concentrações de cianotoxinas nestas águas, apesar de estarem abaixo dos padrões da portaria de potabilidade brasileira durante o período estudado, foram suficientes para promover bioacumulação nas hortaliças irrigadas, o que indica que a única forma de evitar esse fenômeno é controlar as características da água quanto à presença de cianobactérias e cianotoxinas.

Dentre as cianotoxinas, as MCs apresentaram o maior potencial de acúmulo, chegando a 82 e 91 vezes os valores de CYN e STX acumulados, respectivamente, e constatou-se que a espécie vegetal e o método de irrigação influenciam na bioacumulação. Já entre as diferentes hortaliças estudadas, coentro e salsa demonstraram maior propensão ao acúmulo. Com relação ao método de irrigação, observou-se que os que molham a folhagem (aspersão) podem induzir a uma maior bioacumulação nessa região, como observado na alface, contudo, estudos com mais espécies vegetais são necessários. No tocante à idade da planta, não foi observado diferença significativa nos níveis de cianotoxinas acumulados em pimentões com 5,0 e 7,5 cm de diâmetro.

Por fim, pôde-se constatar que os consumos diários estimados de cianotoxinas a partir das hortaliças estudadas foram menores que os IDTs recomendados. Não obstante, o potencial de bioacumulação destas toxinas em plantas agrícolas ficou evidente e, considerando-se a crescente exploração dos recursos hídricos e conseqüente eutrofização de reservatórios do semiárido, a ingestão de hortaliças irrigadas configura-se como uma nova rota de contaminação humana por cianotoxinas e possível preocupação futura nessa região.

2.5 Referências

- ABDALLAH, M. F.; VAN HASSEL, W. H.; ANDJELKOVIC, M.; WILMOTTE, A.; RAJKOVIC, A. Cyanotoxins and Food Contamination in Developing Countries: Review of Their Types, Toxicity, Analysis, Occurrence and Mitigation Strategies. **Toxins**, v. 13, n. 11, p. 786, 2021.
- ANA. Agência Nacional de Águas (Brasil). **Reservatórios do Semiárido Brasileiro: Hidrologia, Balanço Hídrico e Operação: Anexo A**. Brasília: ANA, 2017. 103 p.
- APHA; AWWA; WPCF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22 ed. Washington, D.C.: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2012.
- BAKR, A.; ALZAIN, M. N.; ALZAMEL, N. M.; LOUTFY, N. Accumulation of microcystin from *Oscillatoria limnetica* Lemmermann and *Microcystis aeruginosa* (Kützing) in two leafy green vegetable crop plants *Lactuca sativa* L. and *Eruca sativa*. **Plants**, v. 11, n. 13, p. 1733, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11131733>
- BARBOSA, J. E. L.; SEVERIANO, J. S.; CAVALCANTE, H.; LUCENA-SILVA, D.; MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; SILVA, R. D. S.; OLIVEIRA, D. A.; MOLOZZI, J. Impacts of inter-basin water transfer on the water quality of receiving reservoirs in a tropical semi-arid region. **Hydrobiologia**, v. 848, n. 3, p. 651-673, 2021. DOI: 10.1007/s10750-020-04471-z
- BIHN, E. A.; SMART, C. D.; HOEPTING, C. A.; WOROBO, R. W. Use of surface water in the production of fresh fruits and vegetables: a survey of fresh produce growers and their water management practices. **Food Protection Trends**, v. 33, p. 307 – 314, 2013. DOI: 10.3390/toxins11110624
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; CHIA, M. A.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; DE OLIVEIRA, Ê. T.; DOS SANTOS, F. Lettuce irrigated with contaminated water: Photosynthetic effects, antioxidative response and bioaccumulation of microcystin congeners. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 83-90, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.02.014
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2021.

BURATTI, F. M.; MANGANELLI, M.; VICHI, S.; STEFANELLI, M.; SCARDALA, S.; TESTAI, E.; FUNARI, E. Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of toxicology*, v. 91, n. 3, p. 1049-1130, 2017. DOI: 10.1007/s00204-016-1913-6

CALADO, S. L. M.; WOJCIECHOWSKI, J.; SANTOS, G. S.; DE MAGALHAES, V. F.; PADIAL, A. A.; CESTARI, M. M.; DE ASSIS, H. C. D. S. Neurotoxins in a water supply reservoir: An alert to environmental and human health. *Toxicon*, v. 126, p. 12-22, 2017. DOI: 10.1016/j.toxicon.2016.12.002

CARDOSO, A. S. **Modelagem quali-quantitativa da água no eixo leste do Projeto de Integração do rio São Francisco: o caso do Alto Curso do rio Paraíba**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011.

CHEN, J.; DAI, J.; ZHANG, H.; WANG, C.; ZHOU, G.; HAN, Z.; LIU, Z. Bioaccumulation of microcystin and its oxidative stress in the apple (*Malus pumila*). *Ecotoxicology*, v. 19, n. 4, p. 796-803, 2010. DOI: 10.1007/s10646-009-0456-5

CHIA, M. A.; AUTA, Z. Z.; ESSON, A. E.; YISA, A. G.; ABOLUDE, D. S. Assessment of microcystin contamination of *Amaranthus hybridus*, *Brassica oleracea*, and *Lactuca sativa* sold in markets: a case study of Zaria, Nigeria. *Environmental monitoring and assessment*, v. 191, p. 1-9, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7725-4>

CHORUS, I.; BARTRAM, J. Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E&FN Spon, 1999.

CODD, G. A.; METCALF, J. S.; BEATTIE, K. A. Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. *Toxicon*, v. 37, n. 8, p. 1181-1185, 1999. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00244-X

CORBEL, S.; MOUGIN, C.; BOUAÏCHA, N. Cyanobacterial toxins: Modes of actions, fate in aquatic and soil ecosystems, phytotoxicity and bioaccumulation in agricultural crops. *Chemosphere*, v. 96, p. 1-15, 2014.

CORBEL, S.; MOUGIN, C.; MARTIN-LAURENT, F.; CROUZET, O.; BRU, D.; NÉLIEU, S.; BOUAÏCHA, N. Evaluation of phytotoxicity and ecotoxicity potentials of a cyanobacterial extract containing microcystins under realistic environmental concentrations and in a soil-plant system. *Chemosphere*, v. 128, p. 332-340, 2015. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.02.008

CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; CHIA, M. A.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; TORNISIELO, V. L.; VILCA, F. Z.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Microcystin-LR bioaccumulation and depuration kinetics in lettuce and arugula: Human health risk assessment. *Science of the Total Environment*, v. 566, p. 1379-1386, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.204>

CORDEIRO-ARAÚJO, M.; CHIA, M. A.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Potential human health risk assesment of cylindrospermopsin accumulation and depuration in lettuce an arugula. *Harmful Algae*, v. 68, p. 217 – 223, 2017. DOI: 10.1016/j.hal.2017.08.010

CRUSH, J. R.; BRIGGS, L. R.; SPROSEN, J. M.; NICHOLS, S. N. Effect of irrigation with lake water containing microcystins on microcystin content and growth of ryegrass, clover, rape, and lettuce. *Environmental Toxicology: An International Journal*, v. 23, n. 2, p. 246-252, 2008.

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. D. B. **Florações de algas e de cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento**. São Carlos: LDiBE, 2010.

FARRER, D.; COUNTER, M.; HILLWIG, R.; CUDE, C. Health-based cyanotoxin guideline values allow for cyanotoxin-based monitoring and efficient public health response to cyanobacterial blooms. *Toxins*, v. 7, n. 2, p. 457-477, 2015. DOI: 10.3390/toxins7020457

FERRÃO-FILHO, A. S. Bioacumulação de cianotoxinas e seus efeitos em organismos aquáticos. *Oecol. Bras.*, v. 13, n. 2, p. 272-312, 2009.

GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; JOS, Á.; PICHARDO, S.; MORENO, I. M.; CAMEÁN, A. M. Presence and bioaccumulation of microcystins and cylindrospermopsin in food and the effectiveness of some cooking techniques at decreasing their concentrations: A review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 53, p. 139-152, 2013. DOI: 10.1016/j.fct.2012.10.062

GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; CAMPOS, A.; AZEVEDO, J.; NEVES, J.; FREITAS, M.; GUZMÁN-GUILLÉN, R.; CAMEÁN, A. M.; RENAUT, J.; VASCONCELOS, V. Exposure of *Lycopersicon Esculentum* to microcystin-LR: Effects in the leaf proteome and toxin translocation from water to leaves and fruits. *Toxins*, v. 6, n. 6, p. 1837-1854, 2014. DOI: 10.3390/toxins6061837

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. Past: paleontological statistics software package for educaton and data anlysis. *Palaeontologia electronica*, v. 4, n. 1, p. 1, 2001.

HUMPAGE, A. R.; FALCONER, I. R. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. *Environmental Toxicology: An International Journal*, v. 18, n. 2, p. 94-103, 2003. DOI: 10.1002/tox.10104

KITTLER, K.; SCHREINER, M.; KRUMBEIN, A.; MANZEI, S.; KOCH, M.; ROHN, S.; MAUL, R. Uptake of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in Brassica vegetables. *Food chemistry*, v. 133, n. 3, p. 875-879, 2012. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.01.107

KÖPPEN, W. **Das geographische system der klimate**. In: KÖPPEN, W.; GEIGER, R. (Ed.). *Handbuch der klimatologie*. Berlin: Gebruder Borntraeger, v. 1, 1936.

LEE, S.; JIANG, X.; MANUBOLU, M.; RIEDL, K.; LUDSIN, S. A.; MARTIN, J. F.; LEE, J. Fresh produce and their soils accumulate cyanotoxins from irrigation water: implications for public health and food security. *Food Research International*, v. 102, p. 234-245, 2017. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.09.079

LEVIZOU, E.; STATIRIS, G.; PAPADIMITRIOU, T.; LASPIDOU, C. S.; KORMAS, K. A. Lettuce facing microcystins-rich irrigation water at different developmental stages: Effects on plant performance and microcystins bioaccumulation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 143, p. 193-200, 2017. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.05.037

LEVIZOU, E.; PAPADIMITRIOU, T.; PAPAVALASILEIOU, E.; PAPADIMITRIOU, N.; KORMAS, K. A. Root vegetables bioaccumulate microcystins-LR in a developmental stage-dependent manner under realistic exposure scenario: The case of carrot and radish. **Agricultural Water Management**, v. 240, p. 106274, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106274>

MACHADO, J.; CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V.; FREITAS, M. Effects of microcystin-LR and cylindrospermopsin on plant-soil systems: A review of their relevance for agricultural plant quality and public health. **Environmental research**, v. 153, p. 191-204, 2017.

MEDEIROS, C.; AZEVÊDO, E.; BARBOSA, E.; MOLOZZI, J. Effectiveness of abundance and biomass curves in detecting environmental alterations in semi-arid region reservoirs. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 2, 2018. DOI: 10.1590/1676-0611-BN-2017-0423

MOHAMED, Z. A.; AL SHEHRI, A. M. Microcystins in groundwater wells and their accumulation in vegetable plants irrigated with contaminated waters in Saudi Arabia. **Journal of hazardous materials**, v. 172, n. 1, p. 310-315, 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.07.010

NERY, J. F.; NERY, G. K. M.; MEDEIROS, S. S. Microcystin bioaccumulation in cultures irrigated with eutrophized waters in Brazilian Semiarid. **wjpls**, v. 6, n. 2, p. 5-9, 2020.

PANTELIĆ, D.; SVIRČEV, Z.; SIMEUNOVIĆ, J.; VIDOVIĆ, M.; TRAJKOVIĆ, I. Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia. **Chemosphere**, v. 91, n. 4, p. 421-441, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.003>

PARAÍBA. GOVERNO DO ESTADO. **Nota técnica AESA/GEMOH: 001/2019**. Dispõe sobre as atualizações das curvas Cota x Área x Volume (CAV) com respectiva alteração dos volumes finais de reservatórios do Estado. Secretaria da Infraestrutura, dos Recursos Hídricos e do Meio ambiente, Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba – AESA. 3 p.3, 2019.

SILVA, A. M.; SILVA, J. F. C. B. C.; HENRIQUES, I. G. N.; DA SILVA, R. M. Estimativa da Produção de Sedimentos na Bacia do Reservatório Epitácio Pessoa–PB. **Revista OKARA: Geografia em debate**, v. 11, n. 2, p. 225-236, 2017. DOI: 10.22478/ufpb.1982-3878.2017v11n2.37657

SILVA, R. D. S.; SEVERIANO, J. S.; OLIVEIRA, D. A.; MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; CHIA, M. A.; BARBOSA, J. E. L. Spatio-temporal variation of cyanobacteria and cyanotoxins in public supply reservoirs of the semi-arid region of Brazil. **Journal of Limnology**, v. 79, n. 1, p. 13-29, 2020. DOI: 10.4081/jlimnol.2019.1893

SIVONEN, K.; NIEMELÄ, S. I.; NIEMI, R. M.; LEPISTÖ, L.; LUOMA, T. H.; RÄSÄNEN, L. A. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters. **Hydrobiologia**, v. 190, n. 3, p. 267-275, 1990.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial Toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E&FN Spon; 1999.

THORNTON, J. A.; RAST, W. A test of hypotheses relating to the comparative limnology and assessment of eutrophication in semi-arid man-made lakes. **Comparative reservoir limnology and water quality management**, p. 1-24, 1993.

WHO. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in Drinking-water. Guidelines for drinking-water quality. 4 ed. Geneva: World Health Organization, 2001.

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HRUDEY, S. E. **Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide**. American Water Works Association, 1995.

ZAMORA-BARRIOS, C. A.; NANDINI, S.; SARMA, S. S. S. Bioaccumulation of microcystins in seston, zooplankton and fish: A case study in Lake Zumpango, Mexico. **Environmental pollution**, v. 249, p. 267-276, 2019.

ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. **Toxins**, v. 5, n. 10, p. 1896-1917, 2013. DOI: 10.3390/toxins5101896

ZHANG, Y.; WHALEN, J. K.; SAUVÉ, S. Phytotoxicity and bioconcentration of microcystins in agricultural plants: Meta-analysis and risk assessment. **Environmental Pollution**, v. 272, p. 115966, 2021. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115966

CAPÍTULO III – Bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas: influências do solvente de extração, higienização e idade da planta

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacumulação de microcistinas (MCs), cilindropermopsina (CYN) e saxitoxina (STX) em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas de um reservatório superficial no semiárido brasileiro, bem como a eficiência dos solventes água e metanol na extração de MCs, CYN e STX dos tecidos vegetais e as influências do uso de hipoclorito de sódio (NaClO) na higienização das hortaliças e da idade da planta nas concentrações de MCs, CYN e STX acumuladas. O estudo foi realizado em uma propriedade rural localizada no município de Pocinhos-PB, que apresentava cultivos de alface e coentro. A água de irrigação foi avaliada em termos de parâmetros físico-químicos e cianotoxinas: MCs, CYN e STX. As análises de cianotoxinas também foram realizadas nas hortaliças, a partir dos extratos das folhas, para avaliação da bioacumulação. As amostras vegetais foram suavemente lavadas com água destilada para remoção de detritos e parte delas foi higienizada com solução de NaClO. Na extração de MCs, CYN e STX dos tecidos vegetais foi testado o uso de água destilada e metanol como solventes, em amostras de alface e coentro coletadas com 29 e 36 dias de cultivo. Constatou-se que a água do reservatório estudado estava eutrofizada e continha MCs, CYN e STX, onde as MCs excederam em 4,88 vezes o limite estabelecido pela portaria de potabilidade brasileira. Com relação às hortaliças alface e coentro: o metanol demonstrou ser o solvente mais adequado para extração de MCs, CYN e STX, a higienização com NaClO não foi eficaz na remoção destas toxinas e a idade da planta exerceu influência positiva na depuração de CYN, porém o mesmo não foi observado para MCs e STX. Por fim, constatou-se que os consumos diários estimados (CDEs) de MCs a partir do coentro excederam em até 3,61 vezes a ingestão diária total (IDT) recomendada pela OMS, e que 70 g da alface estudada também seriam suficientes para ultrapassar o IDT de MCs. Os CDEs de CYN e STX a partir da alface e do coentro foram menores que os IDTs recomendados. Apesar disso, ficou evidente que a bioacumulação de cianotoxinas em plantas agrícolas irrigadas com águas eutrofizadas constitui uma nova rota de contaminação humana e pode ser considerada um problema iminente devido à crescente exploração dos recursos hídricos e degradação da qualidade das águas em mananciais do semiárido.

Palavras-chave: Cilindropermopsina. Desinfecção. Eutrofização. Microcistinas. Saxitoxina.

Bioaccumulation of cyanotoxins in vegetables irrigated with eutrophicated waters: influences of extraction solvent, hygiene and plant age

Abstract

The objective of this work was to evaluate the bioaccumulation of microcystins (MCs), cylindrospermopsin (CYN) and saxitoxin (STX) in vegetables irrigated with eutrophicated waters from a surface reservoir in the Brazilian semi-arid region, as well as the efficiency of the solvents water and methanol in the extraction of MCs, CYN and STX of plant tissues and the influences of the use of sodium hypochlorite (NaClO) in the hygiene of vegetables and the age of the plant on the concentrations of MCs, CYN and STX accumulated. The study was carried out on a rural property located in the municipality of Pocinhos-PB, which had lettuce

and coriander crops. The irrigation water was evaluated in terms of physicochemical parameters and cyanotoxins: MCs, CYN and STX. Cyanotoxin analyzes were also carried out on vegetables, using leaf extracts, to evaluate bioaccumulation. The plant samples were gently washed with distilled water to remove debris and part of them was sanitized with NaClO solution. In the extraction of MCs, CYN and STX from plant tissues, the use of distilled water and methanol as solvents was tested in lettuce and coriander samples collected after 29 and 36 days of cultivation. It was found that the water in the studied reservoir was eutrophic and contained MCs, CYN and STX, where the MCs exceeded the limit established by the Brazilian potability ordinance by 4.88 times. Regarding lettuce and coriander vegetables: methanol proved to be the most suitable solvent for extracting MCs, CYN and STX, cleaning with NaClO was not effective in removing these toxins and the age of the plant had a positive influence on the clearance of CYN, however the same was not observed for MCs and STX. Finally, it was found that the estimated daily intakes (EDCs) of MCs from coriander exceeded the total daily intake (TDI) recommended by the WHO by up to 3.61 times, and that 70 g of the lettuce studied would also be enough to exceed the IDT of MCs. The CDEs of CYN and STX from lettuce and coriander were lower than the recommended TDIs. Despite this, it became evident that the bioaccumulation of cyanotoxins in agricultural plants irrigated with eutrophicated water constitutes a new route of human contamination and can be considered an imminent problem due to the increasing exploitation of water resources and degradation of water quality in semiarid springs.

Keywords: Cyndrospermopsin. Disinfection. Eutrophication. Microcystins. Saxitoxin.

3.1 Introdução

O semiárido brasileiro é caracterizado por um clima árido, com chuvas escassas e longos períodos de seca, o que torna a água um recurso essencial e escasso na região. Nesse contexto, os reservatórios artificiais desempenham um papel fundamental no abastecimento de água para diversas atividades, como consumo humano, agricultura e piscicultura. No entanto, esses corpos d'água têm enfrentado desafios significativos relacionados à eutrofização, um processo que afeta negativamente a qualidade da água e pode acarretar em impactos sérios na saúde humana e no meio ambiente (LIMA et al., 2022; PRAXEDES et al., 2023).

A eutrofização ocorre quando há um excesso de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, na água, geralmente decorrente de atividades humanas, como o despejo de esgoto e o uso de fertilizantes na agricultura. Esse fenômeno, aliado ao aumento da temperatura da superfície da água em uma coluna d'água estável e ao elevado tempo de residência dos reservatórios do semiárido, tem estimulado o crescimento excessivo de cianobactérias, criando uma condição conhecida como floração ou *bloom* (CHORUS; BARTRAM, 1999; CORDEIRO et al., 2021; SIVONEN; JONES, 1999; LIMA et al., 2022; PRAXEDES et al., 2023).

Algumas espécies de cianobactérias podem produzir cianotoxinas, metabólitos tóxicos para humanos e outros mamíferos, aves, peixes, crustáceos, moluscos e zooplâncton, capazes

de ocasionar danos ao fígado, citotoxicidade, neurotoxicidade, distúrbios gastrointestinais, toxicidade cutânea e até mesmo a morte. Estima-se que cerca de 50 a 70% das florações de cianobactérias apresentem espécies tóxicas (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; SIVONEN et al., 1990; SIVONEN; JONES, 1999; YOO et al., 1995).

Grande parte dos estudos envolvendo cianotoxinas concentram-se nas microcistinas (MCs), devido à predominância de espécies produtoras destas toxinas em água doce, à sua persistência no ambiente aquático e também ao maior conhecimento sobre sua toxicologia e mecanismos de ação (FERRÃO-FILHO, 2009; DJEDIAT et al., 2010; SANCHES et al., 2012; BAVITHRA et al., 2020).

Entretanto, é importante também direcionar a atenção para outras cianotoxinas, como a cilindrospermopsina (CYN), que é produzida por algumas espécies de cianobactérias e tem sido associada a efeitos adversos na saúde humana, incluindo danos ao fígado e rins, e a saxitoxina (STX), que é a principal toxina responsável pela intoxicação conhecida como envenenamento por marisco, que ocorre quando moluscos filtradores acumulam esta toxina em suas carnes, tornando-as perigosas para o consumo humano (ABDALLAH et al., 2021; CORDEIRO et al., 2021).

A exposição humana às cianotoxinas através da água pode ocorrer por diferentes formas, incluindo a ingestão de água contaminada e o contato em atividades recreativas (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Outra via estudada é o consumo de animais aquáticos como peixes, moluscos e crustáceos, que podem absorver e acumular cianotoxinas em seus corpos e transportar para níveis superiores da cadeia trófica (ABDALLAH et al., 2021; FERRÃO-FILHO, 2009; ZAMORA-BARRIOS; NANDINI; SARMA, 2019).

No entanto, à medida em que os problemas com florações de cianobactérias se tornaram mais frequentes e reconhecidos em todo o mundo, o consumo de hortaliças irrigadas com águas contaminadas por cianobactérias tóxicas se tornou uma preocupação, devido ao potencial de bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais (CORDEIRO-ARAÚJO; CHIA; BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2017; WERALUPITIYA et al., 2022). Hortaliças como alface e coentro são amplamente consumidas no Brasil e em outras regiões do mundo, o que torna a contaminação por cianotoxinas uma questão de saúde pública. Portanto, é essencial conduzir estudos sobre a bioacumulação de MCs, CYN e STX em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas de reservatórios do semiárido.

O potencial de bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças depende de diversos fatores, incluindo o tipo de cianotoxina presente na água ou no solo, a concentração inicial da toxina, o tempo e a frequência de exposição, bem como as características das próprias hortaliças

(WERALUPITIYA et al., 2022). Além disso, um fenômeno que tem sido relatado em algumas espécies de hortaliças, como pimentão e tomate, e que requer mais estudos, é a depuração das cianotoxinas durante o crescimento e amadurecimento vegetal (GUTIÉRREZ-PRAENA et al., 2014; NERY; NERY; MEDEIROS, 2020).

Sabe-se que a higienização adequada das hortaliças antes do consumo é essencial para remoção de sujeira e resíduos, redução de patógenos e garantia da segurança alimentar. No entanto, esse processo pode não ser suficiente para a remoção de cianotoxinas em hortaliças contaminadas. Codd, Metcalf e Beattie (1999) verificaram que MCs foram retidas em alfaces irrigadas por aspersão de água contendo cianobactérias e, mesmo após lavagem, tanto as células como as MCs não foram completamente removidas.

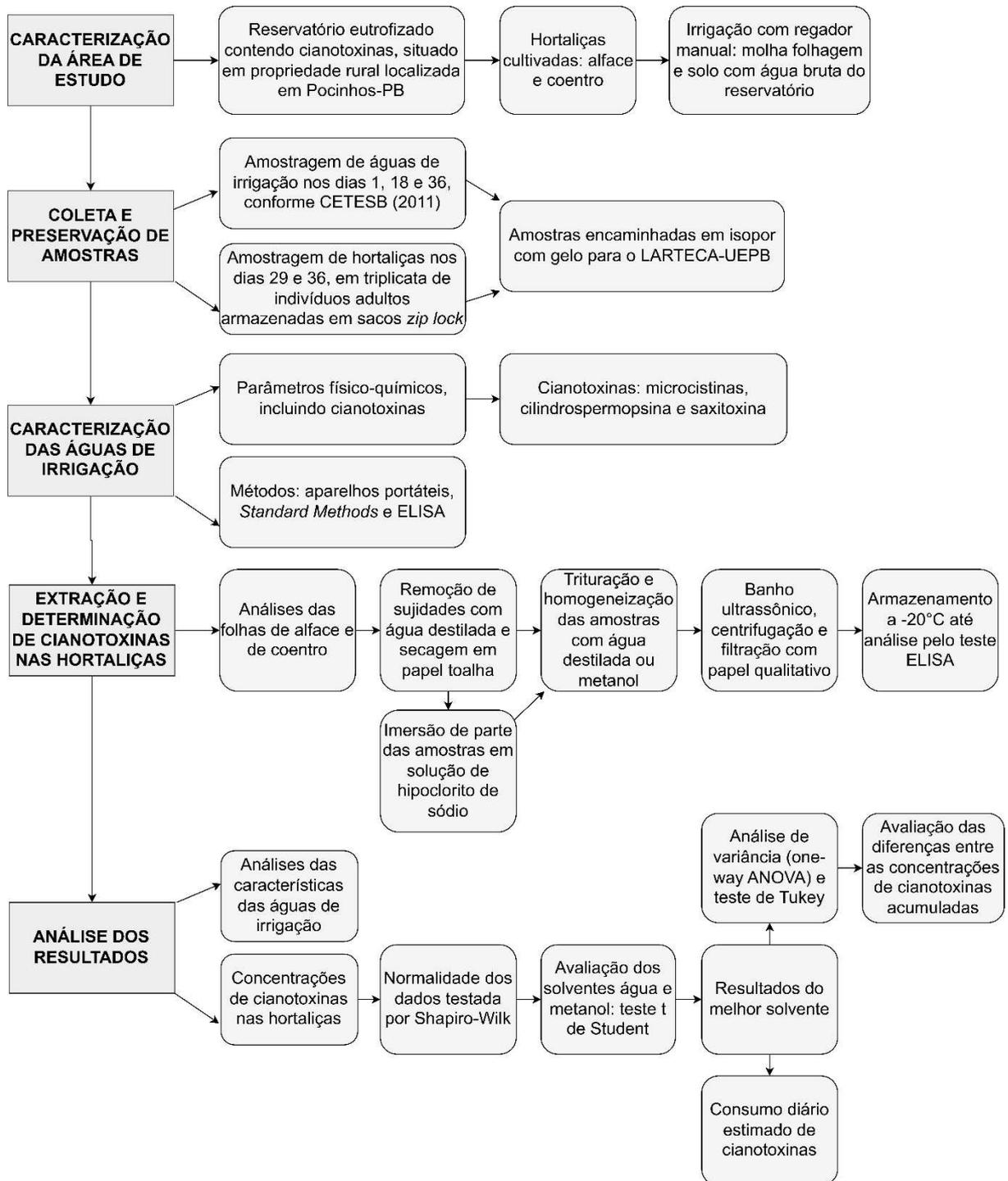
Contudo, estudos indicam que o cloro dissolvido na água pode quebrar as moléculas de cianotoxinas. Kamp et al. (2016) verificaram que a concentração de STX em água clorada foi reduzida em 85% após 15 min. Os autores observaram que a CYN também foi degradada na presença do cloro, porém de forma mais lenta, obtendo-se uma redução de 40% após 24 h. Com base nisso, o uso de hipoclorito de sódio na higienização de hortaliças pode apresentar potencial para a degradação de cianotoxinas.

A partir da problemática abordada, o objetivo deste trabalho foi avaliar a bioacumulação de MCs, CYN e STX em alface e coentro irrigados com águas eutrofizadas de um reservatório superficial localizado em Pocinhos, Paraíba, no semiárido brasileiro, considerando a eficiência dos solventes água destilada e metanol na extração de MCs, CYN e STX dos tecidos vegetais e as influências do uso de hipoclorito de sódio na higienização das hortaliças estudadas e da idade da planta nas concentrações de MCs, CYN e STX acumuladas.

3.2 Metodologia

Com base nos objetivos propostos, a metodologia desse capítulo foi dividida em cinco etapas: (i) caracterização da área de estudo, (ii) coleta e preservação de amostras, (iii) caracterização das águas de irrigação, (iv) extração e determinação de cianotoxinas nas hortaliças e (v) análise dos resultados, esquematizadas na Figura 4.

Figura 4 – Fluxograma das etapas metodológicas empregadas no Capítulo III



Fonte: elaborado pelo autor.

3.2.1 Caracterização da área de estudo

O estudo foi realizado em uma propriedade localizada na zona rural do município de Pocinhos, Paraíba, a 10 km do seu centro urbano e 7 km do distrito de São José da Mata, pertencente à cidade de Campina Grande, Paraíba. Na localidade foram identificados cultivos

de alface e coentro irrigados com águas eutrofizadas de um reservatório superficial (Figura 5), conforme estudo anterior realizado na área (dados não publicados).

Figura 5 – Localização do reservatório em estudo, situado na zona rural de Pocinhos, Paraíba



Fonte: elaborado pelo autor.

O reservatório é artificial, com capacidade de armazenamento aproximada de 105 m³ de água, construído em uma área de lajedo de pedras e utilizado para armazenar águas de chuva. Devido à sua eutrofização natural, resultante do aporte de resíduos e nutrientes através do escoamento superficial e dos ventos, tem sido empregado apenas na irrigação de hortaliças e culturas arbóreas existentes na propriedade.

Os cultivos de alface e coentro avaliados foram realizados em vasos de 20 L e serviam apenas para consumo dos moradores locais. A irrigação era manual, realizada diariamente ou quando havia necessidade, com regador contendo água bruta do reservatório. As áreas molhadas eram as folhas e o solo e as hortaliças foram cultivadas a céu aberto, estando expostas à radiação solar direta e chuvas, quando ocorriam.

3.2.2 Coleta e preservação de amostras

A semeadura de alface e coentro na propriedade foi feita em 24 de fevereiro de 2023 (dia 1). As coletas de amostras vegetais foram realizadas em triplicata de indivíduos, sendo estes armazenados em sacos plásticos, nos dias 29 e 36 de idade vegetal, quando as hortaliças já estavam em tamanhos adequados para o consumo. A análise de amostras de dias diferentes foi com o intuito de avaliar a influência da idade da planta na bioacumulação de MCs, CYN e STX.

A coleta de água de irrigação foi realizada diretamente na superfície do reservatório no dia da semeadura e nos dias correspondentes à metade e ao fim do período dos cultivos, dias 1, 18 e 36, respectivamente. A coleta, preservação e armazenamento das amostras de água foi realizado de acordo com o Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011).

Todas as amostras de águas e vegetais foram encaminhadas, em caixas de isopor com gelo, para o Laboratório de Referência em Tecnologia de Águas (LARTECA), localizado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), onde foram realizadas as análises.

3.2.3 Caracterização da água de irrigação

Foram determinados *in loco* os parâmetros sólidos totais dissolvidos, por meio de sonda multimétrica (HANNA HI 9829), e pH e temperatura, através de pHmetro portátil (KASVI). Os demais parâmetros foram analisados no LARTECA/UEPB, sendo as análises realizadas em triplicata. O Quadro 8 elenca os parâmetros físico-químicos determinados na água de irrigação e seus métodos de análise.

Quadro 8 – Parâmetros físico-químicos e metodologias empregadas nas análises

Parâmetro	Método
Cor aparente	Colorímetro portátil (PoliControl AquaColor Cor)
Turbidez	Turbidímetro portátil (PoliControl AP2000)
Sólidos dissolvidos totais (STD)	Sonda multimétrica modelo HANNA HI 9829
pH	pHmetro portátil (KASVI)
Temperatura	pHmetro portátil (KASVI)
Fósforo total (Ptotal)	Colorímetro portátil HANNA Checker HC®
Clorofila <i>a</i>	Espectrofotométrico (10200H)*
Microcistinas (MCs)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)
Cilindrospermopsina (CYN)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)
Saxitoxina (STX)	Imunoenzimático ELISA (Eurofins Abraxis)

Legenda: (*) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA; AWWA; WPCF, 2012).

Fonte: elaborado pelo autor.

As concentrações totais de cianotoxinas na água foram determinadas em triplicata pelo método imunoenzimático ELISA através de kits Abraxis (Warminster, PA, EUA) específicos para cada toxina. A metodologia seguiu o protocolo do fabricante e a leitura das amostras foi realizada em uma leitora de microplacas ELISA com comprimento de onda de 450 nm. Para extrair as toxinas das células foram efetuados três ciclos de congelamento e descongelamento das amostras, conforme Silva et al. (2020).

3.2.4 Extração e determinação de cianotoxinas nas hortaliças

A extração de cianotoxinas dos tecidos vegetais foi realizada com base nos protocolos estabelecidos por Bittencourt-Oliveira et al. (2016) e Levizou et al. (2017), com adaptações.

Essa etapa geralmente envolve o uso de solventes, que são selecionados em função do tipo de cianotoxina que se deseja extrair e do método analítico a ser utilizado para a análise. O metanol, assim como suas combinações com água, é um dos principais solventes empregados, devido à sua elevada eficiência na recuperação dos níveis de cianotoxinas de amostras vegetais (MANUBOLU et al., 2018; VAN HASSEL et al., 2022).

No entanto, apesar de suas vantagens, o metanol é um produto tóxico, o que destaca a possibilidade do uso de solventes alternativos mais seguros, como a água, que foi empregada por Bittencourt-Oliveira et al. (2016) como solvente de homogeneização durante a extração de MCs de amostras de alface. Contudo, a eficiência da água na extração de cianotoxinas em comparação com o metanol requer estudos. Com base nisso, os dois solventes foram testados neste estudo.

Em laboratório, as amostras coletadas em triplicata foram suavemente lavadas com água destilada, para remoção de possíveis sujidades, e secas suavemente com papel absorvente. Lee et al. (2017) verificaram que essa etapa não altera as concentrações de cianotoxinas acumuladas nas hortaliças. Em seguida, de cada triplicata de amostras, as partes a serem analisadas (folhas) foram misturadas para formar uma amostra composta.

Posteriormente, cada amostra composta foi dividida em duas partes. A primeira, lavada apenas com água destilada, foi chamada de controle. A segunda, foi imersa em solução de água com hipoclorito de sódio (NaClO) por 30 min, conforme recomendações do Ministério da Saúde para higienização de hortaliças (1 colher de sopa de NaClO a 2,5% para 1 L de água).

O intuito desta etapa foi avaliar se a higienização com NaClO promove a redução das concentrações de cianotoxinas acumuladas nas plantas. Após os 30 min, as amostras imersas

em solução de NaClO foram lavadas com água corrente de abastecimento e secas suavemente com papel absorvente.

Em seguida, com almofariz e pistilo, realizou-se a trituração de 5 g de massa fresca de cada amostra composta: alface-c, alface-h, coentro-c e coentro-h, onde “c” representa controle e “h” hipoclorito de sódio. Após a trituração, cada amostra foi homogeneizada com 50 mL de solvente. Foram testados dois solventes, água destilada e metanol, a fim de determinar o mais adequado para o processo de extração.

Os extratos obtidos foram levados para banho ultrassônico (15 w e 22,5 KHz) por 16 min, para o rompimento celular. Em seguida, foram centrifugados por 20 min a 4000 rpm e os sobrenadantes filtrados em filtro de papel qualitativo e armazenados a -20 °C até a quantificação de MCs, CYN e STX pelo método ELISA (kits Abraxis), cujas análises foram efetuadas em triplicata para cada amostra. O procedimento descrito foi realizado para as amostras de 29 e 36 dias.

3.2.5 Análise dos resultados

No Brasil, não há regulamentação das concentrações de MCs, CYN e STX em águas de irrigação, contudo, a portaria de potabilidade para águas de abastecimento (Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021, que altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017) estabelece os limites máximos de 1,0 µg.L⁻¹ para MCs, 1,0 µg.L⁻¹ para CYN e 3,0 µg.L⁻¹ para STX, sendo estes os padrões considerados para o estudo. Em relação ao estado trófico da água, adotou-se a classificação de Thornton e Rast (1993), adequada para regiões semiáridas.

Com relação à bioacumulação de cianotoxinas nas hortaliças, o Quadro 9 apresenta de forma esquematizada os dados obtidos neste estudo. Observa-se que, para cada dia de cultivo (29 ou 36) e cianotoxina (MCs, CYN ou STX), um par de médias foi obtido por amostra, sendo um valor para a extração com água destilada e outro para a com metanol.

A fim de definir qual solvente, dentre água destilada e metanol, é o mais adequado para extração de MCs, CYN e STX das hortaliças estudadas, os pares de resultados correspondentes à cada amostra foram submetidos ao teste t de Student bicaudal.

Após a determinação do solvente mais adequado, os dados correspondentes ao mesmo foram submetidos à análise de variância (one-way ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey, onde foram avaliadas as diferenças entre as amostras com e sem o uso de hipoclorito de sódio na higienização e em cada tempo de cultivo. A normalidade dos dados foi

testada pelo teste de Shapiro-Wilk. As análises estatísticas foram realizadas considerando um nível de significância de 5%, a partir dos softwares Excel 2016, Past 4.13 e Statistica 10.0 (HAMMER; HARPER, 2001; STATSOFT, 2011).

Quadro 9 – Esquematização dos dados obtidos no estudo

Hortaliças coletadas no dia 29		Hortaliças coletadas no dia 36	
Cianotoxina: MCs, CYN ou STX ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
Amostra	Resultados	Amostra	Resultados
alface-c	água destilada	alface-c	água destilada
	metanol		metanol
alface-h	água destilada	alface-h	água destilada
	metanol		metanol
coentro-c	água destilada	coentro-c	água destilada
	metanol		metanol
coentro-h	água destilada	coentro-h	água destilada
	metanol		metanol

Fonte: elaborado pelo autor.

Devido ao potencial de bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que a ingestão diária total (IDT) de MCs para humanos não deve exceder $0,04 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corpóreo (WHO, 2001). Com relação à CYN, um IDT provisório de $0,03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ foi estabelecido por Humpage e Falconer (2003). Já para STX, a Autoridade de Saúde do Oregon (OHA) determinou um IDT de $0,05 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (FARRER et al., 2015).

Neste trabalho, para avaliar os impactos da bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais, calculou-se o consumo diário estimado (CDE) de MCs, CYN e STX (Equação 1) para cada hortaliça e comparou-se os resultados com os IDTs recomendados.

$$\text{CDE } (\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}) = (\text{CCH} * \text{CMDH}) / \text{PC} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: CCH é a concentração de cianotoxina na hortaliça ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), CMDH é o consumo médio diário de hortaliças (g) e PC é o peso do consumidor (kg). Para o cálculo considerou-se que uma pessoa de 60 kg consome em média 40 g de hortaliças por dia (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016; LEVIZOU et al., 2017).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Caracterização da água de irrigação

A Tabela 4 apresenta os dados de caracterização físico-química da água do reservatório empregada na irrigação de alface e coentro da propriedade estudada. Os dados correspondem às características da água de irrigação nos dias 1, 18 e 36 de cultivo das hortaliças supracitadas.

Tabela 4 – Caracterização da água de irrigação em termos de parâmetros físico-químicos

Parâmetro	Dia do cultivo		
	01	18	36
Cor aparente (uC)	196,50 ± 1,50	188,00 ± 4,00	181,00 ± 1,00
Turbidez (uT)	27,45 ± 0,35	25,20 ± 1,30	22,60 ± 0,50
Sólidos dissolvidos totais (STD) (mg.L ⁻¹)	61,00 ± 1,00	57,50 ± 1,50	53,50 ± 0,50
pH	7,25 ± 0,04	7,13 ± 0,03	7,06 ± 0,06
Temperatura (°C)	25,35 ± 0,05	24,30 ± 0,90	23,15 ± 0,05
Fósforo total (Ptotal) (mg.L ⁻¹)	900,00 ± 100,00	650,00 ± 50,00	550,00 ± 50,00
Clorofila <i>a</i> (µg.L ⁻¹)	488,01 ± 20,38	464,03 ± 1,20	448,44 ± 9,59
Microcistinas (MCs) (µg.L ⁻¹)	2,26 ± 0,29	2,72 ± 0,23	4,88 ± 0,01
Cilindrospermopsina (CYN) (µg.L ⁻¹)	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,09 ± 0,01
Saxitoxina (STX) (µg.L ⁻¹)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00

Fonte: autor.

Thornton e Rast (1993) definem que a partir de 60 µg.L⁻¹ de fósforo total e 12 µg.L⁻¹ de clorofila *a* o ambiente pode ser classificado como eutrófico, em regiões semiáridas. Com base nos resultados apresentados na Tabela 4, pode-se constatar que a água do reservatório estava eutrofizada durante o período de cultivo das hortaliças estudadas.

Silva et al. (2020) avaliaram a distribuição espaço-temporal de cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do semiárido e constataram que variáveis físico-químicas, como volume de água do reservatório, transparência da água e concentração de Ptotal, influenciam na abundância de cianobactérias e nos níveis de cianotoxinas. Lima et al. (2022) monitoraram a qualidade da água de um reservatório superficial do semiárido brasileiro durante os períodos seco e chuvoso e constataram que elevados valores de parâmetros como cor aparente, turbidez, sólidos totais e Ptotal, propiciam condições favoráveis para o crescimento de diversas espécies de cianobactérias, dentre elas espécies produtoras de CYN e STX.

O reservatório estudado, além de estar eutrofizado, apresentou elevados valores de cor aparente, turbidez e sólidos dissolvidos totais, o que indica que o mesmo se encontrava em condições favoráveis para o crescimento de cianobactérias. Um indicativo disso são as elevadas

concentrações de clorofila *a* detectadas que, conforme a portaria de potabilidade brasileira (BRASIL, 2021), é um indicador de potencial aumento da contagem de cianobactérias na água.

Segundo a Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005, as águas doces que podem ser utilizadas na irrigação de hortaliças que são consumidas cruas são as águas de classe I. Os valores de P_{total} e clorofila *a* detectados na água do reservatório em estudo excedem os padrões máximos estabelecidos para a classe I de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente, não sendo uma água apropriada para irrigação de alface e coentro, durante o período estudado.

A Resolução CONAMA nº 357 não dispõe de padrões de cianotoxinas para as classes de água empregadas na irrigação. Por outro lado, a portaria de potabilidade brasileira (BRASIL, 2021) estabelece os limites máximos de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ para MCs, $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ para CYN e $3,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ para STX em águas de abastecimento. Com base nisso, verifica-se que, durante o período estudado, as concentrações de MCs no reservatório se mantiveram acima do limite máximo, chegando a 4,88 vezes o seu valor, enquanto que os níveis de CYN e STX permaneceram em conformidade com a referida portaria.

Uma justificativa para os baixos níveis de CYN e STX na água estudada é a provável dominância de espécies de cianobactérias produtoras de microcistinas (MCs). Um estudo feito entre julho e agosto de 2022 com a mesma água (dados não publicados) identificou a presença de MCs e CYN em concentrações entre $1,00\text{-}2,51 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,04\text{-}0,06 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente, corroborando a predominância de gêneros produtores de MCs nesse reservatório.

3.3.2 Determinação do melhor solvente para extração de cianotoxinas em alface e coentro e bioacumulação de cianotoxinas nos tecidos vegetais

Em estudos de quantificação de cianotoxinas em tecidos vegetais, diversos solventes tem sido utilizados para homogeneização das amostras no processo de extração, incluindo água deionizada pura (BITTENCOURT-OLIVEIRA et al., 2016), 100% metanol (LEVIZOU et al., 2017), 75% metanol (LEVIZOU et al., 2020) e 50% metanol (GUTIÉRREZ-PRAENA et al., 2014). No entanto, estudos comparativos entre esses ou outros solventes são escassos, o que reforça a relevância deste trabalho.

A Tabela 5 apresenta as concentrações de MCs, CYN e STX detectadas na alface e no coentro coletados com 29 e 36 dias, para os solventes água destilada e metanol.

Tabela 5 – Concentrações de cianotoxinas detectadas nas hortaliças estudadas e p-valores do teste t de Student para diferentes tempos de cultivo e solventes de extração

HORTALIÇAS COLETADAS NO DIA 29				HORTALIÇAS COLETADAS NO DIA 36			
Microcistinas							
Amostra	Solvente	Concentração de MCs ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	p-valor	Amostra	Solvente	Concentração de MCs ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	p-valor
alface-c	água destilada	2,48 ± 0,16	0,0004	alface-c	água destilada	2,85 ± 0,40	0,0068
	metanol	27,09 ± 0,63			metanol	35,65 ± 4,70	
alface-h	água destilada	2,65 ± 0,05	0,0000	alface-h	água destilada	2,13 ± 0,21	0,0018
	metanol	21,05 ± 0,12			metanol	25,15 ± 1,67	
coentro-c	água destilada	15,67 ± 0,74	0,0011	coentro-c	água destilada	11,98 ± 0,48	0,0009
	metanol	216,55 ± 9,52			metanol	192,66 ± 9,58	
coentro-h	água destilada	15,74 ± 0,89	0,0100	coentro-h	água destilada	13,34 ± 0,98	0,0000
	metanol	143,84 ± 18,25			metanol	151,02 ± 2,08	
Cilindrospermopsina							
Amostra	Solvente	Concentração de CYN ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	p-valor	Amostra	Solvente	Concentração de CYN ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	p-valor
alface-c	água destilada	1,00 ± 0,16	0,0167	alface-c	água destilada	1,27 ± 0,12	0,0873
	metanol	6,72 ± 1,05			metanol	3,12 ± 0,34	
alface-h	água destilada	1,65 ± 0,11	0,0145	alface-h	água destilada	0,83 ± 0,12	0,0131
	metanol	5,68 ± 0,69			metanol	2,12 ± 0,17	
coentro-c	água destilada	2,75 ± 0,45	0,0244	coentro-c	água destilada	1,55 ± 0,15	0,0028
	metanol	8,08 ± 0,72			metanol	5,44 ± 0,20	
coentro-h	água destilada	2,87 ± 0,17	0,0029	coentro-h	água destilada	2,05 ± 0,05	0,0527
	metanol	7,16 ± 0,20			metanol	3,71 ± 0,68	
Saxitoxina							
Amostra	Solvente	Concentração de STX ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	p-valor	Amostra	Solvente	Concentração de STX ($\eta\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	p-valor
alface-c	água destilada	0,20 ± 0,02	0,0169	alface-c	água destilada	0,23 ± 0,01	0,0060
	metanol	1,79 ± 0,29			metanol	4,44 ± 0,28	
alface-h	água destilada	0,37 ± 0,06	0,1347	alface-h	água destilada	0,30 ± 0,05	0,0115
	metanol	1,32 ± 0,20			metanol	2,92 ± 0,28	
coentro-c	água destilada	0,48 ± 0,06	0,0048	coentro-c	água destilada	0,60 ± 0,08	0,0119
	metanol	2,42 ± 0,44			metanol	3,33 ± 0,51	
coentro-h	água destilada	0,55 ± 0,06	0,0770	coentro-h	água destilada	0,48 ± 0,07	0,0046
	metanol	3,20 ± 0,32			metanol	2,75 ± 0,26	

Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; $p < 0,05$ indica que há diferença estatisticamente significativa entre as médias de água e metanol. Fonte: autor.

Comparando-se os resultados obtidos entre as extrações com água destilada e metanol (Tabela 5), para cada amostra dos dias 29 e 36, observa-se que o metanol retornou as maiores concentrações de MCs, CYN e STX. Além disso, a partir do teste t de Student, constatou-se diferença estatisticamente significativa (p -valor $< 0,05$) entre os resultados dos dois solventes em 100% dos pares analisados para MCs e em 75% dos pares para CYN e STX, o que indica que o uso de metanol é mais adequado para a extração de cianotoxinas em alface e coentro que o de água destilada.

Manubolu et al. (2018) compararam a eficiência de três solventes: metanol:água (50:50), metanol:água:ácido trifluoroacético (80:19:1) e EDTA 0,01 M com ácido acético a 5%, para a extração de MCs de alface e verificaram que o solvente metanol:água (50:50) recuperou as maiores concentrações. Borges (2008) testou a extração de MC-LR em uma água eutrofizada com quatro proporções diferentes de água:metanol e verificou que quanto maior a proporção de metanol, maior a concentração de MC-LR obtida. Já Jiménez et al. (2020) testaram diferentes concentrações de metanol para extração de cianotoxinas em mexilhões e constataram que, para um rendimento máximo de CYN, a concentração ideal de metanol seria de 98%.

Os estudos mencionados corroboram os resultados obtidos neste trabalho, que destacam o potencial do metanol como solvente para a extração de cianotoxinas de tecidos vegetais. Isso se deve às suas características, como polaridade e capacidade de solvatação, que o tornam capaz de interagir com moléculas polares, como as cianotoxinas; baixa viscosidade, que facilita sua penetração nos tecidos vegetais; e estabilidade química, que ajuda a preservar os compostos extraídos para posterior quantificação.

Apesar disso, o metanol é um produto tóxico e seu uso deve ser realizado com cautela e em conformidade com as normas de segurança estabelecidas. A intoxicação por metanol pode causar uma série de sintomas e danos graves aos órgãos, incluindo o sistema nervoso, os rins e o fígado, resultando em dor de cabeça, náusea, vômito, tontura, problemas de visão, dificuldade respiratória e até mesmo a morte (DE ASSIS et al., 2017; SOUZA et al., 2018).

A partir da constatação do metanol como o solvente mais adequado neste estudo para a extração de cianotoxinas em alface e coentro, em comparação à água destilada, a avaliação dos resultados de bioacumulação e a aplicação da one-way ANOVA seguida do teste de Tukey foram realizados considerando apenas os dados obtidos com esse solvente.

Observa-se que as concentrações de MCs, CYN e STX presentes na água de irrigação (Tabela 4) promoveram bioacumulação na alface e no coentro (Tabela 5). Vale salientar que os baixos níveis de CYN e STX na água, mesmo abaixo dos padrões estabelecidos pela portaria de potabilidade, foram suficientes para promover o acúmulo nas hortaliças estudadas.

As MCs, assim como verificado no Capítulo II, foram as cianotoxinas que apresentaram o maior potencial de bioacumulação, sendo detectadas em concentrações máximas de 25,15 ng.g^{-1} na alface e 216,55 ng.g^{-1} no coentro, enquanto que os teores máximos de CYN e STX foram de 6,72 e 4,44 ng.g^{-1} na alface e 8,08 e 3,33 ng.g^{-1} no coentro, respectivamente.

No caso deste estudo, as altas concentrações de MCs na água de irrigação (entre 2,26-4,88 $\mu\text{g.L}^{-1}$) quando comparadas às de CYN (0,09-0,13 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e STX (0,02 $\mu\text{g.L}^{-1}$) podem ter exercido influência para o maior acúmulo. Entretanto, no Capítulo II, verificou-se que, mesmo em concentrações semelhantes na água, MCs geraram maior bioacumulação que CYN em todas as hortaliças estudadas. Isso pode estar relacionado à elevada estabilidade das MCs nas águas de irrigação e à sua estrutura química (peptídeos), que podem favorecer sua absorção pela planta em uma possível competição com as demais cianotoxinas.

Com relação à espécie vegetal, o coentro demonstrou maior propensão à bioacumulação de MCs quando comparado à alface, com concentração acumulada até 8x maior (216,55 ng.g^{-1} em coentro-c e 27,09 ng.g^{-1} em alface-c). Isso corrobora os resultados obtidos no Capítulo II, onde o coentro também foi a hortaliça que sofreu maior acúmulo de MCs.

3.3.3 Influências da higienização com hipoclorito de sódio e da idade da planta nas concentrações de cianotoxinas acumuladas em alface

As Figuras 6, 7 e 8 ilustram a variabilidade das concentrações de MCs, CYN e STX e os resultados do teste de Tukey para as amostras de alface.

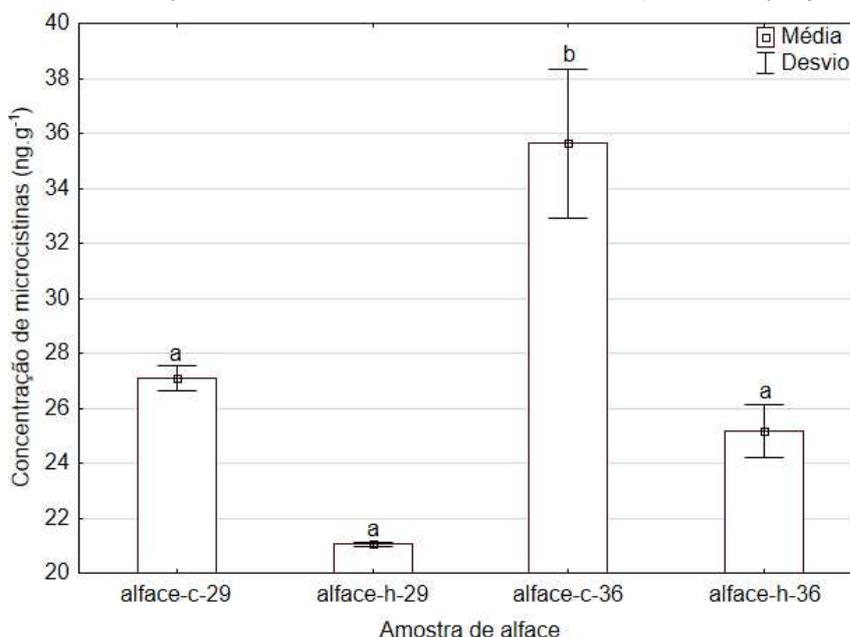
A partir da Figura 6 é possível observar que a higienização com hipoclorito de sódio (NaClO) não exerceu influência significativa entre os níveis de MCs das amostras alface-c-29 e alface-h-29, visto que são estatisticamente semelhantes. Contudo, entre as amostras alface-c-36 e alface-h-36 houve diferença significativa.

Kamp et al. (2016) observaram que uma dose de 0,7 mg.L^{-1} de cloro dissolvido na água foi capaz de remover 50% de 1 $\mu\text{gMCs.L}^{-1}$ em 15 min. Já Merel, Yan e Song (2020) apontam que as MCs são rapidamente transformadas na presença do cloro, porém, a remoção depende em grande parte de fatores experimentais, que incluem a natureza e a dose do agente oxidante, bem como o pH da água, que deve ser mantido abaixo de 8 para uma remoção eficaz.

Neste estudo, a higienização de alface com NaClO não promoveu remoções elevadas das concentrações de MCs acumuladas. Vale salientar que a dosagem empregada foi de 1 colher de sopa (15 mL) de NaClO 2,5% para 1 L de água, resultando em um teor de 0,0375% ou 37,5 mg.L^{-1} de NaClO na solução, superior ao empregado por Kamp et al. (2016). Além disso, o pH da solução foi de 7,4, estando em condições ideais (abaixo de pH 8) para a remoção de MCs.

Ainda assim, na alface do dia 36, onde foi observado diferença significativa, a remoção de MCs foi de apenas 29,5%. Isso indica que, apesar da irrigação molhar a folhagem e favorecer o acúmulo por deposição química, a maior parte da concentração de MCs acumulada é interna e não pode sofrer a ação do agente oxidante, não havendo uma forma segura de higienização para descontaminar alface contaminada por MCs.

Figura 6 – Concentrações de microcistinas nas amostras de alface, com extração por metanol



Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; (-29 ou -36) idade da planta em dias; dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor.

Com relação à idade da planta, constata-se que houve aumento significativo das concentrações de MCs da alface-c-29 para a alface-c-36, ou seja, maior bioacumulação de MCs no decorrer do tempo para essa hortaliça (Figura 6).

Durante o crescimento vegetal, o aumento de volume das folhas, e conseqüente aumento de acúmulo de água, pode provocar a diluição das toxinas, como apontado por Machado et al. (2017). Além disso, a interrupção da exposição das hortaliças à água contaminada favorece o processo de depuração das cianotoxinas pela planta, como levantado por Cordeiro-Araújo et al. (2016).

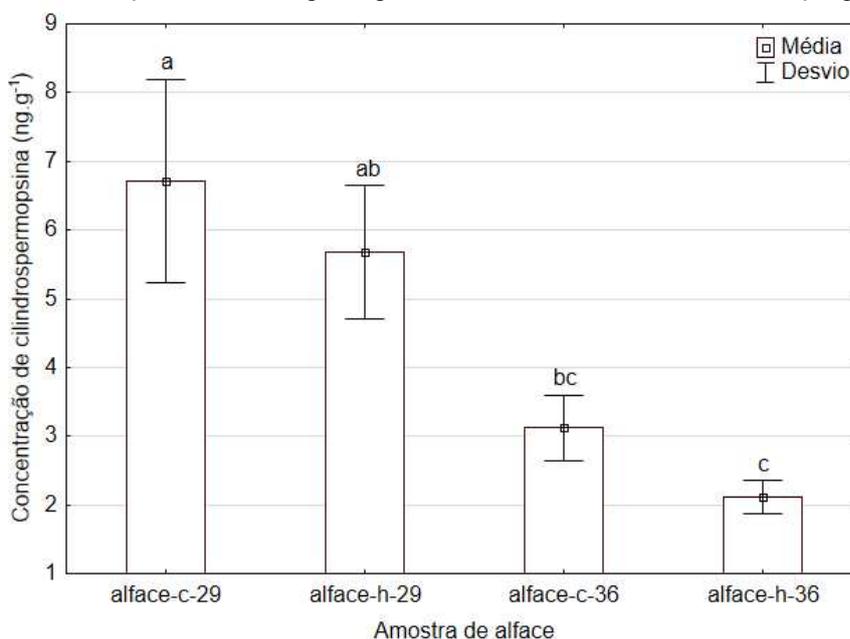
Durante o período da realização deste estudo, ocorreram precipitações na propriedade, o que reduziu a frequência da irrigação dos cultivos com a água eutrofizada do reservatório e, conseqüentemente, a exposição das hortaliças às cianotoxinas. No mês de março de 2023, os volumes de chuva para o município de Pocinhos e para o distrito de São José da Mata, próximos à localidade estudada, foram de 65,9 e 78,5 mm, respectivamente (AESA, 2023).

Mais especificamente, entre os dias 29 e 36 dos cultivos, dias da primeira e da segunda amostragem de hortaliças, ocorreram chuvas em Pocinhos nos dias 32 (1,6 mm), 34 (0,3 mm), 35 (6,2 mm) e 36 (5,8 mm) e em São José da Mata nos dias 31 (0,9 mm), 35 (30,6 mm) e 36 (8,9 mm), conforme dados da AESA (2023). Com essas chuvas, houve menos regas com a água contaminada por cianotoxinas, fazendo com que as hortaliças com 36 dias não fossem muito mais expostas às toxinas que as com 29 dias.

Apesar das prováveis influências relacionadas ao crescimento vegetal e às precipitações, o aumento significativo da concentração de MCs entre alface-c-29 e alface-c-36 indica que os altos níveis de MCs em águas eutrofizadas podem induzir a um aumento na bioacumulação em alface no decorrer do tempo, sendo importante evitar a contaminação por esta toxina nas águas de irrigação.

As amostras alface-h-29 e alface-h-36 não apresentaram diferença significativa, porém, para análise da influência da idade da planta, não foram consideradas, visto que, além da variável tempo, elas sofreram ação de um fator controlado (higienização com hipoclorito). A mesma lógica foi aplicada para o restante das análises.

Figura 7 – Concentrações de cilindrospermopsina nas amostras de alface, com extração por metanol



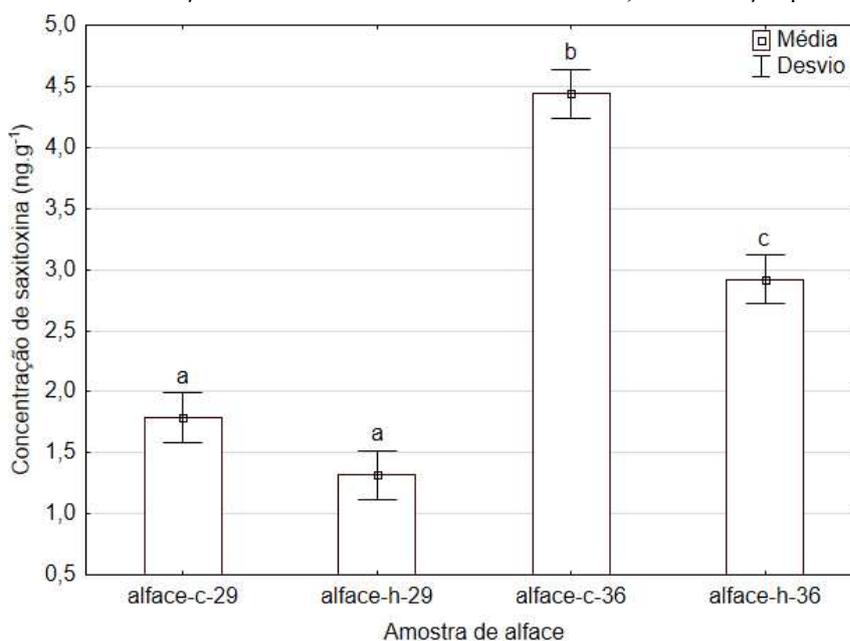
Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; (-29 ou -36) idade da planta em dias; dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor.

A partir da Figura 7, constata-se que a higienização com hipoclorito de sódio (NaClO) não exerceu efeito significativo na remoção de CYN em alface, visto que as amostras alface-c-29 e alface-h-29 são estatisticamente iguais entre si, assim como alface-c-36 e alface-h-36.

A degradação de CYN em água clorada foi relatada por Kamp et al. (2016) como lenta, sendo observada uma redução de 40% na concentração após 24 h, o que corrobora os resultados deste trabalho, visto que o tempo de imersão (30 min) das hortaliças na solução de NaClO não possibilitou uma remoção significativa de CYN. Além disso, deve-se levar em consideração que uma fração, ou grande parte, dos níveis de CYN detectados podem estar acumulados na parte interna dos tecidos vegetais, não entrando, assim, em contato com a solução de NaClO e, por conseguinte, não sofrendo a ação deste.

Por outro lado, a idade da planta se mostrou uma variável significativa, sendo alface-c-29 estatisticamente diferente de alface-c-36. A redução de 53,6% na concentração de CYN com um maior tempo de cultivo (Figura 7) indica que os mecanismos de bioacumulação desta cianotoxina em alface diferem dos das MCs e que a depuração pode ocorrer em virtude do crescimento vegetal e de interrupções na exposição dos cultivos à água contaminada em dias chuvosos.

Figura 8 – Concentrações de saxitoxina nas amostras de alface, com extração por metanol



Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; (-29 ou -36) idade da planta em dias; dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor.

A partir da Figura 8 é possível observar que a higienização com hipoclorito de sódio não exerceu influência significativa sobre a concentração de STX da amostra alface-c-29, visto que ela é estatisticamente semelhante a alface-h-29. Contudo, nas amostras alface-c-36 e alface-h-36 houve diferença significativa.

Kamp et al. (2016) relataram que a concentração de STX em água clorada reduziu 85% em 15 min. Já Merel, Yan e Song (2020) apontam que essa cianotoxina pode ser facilmente removida através da cloração. Apesar disso, neste estudo, a higienização de alface com NaClO não promoveu reduções elevadas dos níveis de STX acumulados. Nas alfaces do dia 36, onde foi observado influência significativa, a redução de STX foi de apenas 34%.

Como discutido com relação a MCs e CYN, a baixa eficiência do NaClO na redução de STX pode estar relacionada com a localização desta cianotoxina na planta (acúmulo interno), o que a livra da ação do desinfetante. Sabe-se que as cianotoxinas absorvidas pelas raízes podem ser deslocadas internamente para as partes aéreas da planta. Contudo, além disso, um provável acúmulo interno pode ter ocorrido por absorção foliar, visto que a irrigação empregada nos cultivos molhava as superfícies das plantas com a água contaminada.

Com relação ao tempo de cultivo, a Figura 8 ilustra que as amostras alface-c-29 e alface-c-36 são estatisticamente diferentes, o que implica em influência significativa do tempo sobre as concentrações de STX em alface. Neste caso, observa-se que a média de STX da alface com 36 dias supera a da alface com 29 dias, o que indica que, para esta hortaliça, um maior acúmulo de STX é gerado em função de um maior tempo de cultivo, não sendo observado a depuração da cianotoxina.

Baseado nisso, pode-se supor que a STX, assim como as MCs, é resistente à depuração na alface ao longo do crescimento vegetal, mesmo durante períodos em que a exposição à água contaminada é interrompida. No entanto, há uma lacuna na literatura acerca da bioacumulação de STX em hortaliças, sendo os estudos de acúmulo desta toxina mais focados em organismos aquáticos. Nesse cenário, mais pesquisas são necessárias para entender o seu comportamento em tecidos vegetais.

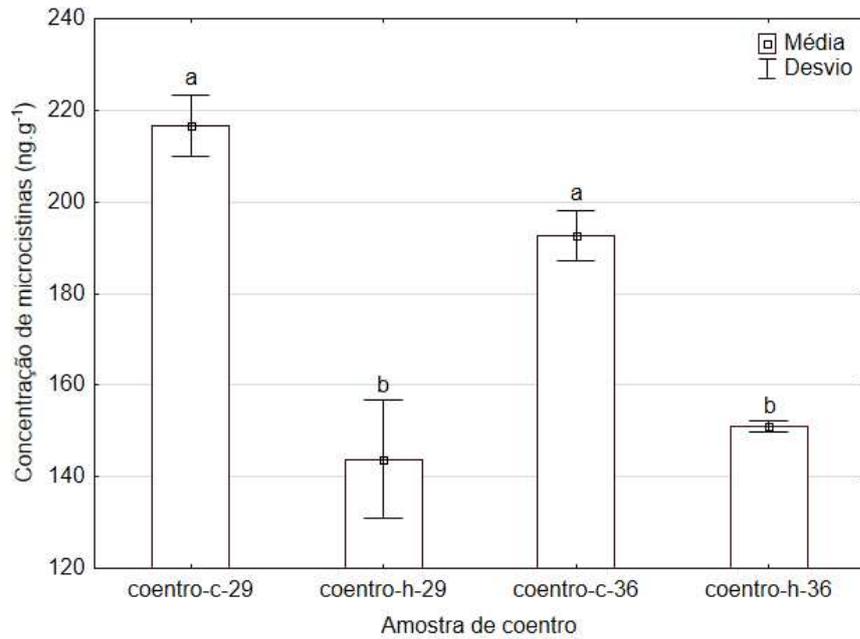
3.3.4 Influências da higienização com hipoclorito de sódio e da idade da planta nas concentrações de cianotoxinas acumuladas em coentro

As Figuras 9, 10 e 11 ilustram a variabilidade das concentrações de MCs, CYN e STX e os resultados do teste de Tukey nas amostras de coentro.

Observa-se na Figura 9 que a higienização com NaClO exerceu influência significativa sobre as concentrações de MCs das amostras de coentro, sendo coentro-c-29 e coentro-c-36 diferentes estatisticamente de coentro-h-29 e coentro-h-36, respectivamente. Apesar disso, as remoções observadas foram de apenas 33,6% para coentro-c-29 e 21,6% para coentro-c-36, o que sugere que a maior parte dos níveis de MCs acumulados nessa hortaliça também deve estar localizada internamente nos tecidos vegetais, não sofrendo ação da higienização superficial.

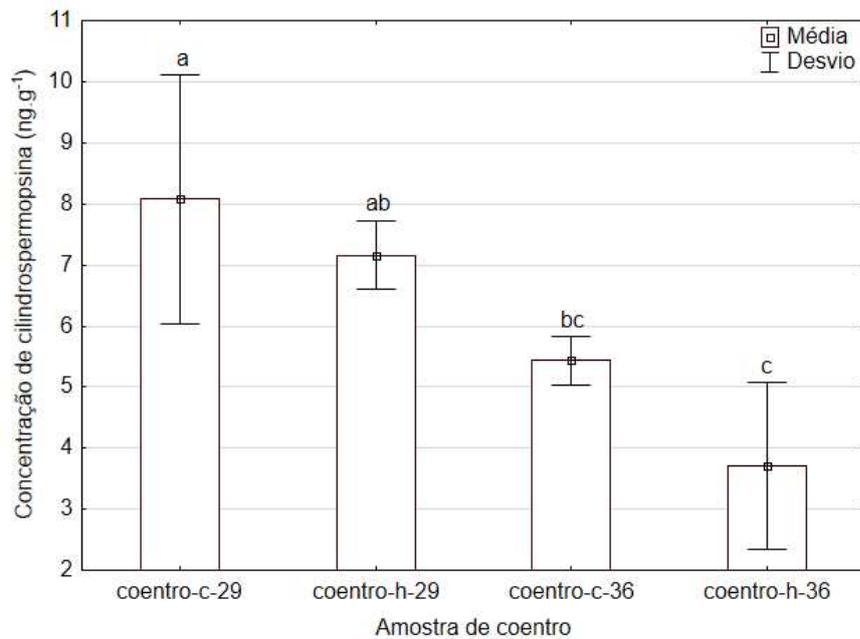
Com relação à idade da planta, não foi observada diferença significativa entre as concentrações de MCs de coentro-c-29 e coentro-c-36, o oposto do constatado na alface, o que indica que os mecanismos de bioacumulação de MCs diferem entre espécies vegetais.

Figura 9 – Concentrações de microcistinas nas amostras de coentro, com extração por metanol



Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; (-29 ou -36) idade da planta em dias; dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 10 – Concentrações de cilindrospormopsina nas amostras de coentro, com extração por metanol



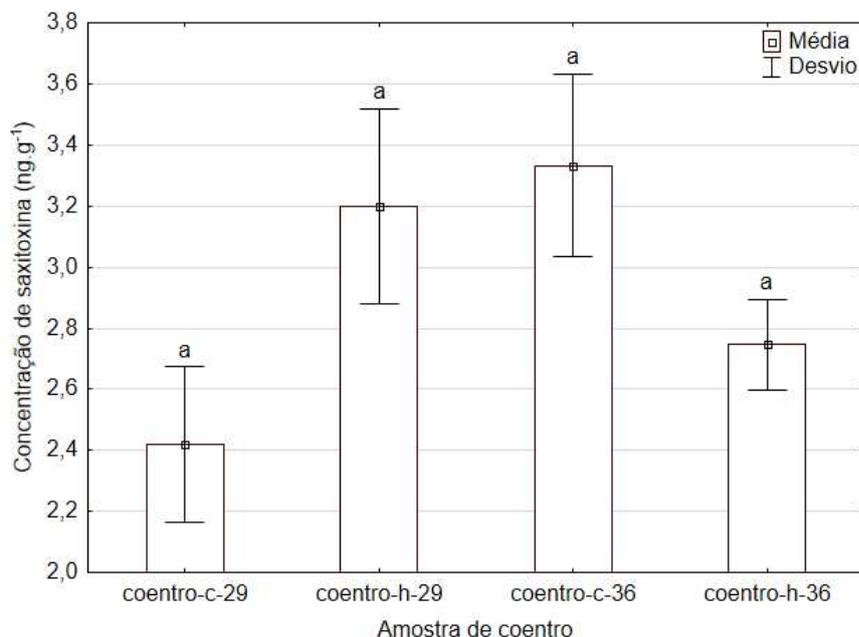
Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; (-29 ou -36) idade da planta em dias; dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor.

A partir da Figura 10 pode-se observar que o emprego de NaClO na higienização das amostras de coentro não atuou de forma significativa na remoção das concentrações de CYN acumuladas, com semelhança estatística observada entre coentro-c-29 e coentro-h-29, e entre coentro-c-36 e coentro-h-36.

A influência da idade da planta, por outro lado, aponta que a CYN pode sofrer o processo de depuração no coentro ao longo do tempo, assim como constatado na alface. Entretanto, neste trabalho, o efeito desse fenômeno pode ter sido ampliado em virtude das precipitações que ocorreram durante o período de cultivo, que diminuiu a exposição das hortaliças à água contaminada. Por esse motivo, é fundamental que também sejam realizados estudos durante o período seco.

Com relação à STX, pode-se constatar (Figura 11) que a higienização com NaClO e a idade da planta não exerceram influência significativa nas concentrações acumuladas no coentro, sendo as médias de todas as amostras consideradas iguais estatisticamente. Apesar disso, observa-se mais uma vez a tendência de aumento da bioacumulação da STX ao longo do tempo, sendo a concentração de coentro-c-36 maior que a de coentro-c-29, o que também foi observado na alface.

Figura 11 – Concentrações de saxitoxina nas amostras de coentro, com extração por metanol



Legenda: (-c) amostra controle; (-h) higienizada com hipoclorito; (-29 ou -36) idade da planta em dias; dados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor.

3.3.5 Consumo diário estimado de cianotoxinas

A Tabela 6 apresenta os CDEs médios de MCs, CYN e STX nas hortaliças estudadas.

Tabela 6 – Consumo diário estimado de MCs, CYN e STX através das hortaliças estudadas

Amostra	MCs ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		CYN ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		STX ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	
	Dia 29	Dia 36	Dia 29	Dia 36	Dia 29	Dia 36
alface-c	0,0181	0,0237	0,0045	0,0021	0,0012	0,0030
alface-h	0,0140	0,0168	0,0038	0,0014	0,0009	0,0019
coentro-c	0,1444	0,1284	0,0054	0,0036	0,0016	0,0022
coentro-h	0,0959	0,1007	0,0048	0,0025	0,0021	0,0018

Fonte: autor.

Com base nos CDEs calculados, considerando-se que um adulto de 60 kg consome cerca de 40 g de hortaliças por dia, verifica-se que os CDEs de MCs através do coentro, independente da higienização com hipoclorito, ultrapassaram em até 3,61 vezes o IDT de $0,04 \mu\text{gMCs.kg}^{-1}$, recomendado pela OMS. As amostras de alface, nas condições pré-estabelecidas para o cálculo do CDE, não ultrapassaram o IDT de MCs. Contudo, caso o adulto decidisse consumir 70 g da alface-c do dia 36, em vez de 40 g, o IDT seria ultrapassado.

A constatação de que os CDEs de MCs por meio do consumo de coentro ultrapassaram significativamente IDT recomendado pela OMS, mesmo após a higienização com hipoclorito, representa um cenário de preocupação significativa em relação à contaminação humana por cianotoxinas através do consumo de hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas.

A exposição a elevadas concentrações de MCs pode representar uma séria ameaça à saúde humana, uma vez que essas cianotoxinas são tóxicas e podem causar uma variedade de efeitos adversos, incluindo distúrbios gastrointestinais, hepáticos e até mesmo carcinogênicos. A ingestão de MCs em níveis acima do IDT estabelecido pela OMS aumenta significativamente o risco de desenvolvimento desses problemas em populações expostas.

Além disso, a possibilidade de que a ingestão de hortaliças, como a alface, possa exceder o IDT de MCs sob certas condições ressalta a vulnerabilidade da segurança alimentar em regiões onde a prática de irrigação com águas eutrofizadas é comum. A eutrofização, caracterizada pelo enriquecimento excessivo de nutrientes nas águas, pode criar condições propícias para a proliferação de cianobactérias produtoras de MCs. Essa situação é agravada pela capacidade de bioacumulação dessas cianotoxinas nas plantas, o que pode levar a níveis preocupantes de contaminação nos alimentos.

Dado o papel crucial das hortaliças na dieta humana e sua associação com benefícios nutricionais, a contaminação por MCs através dessa via representa uma ameaça real à saúde pública. É extremamente importante que medidas rigorosas de monitoramento e controle sejam implementadas nas práticas de cultivo e na qualidade da água utilizada na irrigação. A conscientização da população sobre os riscos associados à ingestão de hortaliças contaminadas por cianotoxinas também é essencial para garantir a segurança alimentar e preservar a saúde pública.

Com relação à CYN e STX, os CDEs obtidos não superaram os IDTs recomendados de $0,03 \mu\text{gCYN.kg}^{-1}$ e $0,05 \mu\text{gSTX.kg}^{-1}$. O maior CDE calculado, de CYN na amostra coentro-do dia 29, corresponde a apenas 18% do IDT. Esses números indicam que, no contexto atual das concentrações de CYN e STX na água de irrigação, a exposição potencial por meio do consumo dessas hortaliças não parece ser imediatamente preocupante.

No entanto, é crucial ressaltar que, apesar das concentrações relativamente baixas de CYN e STX nas amostras analisadas, o potencial de bioacumulação dessas cianotoxinas nos tecidos vegetais ficou evidente. Isso se torna particularmente relevante quando se destaca que as concentrações de CYN e STX na água de irrigação foram consideravelmente inferiores às de MCs, sendo crucial manter uma vigilância contínua e rigorosa de seus níveis em reservatórios.

Uma vez que CYN e STX possuem a capacidade de se acumular em tecidos vegetais, a possibilidade de que aumentos nas suas concentrações nas águas de irrigação possam resultar em maiores níveis de bioacumulação em hortaliças deve ser considerada e tratada com preocupação, assim como medidas preventivas e regulatórias devem ser implementadas para mitigar potenciais riscos à segurança alimentar e à saúde pública.

3.4 Conclusão

No reservatório estudado, localizado no semiárido brasileiro, na zona rural de Pocinhos, Paraíba, foram detectadas microcistinas, cilindrospermopsina e saxitoxina, o que pode ser atribuído a fatores como a eutrofização da água e as condições ambientais da região. As concentrações de MCs na água bruta excederam em 4,88 vezes o padrão estabelecido pela portaria de potabilidade brasileira para água tratada, enquanto que os níveis de CYN e STX foram baixos e se mantiveram dentro dos valores de referência.

As concentrações das três cianotoxinas presentes na água de irrigação foram suficientes para gerar bioacumulação nas alfaces e nos coentros irrigados, sendo as MCs as mais propensas ao acúmulo. Já o coentro foi a hortaliça com maior suscetibilidade à bioacumulação. Contudo,

estudos aprofundados sobre os mecanismos de bioacumulação de cada cianotoxina nas diferentes espécies de hortaliças ainda são necessários.

Acerca do processo de extração, verificou-se que o metanol é o solvente mais adequado para quantificação de MCs, CYN e STX em tecidos vegetais, em comparação à água destilada, o que condiz com os resultados relatados na literatura. Todavia, estudos comparativos variando as proporções de metanol e água, a fim de otimizar a eficiência do processo de extração, também são necessários, assim como a investigação de solventes menos tóxicos que o metanol.

De forma geral, constatou-se que a higienização de alface e coentro com hipoclorito de sódio, seguindo as recomendações do Ministério da Saúde, não foi suficiente para uma remoção significativa de MCs, CYN e STX, provavelmente devido a bioacumulação dessas toxinas ser interna nos tecidos vegetais, o que as impede de sofrer a ação da higienização superficial. Nas amostras em que houve uma remoção estatisticamente significativa, a máxima remoção obtida foi de 34%. Com base nisso, supõe-se que não há uma forma eficaz de higienização para remover cianotoxinas em hortaliças contaminadas, o que indica que a única alternativa é controlar as características da água quanto à presença de cianobactérias e cianotoxinas para evitar a bioacumulação.

No tocante à idade da planta, verificou-se que CYN pode sofrer depuração na alface e no coentro e que esse processo provavelmente está relacionado ao crescimento vegetal, que promove aumento de volume e de acúmulo de água, diluindo o teor de CYN, e também à interrupção da exposição das hortaliças à água contaminada durante dias chuvosos, sendo importante avaliar a depuração no período seco. Com relação a MCs e STX, observou-se o inverso, a bioacumulação aumentou ao longo do tempo na alface, enquanto que no coentro não houve efeito significativo da idade da planta. Isso indica que MCs e STX podem ser mais persistentes em tecidos vegetais que a CYN.

Constatou-se que os consumos diários estimados de MCs através do coentro excederam em até 3,61 vezes a ingestão diária total de $0,04 \mu\text{gMCs.kg}^{-1}$ recomendada pela OMS, enquanto que o consumo de 70 g da alface analisada também excederia esse valor. Isso evidencia o potencial das MCs de atingir o ser humano por meio do consumo de hortaliças contaminadas e o preocupante cenário da irrigação de culturas agrícolas no semiárido com águas eutrofizadas.

Por fim, os CDEs de CYN e STX a partir das hortaliças estudadas foram inferiores aos IDTs recomendados, no entanto, essas cianotoxinas são relevantes para a qualidade da água de abastecimento e, apesar de não serem uma preocupação imediata, os seus potenciais de bioacumulação em hortaliças ficaram evidentes. Assim, sabendo-se que a ingestão de hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas representa uma emergente rota de contaminação humana por

cianotoxinas, é de fundamental importância que medidas rigorosas de monitoramento e controle sejam implementadas nas práticas de cultivo e na qualidade das águas utilizadas na irrigação.

3.5 Referências

ABDALLAH, M. F.; VAN HASSEL, W. H.; ANDJELKOVIC, M.; WILMOTTE, A.; RAJKOVIC, A. Cyanotoxins and Food Contamination in Developing Countries: Review of Their Types, Toxicity, Analysis, Occurrence and Mitigation Strategies. **Toxins**, v. 13, n. 11, p. 786, 2021.

AESA. Agência Executiva de Gestão das Águas da Paraíba. **Meteorologia: chuvas (período mensal de março de 2023 para os postos de Pocinhos e de Campina Grande/São José da Mata)**. Disponível em: < <http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologia-chuvas/>>. Acesso em: 31 jul. 2023.

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington, D.C.: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2012.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; CHIA, M. A.; ARRUDA-NETO, J. D. T.; DE OLIVEIRA, Ê. T.; DOS SANTOS, F. Lettuce irrigated with contaminated water: Photosynthetic effects, antioxidative response and bioaccumulation of microcystin congeners. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 128, p. 83-90, 2016. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.02.014

BORGES, R. M. C. **Identificação e quantificação de microcistinas por HPLC em reservatórios de água**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade de São Paulo, Lorena, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2021.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2005.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E&FN Spon, 1999.

CODD, G. A.; METCALF, J. S.; BEATTIE, K. A. Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. **Toxicon**, v. 37, n. 8, p. 1181-1185, 1999. DOI: 10.1016/S0041-0101(98)00244-X

CORDEIRO-ARAÚJO, M.; CHIA, M. A.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Potential human health risk assesment of cylindrospermopsin accumulation and depuration in lettuce an arugula. **Harmful Algae**, v. 68, p. 217 – 223, 2017. DOI: 10.1016/j.hal.2017.08.010

CORDEIRO, R.; AZEVEDO, J.; VASCONCELOS, V.; FONSECA, A.; GONÇALVES, V. First occurrence of Cylindrospermopsin in the Azores (Lake Sao Bras, S. Miguel Island). **Limnology**, v. 22, p. 269-275, 2021.

DE ASSIS, C. S.; JESUS, L. D. F.; MIRANDA, A. C.; MOREIRA, M. F. R. Uso do metanol e risco de exposição dos trabalhadores de uma usina de biodiesel. **Rev Bras Med Trab**, v. 15, n. 1, p. 29-41, 2017. DOI: 10.5327/Z1679443520177031

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. D. B. **Florações de algas e de cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento**. São Carlos: LDiBE, 2010.

FARRER, D.; COUNTER, M.; HILLWIG, R.; CUDE, C. Health-based cyanotoxin guideline values allow for cyanotoxin-based monitoring and efficient public health response to cyanobacterial blooms. **Toxins**, v. 7, n. 2, p. 457-477, 2015. DOI: 10.3390/toxins7020457

FERRÃO-FILHO, A. S. Bioacumulação de cianotoxinas e seus efeitos em organismos aquáticos. **Oecol. Bras.**, v. 13, n. 2, p. 272-312, 2009.

GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; CAMPOS, A.; AZEVEDO, J.; NEVES, J.; FREITAS, M.; GUZMÁN-GUILLÉN, R.; CAMEÁN, A. M.; RENAUT, J.; VASCONCELOS, V. Exposure of *Lycopersicon Esculentum* to microcystin-LR: Effects in the leaf proteome and toxin translocation from water to leaves and fruits. **Toxins**, v. 6, n. 6, p. 1837-1854, 2014. DOI: 10.3390/toxins6061837

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T. Past: paleontological statistics software package for educaton and data anlysis. **Palaeontologia electronica**, v. 4, n. 1, p. 1, 2001.

HUMPAGE, A. R.; FALCONER, I. R. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 18, n. 2, p. 94-103, 2003. DOI: 10.1002/tox.10104

JIMÉNEZ, L. D. Q.; GUZMÁN-GUILLÉN, R.; CĂȚUNESCU, G. M.; CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V.; JOS, Á.; CAMEÁN, A. M. A new method for the simultaneous determination of cyanotoxins (Microcystins and Cylindrospermopsin) in mussels using SPE-UPLC-MS/MS. **Environmental research**, v. 185, p. 109284, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109284>

KAMP, L.; CHURCH, J. L.; CARPINO, J.; FALTIN-MARA, E.; RUBIO, F. The effects of water sample treatment, preparation, and storage prior to cyanotoxin analysis for cylindrospermopsin, microcystin and saxitoxin. **Chemico-biological interactions**, v. 246, p. 45-51, 2016.

LEE, S.; JIANG, X.; MANUBOLU, M.; RIEDL, K.; LUDSIN, S. A.; MARTIN, J. F.; LEE, J. Fresh produce and their soils accumulate cyanotoxins from irrigation water: implications for public health and food security. **Food Research International**, v. 102, p. 234-245, 2017. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.09.079

LEVIZOU, E.; PAPADIMITRIOU, T.; PAPAVALASILEIOU, E.; PAPADIMITRIOU, N.; KORMAS, K. A. Root vegetables bioaccumulate microcystins-LR in a developmental stage-dependent manner under realistic exposure scenario: The case of carrot and radish. **Agricultural Water Management**, v. 240, p. 106274, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106274>

LEVIZOU, E.; STATIRIS, G.; PAPADIMITRIOU, T.; LASPIDOU, C. S.; KORMAS, K. A. Lettuce facing microcystins-rich irrigation water at different developmental stages: Effects on plant performance and microcystins bioaccumulation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 143, p. 193-200, 2017. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.05.037

LIMA, F. J. D. O.; LOPES, F. B.; ANDRADE, E.; ROCHA, F. C. D.; MEIRELES, A. C. Spatio-temporal dynamics of toxic cyanobacteria in an artificial lake in the Brazilian semi-arid region. **Revista Caatinga**, v. 35, p. 423-435, 2022.

MANUBOLU, M.; LEE, J.; RIEDL, K. M.; KUA, Z. X.; COLLART, L. P.; LUDSIN, S. A. Optimization of extraction methods for quantification of microcystin-LR and microcystin-RR in fish, vegetable, and soil matrices using UPLC–MS/MS. **Harmful Algae**, v. 76, p. 47-57, 2018.

MEREL, S.; YAN, S.; SONG, W. Conventional Disinfection and/or Oxidation Processes for the Destruction of Cyanotoxins/Cyanobacteria. **Water Treatment for Purification from Cyanobacteria and Cyanotoxins**, p. 155-171, 2020. <https://doi.org/10.1002/9781118928677.ch6>

NERY, J. F.; NERY, G. K. M.; MEDEIROS, S. S. Microcystin bioaccumulation in cultures irrigated with eutrophized waters in Brazilian Semiarid. **wjpls**, v. 6, n. 2, p. 5-9, 2020.

PRAXEDES, C. F.; LOPES, F. B.; DE ANDRADE, E. M.; DA SILVA, T. T.; BECKER, H. Evaluation of nitrogen and phosphorus in surface reservoirs of the semi-arid region of Brazil using mass balance. **Revista Ciência Agronômica**, v. 54, p. e20228421, 2023.

SILVA, R. D. S.; SEVERIANO, J. S.; OLIVEIRA, D. A.; MENDES, C. F.; BARBOSA, V. V.; CHIA, M. A.; BARBOSA, J. E. L. Spatio-temporal variation of cyanobacteria and cyanotoxins in public supply reservoirs of the semi-arid region of Brazil. **Journal of Limnology**, v. 79, n. 1, p. 13-29, 2020. DOI: 10.4081/jlimnol.2019.1893

SIVONEN, K.; NIEMELÄ, S. I.; NIEMI, R. M.; LEPISTÖ, L.; LUOMA, T. H.; RÄSÄNEN, L. A. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters. **Hydrobiologia**, v. 190, n. 3, p. 267-275, 1990.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial Toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E&FN Spon; 1999.

SOUZA, F. G. T.; NOGUEIRA, V. V. E.; MAYNART, L. I.; OLIVEIRA, R. L. D.; MENDONÇA, T. C. D. S.; OLIVEIRA, P. D. Neuropatia óptica tóxica por inalação de metanol. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 77, p. 47-49, 2018. <https://doi.org/10.5935/0034-7280.20180010>

STATSOFT, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10.0. www.statsoft.com.

THORNTON, J. A.; RAST, W. A test of hypotheses relating to the comparative limnology and assessment of eutrophication in semi-arid man-made lakes. **Comparative reservoir limnology and water quality management**, p. 1-24, 1993.

VAN HASSEL, W. H. R.; MASQUELIER, J.; ANDJELKOVIC, M.; RAJKOVIC, A. Towards a Better Quantification of Cyanotoxins in Fruits and Vegetables: Validation and Application of an UHPLC-MS/MS-Based Method on Belgian Products. **Separations**, v. 9, n. 10, p. 319, 2022.

WERALUPITIYA, C.; WANIGATUNGE, R. P.; GUNAWARDANA, D.; VITHANAGE, M.; MAGANA-ARACHCHI, D. Cyanotoxins uptake and accumulation in crops: Phytotoxicity and implications on human health. **Toxicon**, v. 211, p. 21-35, 2022.

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HRUDEY, S. E. **Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide**. American Water Works Association, 1995.

ZAMORA-BARRIOS, C. A.; NANDINI, S.; SARMA, S. S. S. Bioaccumulation of microcystins in seston, zooplankton and fish: A case study in Lake Zumpango, Mexico. **Environmental pollution**, v. 249, p. 267-276, 2019.

ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. **Toxins**, v. 5, n. 10, p. 1896-1917, 2013. DOI: 10.3390/toxins5101896

CONCLUSÕES GERAIS

As conclusões dos Capítulos II e III convergem para uma preocupante realidade quanto à bioacumulação de cianotoxinas em hortaliças irrigadas com águas eutrofizadas no semiárido. Os resultados revelam a presença significativa de microcistinas, cilindrospermopsina e saxitoxina nas águas de irrigação, resultantes da eutrofização e das condições ambientais da região. Embora as concentrações estejam, em grande parte, dentro dos limites estabelecidos pela regulamentação, a bioacumulação observada nas hortaliças indica um risco iminente à segurança alimentar e à saúde pública.

As microcistinas destacam-se como as cianotoxinas de maior potencial de acúmulo, com níveis de bioacumulação expressivamente superiores aos promovidos pela cilindrospermopsina e pela saxitoxina. O coentro demonstrou uma propensão particularmente acentuada para o acúmulo de cianotoxinas, evidenciando sua suscetibilidade. A detecção das cianotoxinas nos vegetais sugere a complexidade da interação entre as toxinas e os tecidos vegetais, um processo que merece maior investigação.

A higienização com hipoclorito de sódio, embora siga as orientações do Ministério da Saúde, revelou-se insuficiente para remover significativamente as cianotoxinas, reforçando a suposição de que a bioacumulação ocorre internamente nos tecidos vegetais. Além disso, o crescimento das plantas e a exposição intermitente à água contaminada podem afetar os níveis de cianotoxinas, como evidenciado pela depuração de CYN em alfaces e coentros.

As estimativas diárias de ingestão de cianotoxinas a partir das hortaliças analisadas indicam uma preocupante possibilidade de contaminação humana por meio do consumo desses produtos agrícolas. O potencial de bioacumulação em condições de aumento das concentrações de cianotoxinas nas águas de irrigação ressalta a importância de abordagens rigorosas de monitoramento e controle em cultivos e qualidade da água.

Portanto, a urgência de medidas preventivas e de gestão se faz evidente, visando mitigar os riscos associados à ingestão de cianotoxinas por meio de hortaliças contaminadas. A contínua exploração dos recursos hídricos e a eutrofização dos reservatórios do semiárido reforçam a necessidade de abordagens sustentáveis na agricultura, incluindo práticas seguras de irrigação e medidas de segurança alimentar, a fim de garantir a saúde pública e a qualidade dos produtos agrícolas.

PERSPECTIVAS FUTURAS E SUGESTÕES

Diante do cenário exposto nesse trabalho, algumas perspectivas futuras e sugestões para novas pesquisas podem ser levantadas:

- Estudos de mecanismos de bioacumulação: Investigações mais aprofundadas acerca dos mecanismos de interação das cianotoxinas com os tecidos vegetais, incluindo estudos sobre as vias de entrada das cianotoxinas nas plantas e sua distribuição interna;
- Avaliação de outras hortaliças: Além das estudadas nesse trabalho, outras hortaliças também precisam ser avaliadas quanto à bioacumulação de cianotoxinas. Isso permitirá uma compreensão mais completa dos riscos potenciais em diferentes produtos agrícolas;
- Efeitos de outras técnicas de higienização e/ou conservação: Pesquisas adicionais podem examinar a influência de métodos alternativos de higienização e até mesmo da conservação em geladeira sobre as concentrações de cianotoxinas nos vegetais;
- Impacto das condições ambientais nas concentrações de cianotoxinas: Avaliar como as condições ambientais, como temperatura, umidade e exposição à luz solar, afetam as concentrações de cianotoxinas nas plantas pode ser relevante para a gestão dos cultivos;
- Monitoramento e regulação: É importante estabelecer sistemas de monitoramento robustos para cianotoxinas em águas de irrigação e produtos agrícolas. Isso pode orientar regulamentações mais rigorosas e práticas de gestão;
- Educação e conscientização: A educação de agricultores e consumidores sobre os riscos associados à bioacumulação de cianotoxinas em produtos agrícolas é essencial. Isso pode incluir diretrizes claras sobre práticas seguras de irrigação e preparação de alimentos;
- Abordagens sustentáveis na agricultura: Promover práticas agrícolas sustentáveis, como o uso responsável de fertilizantes e a redução da eutrofização de corpos d'água, é fundamental para mitigar a entrada de cianotoxinas nos sistemas agrícolas;
- Integração com pesquisa em saúde pública: Estabelecer uma colaboração entre pesquisadores agrícolas e de saúde pública pode ajudar a avaliar os riscos reais à saúde humana decorrentes do consumo de produtos agrícolas contaminados por cianotoxinas.

Essas perspectivas futuras podem contribuir significativamente para uma compreensão mais completa e a gestão eficaz dos riscos associados à bioacumulação de cianotoxinas em produtos agrícolas irrigados com águas eutrofizadas.