



LARISSA LUCAS BARROS

**AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA
CONCENTRAÇÃO DE BIOAEROSSOIS PRESENTES NA
DEPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA EM LAVRAS, MINAS GERAIS**

**LAVRAS – MG
2021**

LARISSA LUCAS BARROS

**AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA
CONCENTRAÇÃO DE BIOAEROSSOIS PRESENTES NA
DEPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA EM LAVRAS, MINAS GERAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Engenharia Ambiental e
Sanitária, para obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Marcelo Vieira da Silva Filho
Orientador
Profa. Dra. Luciene Alves Batista Siniscalchi
Coorientadora

LAVRAS – MG

2021
LARISSA LUCAS BARROS

**AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA CONCENTRAÇÃO DE
BIOAEROSSOIS PRESENTES NA DEPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA EM LAVRAS,
MINAS GERAIS**

**EVALUATION OF THE TEMPORAL DISTRIBUTION OF THE CONCENTRATION
OF BIOAEROSOLS PRESENT IN ATMOSPHERIC DEPOSITION IN LAVRAS,
MINAS GERAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Engenharia Ambiental e
Sanitária, para obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 22 de abril de 2021.
Dr. Marcelo Vieira da Silva Filho UFLA
Dra. Luciene Alves Batista Siniscalchi UFLA
Dr. Fábio Luiz Teixeira Gonçalves USP
Dra. Bruna Coelho Lopes UFMG

Prof. Dr. Marcelo Vieira da Silva Filho
Orientador
Profa. Dra. Luciene Alves Batista Siniscalchi
Coorientadora

LAVRAS – MG
2021

*Aos meus pais, Valéria e Duciney, e minha irmã,
Eloisa, pelo amor, carinho, compreensão e por
sempre acreditarem no meu potencial.
A minha avó Isa e bisavó Maria da Conceição
(in memorian), pelo exemplo de bondade e amor.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, ao universo e a natureza, por me concederem saúde, perseverança, paz e boas vibrações, para que eu chegasse até o presente momento.

Aos meus pais, Duciney e Valéria, pelas inúmeras horas dirigindo pelas estradas do Brasil e pelo exemplo de profissional na educação. Obrigada por todo amor, carinho, confiança, suporte financeiro e psicológico.

A minha irmã Eloisa, pela compreensão e motivação em diversos momentos desanimadores.

Aos meus amigos capixabas e os que conquistei na universidade, vocês foram incríveis, obrigada pelo companheirismo, conselhos e pelos momentos compartilhados.

Ao professor Marcelo pelo exemplo profissional e pessoal, por ter acreditado no meu potencial e despertado em mim o amor pela pesquisa e ensino.

A professora Luciene, por todo carinho, paciência e dedicação no ensino da microbiologia.

Ao Núcleo de Estudos em Poluição Urbana e Agroindustrial, por todo conhecimento e amizade, minha graduação foi completa com vocês, nunca me encaixei tanto em uma equipe.

Aos meus gatos Chico e Bento e meu cachorro Scooby, pelo afeto e pelos sorrisos despertados, vocês foram essenciais durante o isolamento social.

A todos que de alguma forma cruzaram meu caminho e pelas adversidades, tudo gerou muito aprendizado.

A UFLA e ao CNPq pelo fomento no desenvolvimento da pesquisa.

“O que sabemos é uma gota. O que não sabemos é um oceano.” (Isaac Newton)

RESUMO

Bioaerossóis são partículas em suspensão na atmosfera representadas principalmente por fungos e bactérias. Na atmosfera, os bioaerossóis podem participar de processos microfísicos de nuvens, químicos e climatológicos, podendo atuar em ciclos biogeoquímicos. O principal mecanismo de remoção de partículas da atmosfera denomina-se deposição atmosférica. Assim, este trabalho de conclusão de curso tem como objetivo avaliar a concentração de bioaerossóis através da deposição atmosférica no município de Lavras – MG. As amostras foram coletadas no período de setembro de 2018 a março de 2020, através de um coletor passivo de deposição total localizado no *campus* da Universidade Federal de Lavras. A metodologia para cultivo dos microrganismos foi adaptada do *Standard Methods for the Heterotrophic Plate Count* e diversos outros estudos de bioaerossóis, e sua identificação foi realizada através da técnica MALDI-TOF MS. A fim de buscar possíveis correlações entre a concentração de microrganismos e fatores meteorológicos, foram utilizados dados de temperatura, precipitação, umidade relativa e velocidade do vento, obtidos do banco de dados meteorológicos do Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, para a estação climatológica de Lavras. Foi realizada correlação de *Spearman* e a Análise dos Componentes Principais (ACP) para determinar o comportamento das variáveis, através da linguagem de programação R. Os resultados iniciais demonstraram que houve variação da concentração de bioaerossóis no período seco (abril a agosto) e chuvoso (setembro a março), e as amostras de deposição atmosférica total apresentam densidade média de microrganismos 25% maior que as amostras de deposição seca. A técnica MALDI-TOF MS identificou os microrganismos *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus* e *Rhodotorula mucilaginosa* para como provável identificação de espécie e gênero, respectivamente. A ACP, através de seus componentes, indicou que os microrganismos estão relacionados com a concentração total da amostra bem como os elementos meteorológicos. Este trabalho de conclusão de curso está apresentado em formato de artigo, o que pode ser constatado com maior detalhamento nas seções subsequentes.

Palavras-chave: Deposição total atmosférica. Bioaerossóis. Meteorologia.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| PRIMEIRA PARTE | 9 |
| 1. INTRODUÇÃO | 9 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 10 |
| 2.1. Aerossóis | 10 |
| 2.2. Bioaerossóis | 11 |
| 2.2.1. Identificação de Bioaerossóis através de Técnicas Moleculares | 12 |
| 2.3. Influência de Bioaerossóis de Processos Atmosféricos..... | 14 |
| 2.4. Mecanismos de remoção de Bioaerossóis | 15 |
| 2.5. Análises Estatísticas em Ciências Atmosféricas | 16 |
| 2.5.1. Teste de Bartlett | 17 |
| 2.5.2. Teste de <i>Kaiser-Meyer-Olkin</i> (KMO) | 17 |
| 2.5.3. Técnicas de Análise Fatorial | 17 |
| SEGUNDA PARTE | 21 |
| AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA CONCENTRAÇÃO DE BIOAEROSSÓIS PRESENTES NA DEPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA EM LAVRAS, MINAS GERAIS | 21 |
| 1. INTRODUÇÃO | 22 |
| 2. MATERIAS E MÉTODOS..... | 23 |
| 2.1. Área de estudo..... | 23 |
| 2.2. Amostragem de Deposição Atmosférica..... | 24 |
| 2.3. Análises Microbiológicas | 25 |
| 2.4. Identificação dos microrganismos..... | 26 |
| 2.5. Dados Meteorológicos e Análises Estatísticas | 27 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 27 |
| 3.1. Caracterização Meteorológica..... | 27 |
| 3.3. Microrganismos Identificados e Relações com Fatores Meteorológicos | 30 |
| 4. CONCLUSÃO | 34 |
| REFERÊNCIAS | 35 |

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

Os Ciclos Biogeoquímicos são um dos principais mecanismos onde solo, hidrosfera e atmosfera interagem entre si, promovendo a relação entre seus compartimentos biológicos, químicos, físicos e geológicos. Devido à crescente demanda por recursos, o incremento das emissões de poluentes atmosféricos têm aumentado, provocando alterações nos ciclos e consequentemente nos ecossistemas e no clima (KANG *et. al*, 2019; DONEY *et. al*, 2020).

A atmosfera é um sistema em constante transformação devido as diversas fontes de poluentes e a dinâmica entre massas de ar, que podem realizar transporte a pequenas e longas distâncias. Nesse contexto, o conhecimento da composição química, física e biológica da deposição atmosférica através dos aerossóis, é uma importante ferramenta para quantificar e caracterizar os níveis de partículas, visto que são emitidas da superfície, interagem entre si e com a atmosfera e retornam na forma de deposição.

Os aerossóis atmosféricos de origem biológica podem corresponder de 0,7 a 30% das partículas com diâmetro superior a $0,2\mu m$ em suspensão na atmosfera, e podem atuar em processos químicos, microfísicos de nuvens e climatológicos (DELORT *et. al*, 2018; DESPRÉS *et. al*, 2012; MATTHIAS-MASER *et. al*, 1995; MARCOVECCHIO *et. al*, 2020). Além disso, essas partículas também podem ser denominadas como Bioaerossóis, compreendendo principalmente bactérias e fungos suspensos na atmosfera.

No Brasil, ainda são escassos estudos na área devido à multidisciplinariedade, iniciativas isoladas estudaram fungos a partir do material particulado na região metropolitana da São Paulo e, constataram que houve variação da concentração anual e diária de fungos no ar, influenciados pela variação dos fatores meteorológicos, metabolismo dos fungos e poluentes atmosféricos como o dióxido de nitrogênio (EMIGYDIO *et. al*, 2018; SILVA *et.al*, 2020). Diante do exposto, este trabalho de conclusão de curso é baseado em um estudo da caracterização biológica de aerossóis de origem biológica, por meio da deposição atmosférica à luz de fatores ambientais. O estudo encontra-se de forma completa na seção três deste documento.

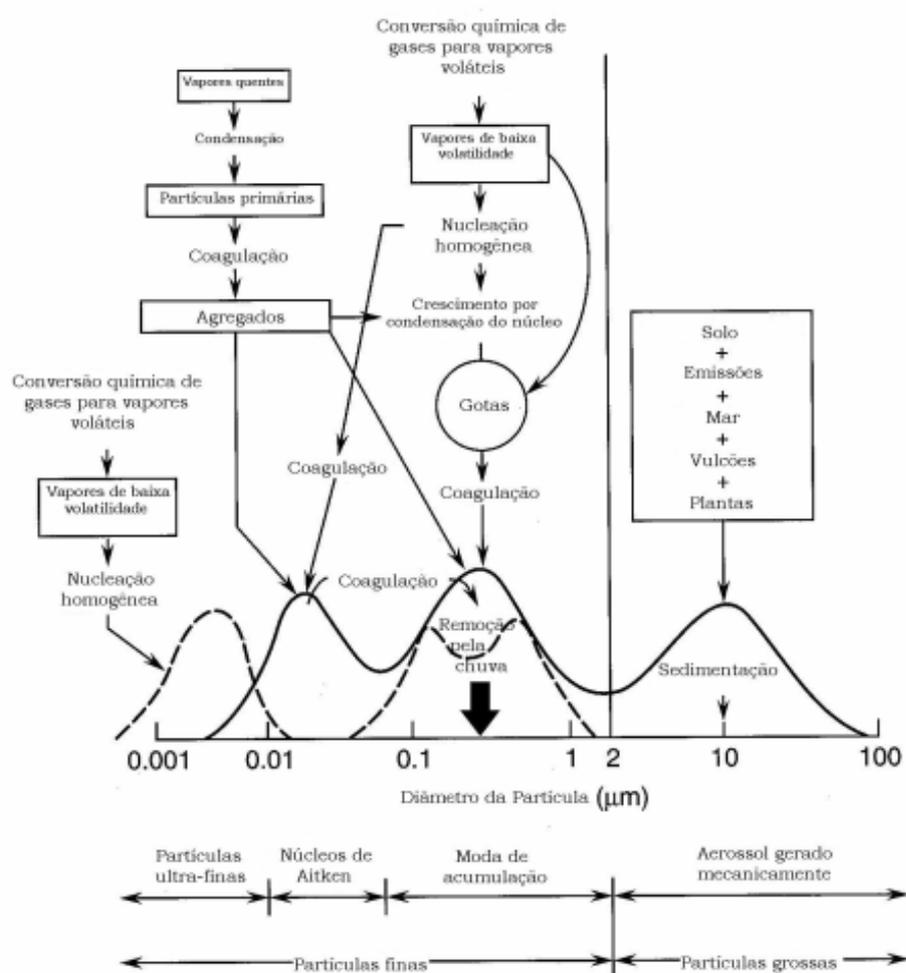
2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Aerossóis

Aerossóis são partículas sólidas e/ou líquidas em suspensão na atmosfera que possuem composição variável, podendo ser constituído de espécies inorgânicas (nitrato, amônio, sulfato), minerais (poeira), orgânicas e biológicas (SEINFELD e PANDIS, 2006; WALLACE e HOBBS, 2006; IPCC, 2014). Essas partículas transeuntes são parte integrante do sistema atmosfera-superfície, intervindo em processos microfísicos de nuvens, climatológicos e químicos.

O tamanho das partículas de aerossol é comumente expresso com base ao seu diâmetro aerodinâmico (D_a), descrito como o diâmetro de uma esfera que possui mesma velocidade de sedimentação e densidade que a partícula em questão (HINDS, 1982). O conjunto das partículas com D_a inferior a $2\mu m$ são classificadas como moda das partículas finas, que geralmente inclui maior parte das partículas, por outro lado as partículas com D_a igual ou superior a $2\mu m$ pertencem a moda das partículas grossas, essa variação de tamanho implica no tempo de residência na atmosfera bem como em suas propriedades físicas e químicas (WHITBY; CANTRELL; 1976; VIEIRA-FILHO; 2015). Ademais, a moda das partículas finas ainda pode ser subclassificada, D_a variando de $\sim 0,08$ a $2\mu m$ são conhecidas como moda de acumulação, de $0,01$ a $0,08\mu m$ como moda de núcleos de Aitken e, $D_a < 0,01\mu m$ como partículas ultrafinas (YNOUE, 2004). Na figura 1, está apresentado a distribuição do tamanho das partículas e suas respectivas modas, a distribuição de Whitby e Cantrell (1976) é representada pela linha contínua-moda grossa e fina, e a moda das partículas ultrafinas é representada pela linha pontilhada.

Figura 1 - Distribuição de tamanho do aerossol.

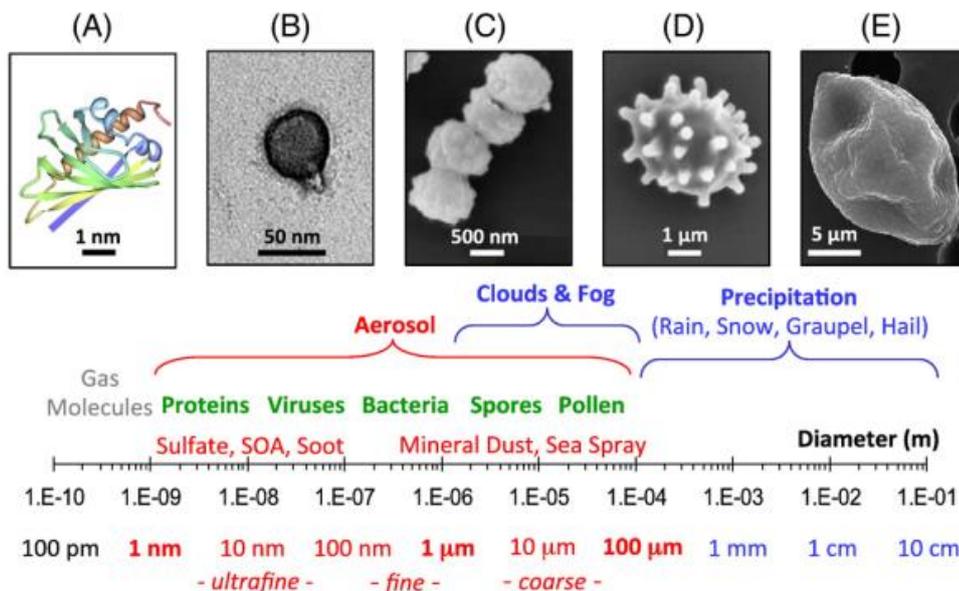


Fonte: Adaptada de Finlayson Pitts e Pitts, 2000 por Ynoue (2004).

2.2. Bioaerossóis

Uma das principais características intrínsecas aos microrganismos é a ubiquidade, ou seja, estão presentes nos mais diversificados ambientes, incluindo habitats como solo, água, ar e vegetação (MADIGAN, 2016). Quando esses microrganismos estão em suspensão na atmosfera são denominados Aerossóis Biológicos Primários (PBAs) ou Bioaerossóis, que consistem principalmente em microrganismos como bactérias, fungos, vírus, protozoários, além de pólen fragmentos de biofilmes e células (figura 2) (DESPRÉS *et. al*, 2012; DELORT e AMATO, 2018). Além disso, devido ao tamanho variado, os microrganismos encontram-se nas modas finas, ultrafinas e grossas, compondo a distribuição geral das partículas.

Figura 2 – Tamanho característico de Aerossóis e Bioaerossóis.



Legenda: A) proteína, B) vírus, C) bactéria, D) esporo fúngico, E) pólen.

Fonte: Adaptado de Fröhlich-Nowoisky (2016).

Os bioaerossóis podem ser coletados do ambiente de forma passiva, pela sedimentação natural em placas de Petri, ou ativa utilizando equipamentos que possuem bombas que succionam o ar filtrando parte dos microrganismos ou separando-os por meio de impactação (DELORT e AMATO, 2018).

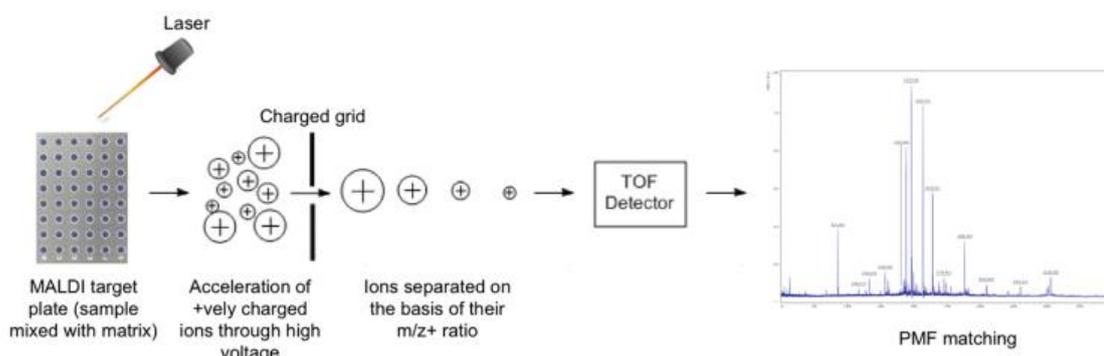
O cultivo desses microrganismos pode ser realizado em placas de Petri contendo meios de cultura que proporcionam nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. Um dos meios de cultura mais amplamente utilizado em estudos de bioaerossóis é o *Reasoner's 2A* (R2A), indicado para microrganismos heterotróficos e que conseguem sobreviver em ambiente com pouca disponibilidade de nutrientes (BAUER *et. al.*, 2002; SMITH *et. al.*, 2014).

2.2.1. Identificação de Bioaerossóis através de Técnicas Moleculares

Ao longo dos últimos anos, as técnicas moleculares para a identificação de microrganismos vêm sendo muito difundidas. Atualmente, a reação em cadeia da polimerase – PCR, é uma das mais utilizadas, pois é altamente sensível e requer pouco material biológico para o sequenciamento do DNA (GANDRA *et. al.*, 2008). A PCR é utilizada em diversas áreas e tem sido a principal técnica empregada para identificação de bioaerossóis (AKILA *et. al.*, 2018; TRIADÓ-MARGARIT *et. al.*, 2019; LANG-YONA *et. al.*, 2020; LI; CHEN; YAO, 2020; LIU *et. al.*, 2020; RODRIGUEZ-GOMEZ *et. al.*, 2020; TIGNAT-PERRIER *et. al.*, 2020; WEI *et. al.*, 2020).

Além da PCR a técnica de dessorção/ionização a laser, assistida por matriz seguida de espectroscopia de massa por tempo de voo (MALDI-TOF MS), também vem crescendo devido sua rapidez e baixa demanda de material biológico. Para emprego da técnica a amostra é inicialmente submetida a soluções de etanol e acetonitrila que proporcionam a inativação do microrganismo (FREIWALD e SAUER, 2009). Segundo Singhal *et. al* (2015) a amostra é inserida da matriz que é submetida a ionização por um feixe de laser gerando prótons, os quais são acelerados e separados com base na relação massa/carga. Tal relação é medida com base no tempo de voo (TOF), do íon. Por conseguinte, é gerado um espectro característico (PMF), que então é comparado aos presentes no banco de dados, as etapas da análise estão apresentadas na figura 3.

Figura 3 – Fluxo de trabalho MALDI-TOF MS.



Fonte: Singhal *et. al* (2015).

Como resultado da análise, um software classifica os microrganismos com base no alcance e categorias de consistência, apresentados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Significado dos Scores.

| Alcance | Descrição | Símbolo |
|------------|--|---------|
| 2300 -3000 | identificação altamente provável das espécies | (+++) |
| 2000 -2299 | identificação segura de gênero, provável identificação de espécies | (++) |
| 1700 -1999 | provável identificação de gênero | (+) |
| 0 - 1699 | identificação não confiável | (-) |

Fonte: Brunker (2019).

Tabela 2 – Significado das categorias de consistência.

| Categoria | Descrição |
|------------------|---|
| A | Consistência de espécie: a melhor correspondência foi classificada como 'verde'. Outras correspondências 'verdes' têm pelo menos a mesma espécie que a primeiro. Outras correspondências 'amarelas' são pelo menos do mesmo gênero que a primeira. |
| B | Consistência de gênero: a melhor correspondência foi classificada como 'verde' ou 'amarela'. Outras correspondências 'verdes' ou 'amarelas' têm pelo menos o mesmo gênero que o primeiro. As condições das espécies de consistência não são cumpridas. |
| C | Sem consistência: não apresenta consistência de espécie e nem de gênero. |

Fonte: Brunker (2019).

2.3. Influência de Bioaerossóis de Processos Atmosféricos

O Ciclo Hidrológico é um dos principais ciclos onde continente, oceano e atmosfera se interligam promovendo a circulação da água e, uma de suas principais etapas é a ocorrência de precipitação, processo no qual a água é liberada das nuvens na forma de chuva, granizo ou neve (EPAL, c2021; INMET, 2021). Para ocorrência de precipitação é necessário que nuvens se formem, que por sua vez são denominadas como um conjunto de gotículas de d'água (YNOUE *et. al*, 2017).

A primeira etapa para a formação de uma gotícula de nuvem é o processo físico de condensação do vapor d'água presente na atmosfera, que ocorre com o resfriamento adiabático de uma parcela de ar. Geralmente, a condensação ocorre sobre algum tipo de superfície – aerossóis, denominados como Núcleo de Condensação de Nuvens (NCN), são partículas com características higroscópicas e com diâmetro que varia de $0,001\mu m$ a $10\mu m$. O ar terrestre carrega cerca de 5 a 6 milhões de NCN por litro e, sua concentração varia ao longo do dia, onde o mínimo é observado às 6 da manhã e o máximo por volta das 18 horas (WALLACE e HOBBS, 2006; BARRY e CHORLEY, 2009; YNOUE *et. al*, 2017).

Em nuvens quentes e baixas, os processos de Colisão e Coalescência são responsáveis pelos crescimentos das gotículas. Dentro da nuvem há gotículas de tamanhos distintos, proporcionando a elas velocidades de queda diferentes, esse fato favorece a colisão e conseqüentemente a união das gotículas. Em contrapartida, em nuvens médias/altas e frias ocorre a presença de Núcleos de Gelo (NG) e gotas super resfriadas, quando ocorre

ressublimação a pressão de vapor diminui, fazendo com que a gotícula super resfriada evapore e se deposite no cristal gelo, aumentando seu tamanho (YNOUE *et. al*, 2017).

Visto que o aerossol é um dos principais elementos no processo, diversas pesquisas buscaram compreender se microrganismos poderiam atuar como NCN e NG para ocorrência de precipitação (BAUER *et. al*, 2003; MÖHLER *et. al*, 2007; FAILOR *et. al*, 2017). Além disso, a concentração de bactérias na nuvem pode chegar a 10^5 bactérias por mililitro e, destaca-se o gênero *Pseudomonas* e o filo *Firmicutes* como grupos de bactérias encontrados em análises de água de nuvem (DELEON-RODRIGUEZ *et. al*, 2013, ŠANTL-TEMKIV *et. al*, 2013).

2.4. Mecanismos de remoção de Bioaerossóis

Os bioaerossóis emitidos para atmosfera por movimentos convectivos de ar são oriundos de diversas fontes da biosfera e, são removidos pelos mecanismos de deposição atmosférica. A deposição atmosférica é um dos principais mecanismos de remoção de partículas e poluentes da atmosfera. Esse processo se caracteriza pelo agente de influência (gravidade ou precipitação). Quando há ação da gravidade, difusão ou impactação sob as partículas, ocorre a deposição Seca, processo lento e contínuo. Em contrapartida, quando ocorre remoção por incorporação nas gotas de chuva, configura-se a deposição úmida um importante mecanismo de limpeza da atmosfera, ademais, a ocorrência simultânea das deposições seca e úmida é denominada de deposição total (SEINFELD e PANDIS, 2006; WALLACE e HOBBS, 2006).

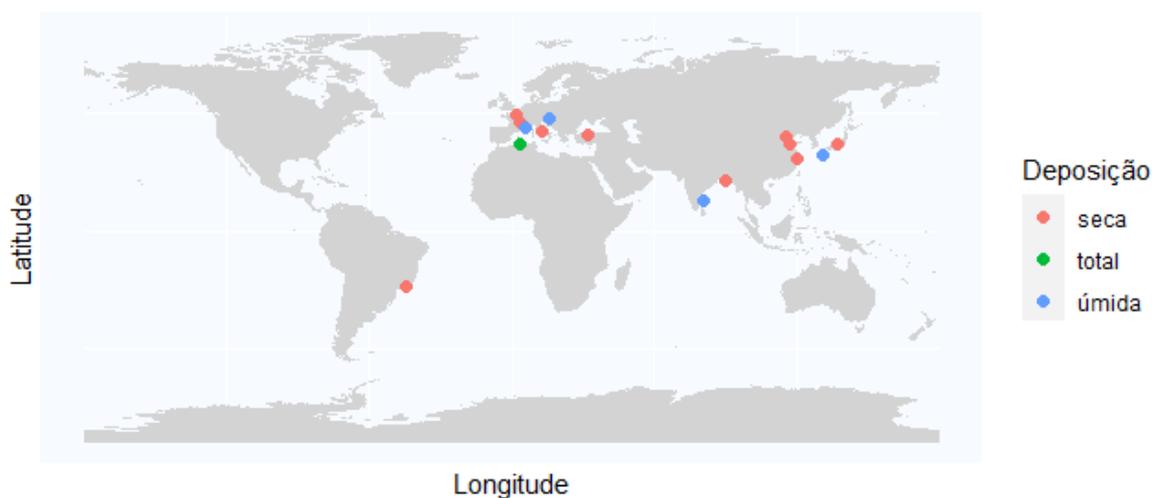
A composição da deposição atmosférica é complexa e variável, sendo função das fontes, antrópicas ou naturais, dos movimentos verticais atmosféricos e a circulação global. Estudos revelam que uma das principais fontes de entrada de nitrogênio em ecossistemas ocorre através da deposição atmosférica. Na baía da Chesapeake nos Estados Unidos esse mecanismo forneceu cerca de 25 a 40% de nitrogênio para a baía, no estado de Minas Gerais no Brasil em um estudo realizado no quadrilátero ferrífero a taxa de deposição de nitrogênio foi superior a $8000 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{ano}$, do mesmo modo no município de Lavras a análise química da deposição total indicou predominância de cálcio e amônio no período de estudado, mostrando a forte relação entre as características locais (mineração e agricultura) na composição da deposição (ALVES, 2019; BURNS, 2021, PEREIRA; FONARO; VIEIRA-FILHO, 2021).

Além de espécies químicas, bioaerossóis também foram detectados e identificados em amostras de deposição atmosférica. Mandrioli *et. al* (1973) realizou uma das primeiras pesquisas que identificaram bactérias na deposição úmida (granizo), por sua vez também foram identificados microrganismos em água de chuva e no material particulado (AKILA *et. al*, 2017;

TIGNAT-PERRIER *et. al*, 2020). Na figura 4 está apresentado a distribuição global de 17 estudos de caracterização de bioaerossóis através da deposição atmosférica, onde constata-se que a maior parte é realizada no hemisfério norte, principalmente na Europa e Ásia, além disso observa-se que ocorreram mais pesquisas a partir do material particulado (deposição seca).

No Brasil, ainda são escassos estudos na área devido a multidisciplinariedade, iniciativas isoladas estudaram fungos a partir do material particulado na região metropolitana da São Paulo e, constataram que houve variação da concentração anual e diária de fungos no ar, influenciados pela variação dos fatores meteorológicos, metabolismo dos fungos e poluentes atmosféricos como o dióxido de nitrogênio (EMIGYDIO *et. al*, 2018; SILVA *et.al*, 2020).

Figura 4 – Panorama global de pesquisas de bioaerossóis através da deposição atmosférica.



Fonte: Do Autor (2021).

2.5. Análises Estatísticas em Ciências Atmosféricas

Frequentemente são aplicadas técnicas estatísticas que visam compreender o comportamento e as relações entre variáveis de um conjunto de dados. Em conjuntos de dados onde há um número muito elevado de variáveis, como nas ciências atmosféricas, é comum empregar-se a análise multivariada, que busca agrupar as variáveis através da identificação de relações e seus processos. Porém, antes de aplicar as técnicas é necessário verificar a adequabilidade do conjunto de dados, dos quais destacam-se o Teste de *Bartlett* e *Kaiser-Meyer-Olkin* (KMO).

2.5.1. Teste de Bartlett

O teste de *Bartlett* verifica a hipótese nula de que a matriz de correlação é uma matriz identidade, caso forem iguais, a análise fatorial não é adequada para o conjunto de dados. A principal condição para adequação é o nível de significância, se for menor que 5% a hipótese nula é rejeita, mostrando indícios que existem relações entre as variáveis (Bartlett, 1937).

2.5.2. Teste de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO)

Essa análise fornece a proporção de variância considerada com que todas as variáveis da amostra analisada são consideradas comuns, ou seja, que pode ser atribuída à existência de um fator comum. O KMO varia de 0 a 1, valores próximos de 1 indicam variância elevada e próximos de 0 pode indicar que a análise fatorial é inadequada, ademais é aceitável valores acima de 0,5 para adequabilidade (FAVERO; BELFIORE, 2017; MATOS; RODRIGUES, 2019).

2.5.3. Técnicas de Análise Fatorial

Dentre as técnicas de estatística multivariada a Análise de Fatores (AF) é empregada para analisar relações complexas multidimensionais por meio do grau de interdependência ou inter-relação entre variáveis. A existência de grupos com grandes coeficientes de correlação entre subconjuntos de variáveis indica que essas variáveis podem representar todos os aspectos de uma mesma dimensão, dimensão essa denominada de fator. Em contrapartida, a Análise dos Componentes Principais (ACP) é semelhante a AF, pois transforma um número de variáveis correlacionadas em um número menor de variáveis, denominadas componentes principais (HAIR *et. al*, 2009; FIELD; MILES; FIELD, 2012; LOESCH; HOELTGEBAUM, 2017). Na ACP costuma-se verificar vários componentes, porém para selecionar os que melhor explicam o comportamento das variáveis é através dos Autovalores, que representam a porcentagem de variância explicada por um fator dada pela soma das cargas fatoriais ao quadrado e, são considerados valores maiores que um (HAIR *et. al*, 2009).

Segundo Laros (2012), a principal diferença entre a ACP e a AF é que a primeira trabalha com a variância total observada, enquanto que a segunda com a variância dos itens. Geralmente, as pesquisas científicas optam pela utilização da ACP, principalmente em estudos relacionados a caracterização de bioaerossóis (CONRADIE *et.al* 2016; GARCIA-ALCEGA *et.al* 2020; WEI *et.al* 2020).

REFERÊNCIAS

AKILA, M. et al. Characterization of bacterial diversity and ice-nucleating ability during different monsoon seasons over a southern tropical Indian region. **Atmospheric Environment**, v. 191, p. 387-394, 2017.

ALVES, Natacha Jordania da Silva. **Avaliação da deposição atmosférica de poluentes em ecossistemas aquáticos montanos do Quadrilátero Ferrífero (MG)**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso.

BARRY, Roger G.; CHORLEY, Richard J. **Atmosfera, tempo e clima**. Bookman Editora, 2009.

BARTLETT, Maurice Stevenson. Propriedades de suficiência e testes estatísticos. **Proceedings of the Royal Society of London. Série A-Ciências Matemáticas e Físicas**, v. 160, n. 901, pág. 268-282, 1937.

BURNS, Douglas A. et al. Atmospheric nitrogen deposition in the Chesapeake Bay watershed: A history of change. **Atmospheric Environment**, v. 251, p. 118277, 2021.

DELEON-RODRIGUEZ, Natasha et al. Microbiome of the upper troposphere: species composition and prevalence, effects of tropical storms, and atmospheric implications. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 7, p. 2575-2580, 2013.

DONEY, Scott C. et al. Os impactos da acidificação dos oceanos nos ecossistemas marinhos e nas comunidades humanas dependentes. **Revisão Anual do Meio Ambiente e Recursos**, v. 45, p. 83-112, 2020.

EMYGDIO, Ana Paula Mendes et al. **One year of temporal characterization of fungal spore concentration in São Paulo metropolitan area, Brazil**. Journal of Aerosol Science, v. 115, p. 121-132, 2018.

FÁVERO, Luiz Paulo; BELFIORE, Patrícia. **Manual de análise de dados: estatística e modelagem multivariada com Excel®, SPSS® e Stata®**. Elsevier Brasil, 2017.

FIELD, Andy; MILES, Jeremy; FIELD, Zoë. **Descobrimos estatísticas usando R**. Publicações Sage, 2012.

GANDRA, A. E.; GANDRA, T. K. V.; MELLO, W. S.; GODOI, H. S. **Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos**. Acta Sci. Technol. Maringá, v. 30, n. 1, p. 109-118, 2008.

GARCIA-ALCEGA, Sonia et al. Fingerprinting ambient air to understand bioaerosol profiles in three different environments in the south east of England. **Science of the Total Environment**, v. 719, p. 137542, 2020.

GRUPO ÁGUAS DE PORTUGAL. **Ciclos da Água**. Disponível em: <https://www.epal.pt/EPAL/menu/epal/comunica%C3%A7%C3%A3o-ambiental/ciclo-da-%C3%A1gua#:~:text=%C3%89%20atrav%C3%A9s%20do%20Ciclo%20Hidrol%C3%B3gic>

o,nos%20rios%2C%20lagos%20e%20oceanos.&text=A%20este%20fen%C3%B3meno%20d%C3%A1%20se,ou%20Ciclo%20Hidrol%C3%B3gico%20da%20%C3%81gua. Acesso em: 12 abr. 2021.

HAIR, Joseph F. et al. **Análise multivariada de dados**. Bookman editora, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Glossário**. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/glossario/massa-de-ar#P>. Acesso em: 12 de abr. 2021.

KANG, Shichang et al. Linking atmospheric pollution to cryospheric change in the Third Pole region: current progress and future prospects. **National Science Review**, v. 6, n. 4, p. 796-809, 2019.

LAROS, Jacob A. **O Uso da Análise Fatorial: Algumas Diretrizes para Pesquisadores**. 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/233735561>. Acesso em 14 de abr. 2021.

LOESCH, Claudio; HOELTGEBAUM, Marianne. **Métodos estatísticos multivariados**. Saraiva Educação SA, 2017.

MANDRIOLI, P. et al. Distribution of microorganisms in hailstones. **Nature**, v. 246, n. 5433, p. 416-417, 1973.

MATOS, Daniel Abud Seabra; RODRIGUES, Erica Castilho. **Análise fatorial**. 2019.

RODRIGUEZ-GOMEZ, Camila et al. Characterization of culturable airborne microorganisms in the Yucatan Peninsula. **Atmospheric Environment**, v. 223, p. 117183, 2020.

ŠANTL-TEMKIV, Tina et al. Hailstones: a window into the microbial and chemical inventory of a storm cloud. **PloS one**, v. 8, n. 1, p. e53550, 2013.

SINGHAL, Neelja et al. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 791, 2015.

PEREIRA, Jaqueline Natiele; FORNARO, Adalgiza; VIEIRA-FILHO, Marcelo. Atmospheric deposition chemistry in a Brazilian rural area: alkaline species behavior and agricultural inputs. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-11.

SEINFELD, John H.; PANDIS, Spyros N. From air pollution to climate change. **Atmospheric chemistry and physics**, v. 1326, 2009.

SILVA, Dulcilena de Matos Castro et al. Air pollution and its impact on the concentration of airborne fungi in the megacity of São Paulo, Brazil. **Heliyon**, v. 6, n. 10, p. e05065, 2020.

TRIADÓ-MARGARIT, Xavier et al. High similarity in bacterial bioaerosol compositions between the free troposphere and atmospheric depositions collected at high-elevation mountains. **Atmospheric Environment**, v. 203, p. 79-86, 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses. 3. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2020.

VIEIRA-FILHO, Marcelo. **Compostos Nitrogenados na Atmosfera de São Paulo: Aspectos Ambientais e Termodinâmicos**. 2015. Tese de Doutorado.

WALLACE, John M.; HOBBS, Peter V. **Atmospheric science: an introductory survey**. Elsevier, 2006.

WEI, Min et al. Effects of aerosol pollution on PM_{2.5}-associated bacteria in typical inland and coastal cities of northern China during the winter heating season. **Environmental pollution**, v. 262, p. 114188, 2020.

WHITBY, K. T.; CANTRELL, B. Atmospheric aerosols- Characteristics and measurement. In: **International Conference on Environmental Sensing and Assessment, Las Vegas, Nev.** 1976. p. 1.

YNOUE, Rita Yuri. **Modelagem numérica da formação, crescimento e transporte das partículas inorgânicas secundárias constituintes do aerossol urbano na região metropolitana de São Paulo**. 2004. Tese de Doutorado.

YNOUE, Rita Yuri et al. **Meteorologia: noções básicas**. Oficina de Textos, 2017.

SEGUNDA PARTE

AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL DA CONCENTRAÇÃO DE BIOAEROSSOIS PRESENTES NA DEPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA EM LAVRAS, MINAS GERAIS

Larissa Lucas Barros^{a*}, Wislei Rodrigues de Oliveira^a, Luciene Batista Siniscalchi^a, Marcelo Vieira-Filho^{a**}

^a Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Lavras, 37200 Lavras – MG, Brasil.

* larissa.barros@estudante.ufla.br

** marcelo.filho@ufla.br

RESUMO

As amostras de deposição atmosférica total foram coletadas no período de setembro de 2018 a março de 2020, através de um coletor de deposição atmosférica do tipo *bulk deposition* localizado no *campus* da Universidade Federal de Lavras em Minas Gerais. Os procedimentos de preservação, inoculação e cultivo dos microrganismos heterotróficos seguiram o *Standard Methods* 9215, adaptado. A identificação dos microrganismos foi realizada através da técnica de dessorção/ionização a laser, assistida por matriz, seguida de espectroscopia de massa por tempo de voo (MALDI-TOF MS). Buscando possíveis correlações entre a concentração de microrganismos e fatores meteorológicos, foram utilizados dados de temperatura, precipitação, umidade relativa e velocidade do vento, obtidos do banco de dados meteorológicos do Centro de Pesquisa de Tempo e Estudos Climáticos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. O período de amostragem resultou em 31 amostras, 21 de deposição total (DT) e 10 de deposição seca (DS). A média das amostras de DT (38.335 UFC/mL) foi superior em 25% das amostras de DS (28.733 UFC/mL). Nesse período foram isoladas 7 colônias de bactérias e 1 fúngica, ao passo que, a identificação por meio do MALDI-TOF MS, foi possível a identificação com alta probabilidade da espécie *Staphylococcus epidermidis* (2094), *Micrococcus luteus* (2425) ao nível de gênero e provável identificação da espécie, e provável identificação do gênero *Rhodotorula* (1964). A Análise dos Componentes Principais do conjunto de dados (*Bartlett*, $p < 0,05$; $KMO = 0,51$) indicou ajuste com quatro componentes que explicaram 31,51 %, 20,39%, 14,97% e 9,09% da variância dos dados.

Palavras-chave: Aerossóis Biológicos Primários. Deposição Total. Bioprecipitação.

1. INTRODUÇÃO

Aerossois possuem composição dinâmica, abrangendo partículas e/ou gases de natureza orgânica, inorgânica e microbiológica, que após emitidos interagem com a atmosfera e retornam à superfície através dos mecanismos da deposição atmosférica (LANG-YONA *et. al.*, 2020; SEINFELD e PANDIS, 2006; TOSITTI *et al.*, 2018). Devido à complexidade de sua composição, a deposição atmosférica desempenha papel importante no transporte de substâncias como nitrogênio e carbono orgânico entre reservatórios naturais - solo e oceanos - nos Ciclos Biogeoquímicos (CONRADIE *et. al.*, 2016; ZHANG *et. al.*, 2020).

Aerossois Biológicos Primários (ABP) ou Bioaerossois correspondem a fração biológica dos aerossois, emitida diretamente da superfície, composto por microrganismos como fungos, vírus, bactérias e fragmentos de células. Esses microrganismos podem corresponder de 0,7 a 30% das partículas com diâmetro superior a $0,2\mu m$ em suspensão na atmosfera (DELORT *et. al.*, 2018; DESPRÉS *et. al.*, 2012; MATTHIAS-MASER *et. al.*, 1995; MARCOVECCHIO *et. al.*, 2020). Os bioaerossois são oriundos de diversas fontes naturais da Biosfera, como solo, corpos hídricos e vegetação (BOWERS *et. al.*, 2013). Do mesmo modo, fontes antropogênicas também contribuem para sua emissão, através de estações de tratamento de efluentes, unidades de triagem de resíduos e atividades agropecuárias (WIKUATS *et. al.*, 2020; CHEN *et. al.*, 2020; NASCIMENTO *et. al.*, 2020).

A dispersão e o transporte atmosférico de bioaerossois pode ocorrer em escala regional e global, devido aos movimentos verticais atmosféricos e a circulação global e, seu tempo de residência depende de suas características físicas, metabolismo e condições meteorológicas (LANG-YONA *et. al.*, 2020). Além disso, a riqueza das comunidades microbianas a nível local, estão correlacionadas a sazonalidade, advinda da variação das condições meteorológicas, e do tipo cobertura de solo (TIGNAT-PERRIER *et. al.*, 2020).

Em virtude da patogenicidade de muitos microrganismos, grande parte das pesquisas é direcionada à saúde pública com ênfase em ambientes internos (KALLAWICHA *et. al.*, 2016; ROY *et. al.*, 2020). PRIYAMADA *et. al.* (2018), analisou a concentração de bioaerossois em ambientes internos e externos, constatando que as concentrações médias são maiores em áreas externas.

Tendo em vista o papel do bioaerossol na atmosfera, bactérias podem atuar como núcleo de gelo (NG) e núcleo de condensação de nuvens (NCN), etapas essenciais para ocorrência de precipitação, uma das principais fases do Ciclo Hidrológico (BAUER *et. al.*, 2003; MÖHLER

et. al, 2007). Dentre as famílias de bactérias que desempenham papel de NG destacam-se *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Xanthomonadaceae* (FAILOR *et. al*, 2017).

Além disso, bactérias também foram identificadas a partir de técnicas de extração, amplificação e sequenciamento do DNA em amostras de água de chuva, material particulado e amostradores de ar acoplados a aeronaves na baixa Estratosfera (AKILA *et. al*, 2017; LANDINO *et. al*, 2019; SMITH *et. al*, 2018).

Estudos da caracterização de bioaerossóis têm se tornado mais recente a partir da década de 2010, e se devem a maior complexidade e interdisciplinaridade, e dentre estes, poucos trabalhos avaliam amostras no Brasil, e limitaram-se a caracterizar fungos a partir do material particulado (EMYGIDIO, *et. al*, 2018; SILVA *et. al* 2020). Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo, quantificar e identificar bactérias através de amostras de deposição atmosférica da cidade de Lavras – MG, afim de identifica-las e compreender sua relação com os fatores ambientais locais.

2. MATERIAS E MÉTODOS

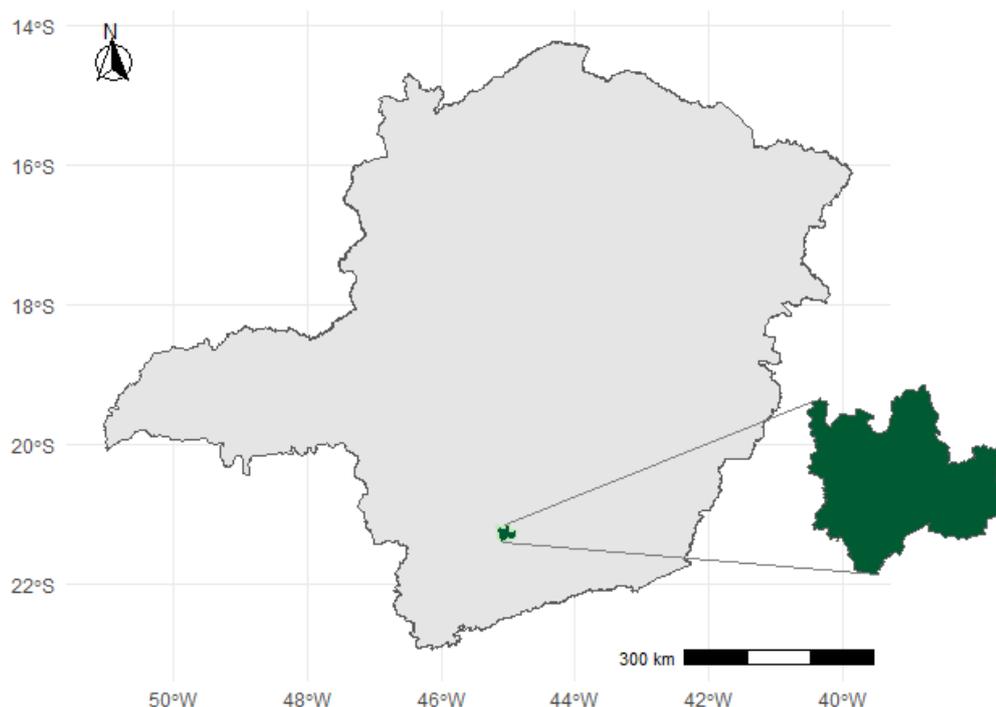
2.1. Área de estudo

A cidade de Lavras (21° 13' 45,3"S 44° 58' 32,4"O) localiza-se na região sul do estado de Minas Gerais (figura 1) a 240 km de sua capital Belo Horizonte. Possui população estimada de 104783 habitantes e sua economia é baseada no comércio, agricultura e indústrias automobilísticas (IBGE, 2010).

A localidade está a uma altitude de 919 m, possui precipitação acumulada de 1461,1 mm, segundo a normal climatológica de 1981 a 2010 (INMET, 2021). De acordo com a classificação climática de Köppen, Lavras possui clima Cwa, com predominância de chuvas no verão, inverno seco e temperatura do mês mais quente (fevereiro) superior a 22 °C (DANTAS; CARVALHO; FERREIRA, 2007).

As amostras de deposição atmosférica foram coletadas durante o período de setembro de 2018 a março de 2020 no *campus* da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Figura 1 – Localização do município de Lavras – MG.



Fonte: Do autor (2021).

2.2. Amostragem de Deposição Atmosférica

A coleta das amostras foi realizada através de uma estrutura com altura de 1,5 m do solo, onde recipientes de polietileno de alta densidade (NALGON) com volume de 8L, previamente condicionados com água deionizada (18m Ω), foram alocados no interior de uma estrutura de PVC com proteção UV e protegidos com tela de nylon, evitando a deposição de material macroscópico. O aparato experimental (figura 2) foi disposto a uma distância de 10 m de qualquer edificação, em um local cercado, evitando assim contaminação por respingos do solo, telhado e interferência humana ou de animais. As amostragens foram realizadas para um período de no mínimo sete dias, sendo que após cada período, uma alíquota foi transferida para o laboratório.

As amostras foram caracterizadas como deposição atmosférica total quando houve volume de água proveniente de precipitação, em contrapartida na ausência de precipitação (deposição seca) foi adicionado 60mL de água deionizada no recipiente, de forma a abranger toda sua área interna e solubilizar o material depositado. Após caracterização e aferição do volume da amostra, uma fração foi segregada para realização de análises microbiológicas. Quando houve impossibilidade de realizar as análises microbiológicas imediatamente após a

coleta, o material foi armazenado em um refrigerador a uma temperatura de 4°C por um período de no máximo de 24 horas.

Figura 2 – Aparato experimental: Coletor de Deposição Total Atmosférica.



Fonte: Do Autor (2018).

2.3. Análises Microbiológicas

Devido à ausência de metodologia padronizada para o cultivo de bioaerossóis a partir da deposição atmosférica, os procedimentos desse estudo foram adaptados com base no *Standard Methods for the Heterotrophic Plate Count* 9215, metodologia aplicada para estimar bactérias heterotróficas em amostras de água e, pesquisas que realizaram isolamento de bactérias a partir da deposição úmida (BAUER *et. al*, 2003; APHA, 2005; AKILA *el. al*, 2018).

Testes iniciais para determinação do volume inoculado, revelaram que 1 mL de amostra, impossibilitou, na maioria das placas, a contagem das colônias, e nas que foram possíveis quantificar, foram observadas mais de 100 UFC/mL. O mesmo volume (1mL) submetido a filtração por membrana de 0,2 μ m, reduziu em até 20% nas UFC. Em contrapartida, nos testes de diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) foram observadas UFC inferior a 30, o que não se adequou as recomendações do *Standard Methods for the Heterotrophic Plate Count* 9215. Portanto foi adotado 0,001 mL, por retornar UFC inferior a 100.

Em um ambiente estéril uma alíquota de 0,001mL foi inoculada em placas de Petri (90x15 mm), previamente autoclavadas contendo ágar *Reasoner's 2A* (R2A) (KASVI K25-

610129) através do método *spread plate*, realizando espalhamento da amostra com auxílio de uma alça volumétrica, estéril e descartável. A inoculação procedeu-se em triplicatas, um primeiro conjunto contendo as alíquotas das amostras e um segundo com placas controle - expostas ao ambiente laboratorial durante o procedimento -, totalizando seis placas por amostras.

As placas foram incubadas durante sete dias em uma estufa do tipo BOD a uma temperatura de 28°C. Após período de incubação as colônias foram contabilizadas em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) com base na seguinte equação:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{colônias quantificadas}}{\text{volume inoculado (mL)}}$$

A contagem distinguiu as colônias por sua coloração, possibilitando seu cultivo individual a fim de obter uma cultura pura para posterior identificação.

2.4. Identificação dos microrganismos

Os microrganismos foram identificados a partir de duas proteínas ribossomais, por meio de espectroscopia de massa com fonte de ionização a laser, assistida por matriz com analisador de tempo de voo (MALDI-TOF MS). Técnica que vem sendo difundida devido a simplicidade, rapidez e baixa demanda de material biológico. Nesse estudo o procedimento baseou-se em um pré-tratamento químico das colônias, seguido de espectroscopia de massa e análise computacional.

O método empregado para preparação das colônias segue a metodologia de FREIWALD e SAUER (2009), onde as bactérias são inativadas para a extração de proteínas, gerando um material biológico para ser adicionado à matriz para análise no MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics).

O software *Biotyper* gera espectros e os compara com os existentes em sua biblioteca IVD (*In Vitro Diagnostic System*, Bruker Daltonics), buscando padrões de picos e utilizando da posição, distribuição de intensidade e frequência dos picos. O *Biotyper* reporta uma classificação baseada em pontuações propostas pelo fabricante: (+++) 2300 a 3000 identificação confiável a nível de espécie; (++) 2000 a 2299 identificação segura de gênero e provável para espécie; (+) 1700 a 1999 provável identificação de gênero; (-) 0 a 1699 identificação não confiável.

2.5. Dados Meteorológicos e Análises Estatísticas

Os dados meteorológicos da estação convencional de Lavras (83687), localizada na UFLA (21°13'33.94"S 44°58'46.93") a 520m do aparato experimental, foram obtidos do repositório virtual do Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC) vinculado ao Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). Para o presente estudo foram atribuídos os seguintes elementos meteorológicos: temperatura, umidade relativa, velocidade do vento e precipitação, do período de setembro de 2018 a março de 2020.

A relação entre os elementos meteorológicos e a concentração de bactérias na deposição atmosférica foi realizada a partir de análises de estatística descritiva e multivariada, as quais foram efetuadas por meio da linguagem de programação R e sua interface RStudio utilizando os pacotes, *ggplot2*, *openair*, *psych*, *factoextra* (WICKHAM, 2016; CARSLAW; ROPKINS, 2012; KASSAMBRA; MUNDT, 2020; R CORE TEAM, 2020; REVELLE, 2020).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

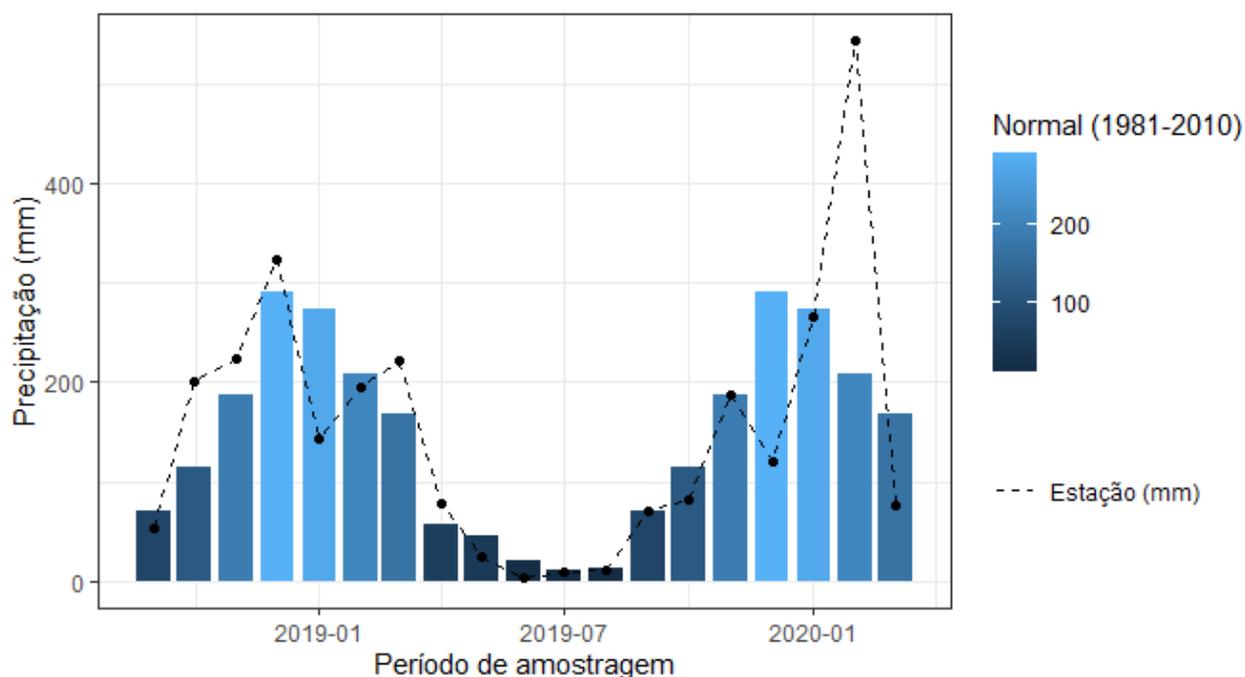
3.1. Caracterização Meteorológica

A normal climatológica (1981 a 2010) apresentou para o período chuvoso, correspondente aos meses de setembro a março, total acumulado de 1314,6 mm, em contrapartida o período seco (abril a agosto) o total foi de 147,6 mm.

A análise comparativa entre a normal climatológica e o período amostrado - figura 3, revela que os meses de agosto e outubro de 2018 apresentaram anomalias positivas de 53,2 e 86,6 mm, respectivamente. Em 2019 observaram-se anomalias negativas de 129,3, 17,7 e 170,7 mm nos meses de janeiro, junho e dezembro, respectivamente. Do mesmo modo, em 2020 o mês de janeiro apresentou volume precipitado 159% acima e fevereiro 54% abaixo do observado na normal climatológica. Logo, o maior número de anomalias na precipitação ocorreu no período chuvoso.

No período de amostragem (setembro/2018 a março/2020) foi registrado pelo INMET 1723,3 mm de precipitação. O volume coletado pela deposição atmosférica total compreende a 1025,3 mm, representando 60% do registrado pelo INMET. Ademais, tais diferenças podem estar associadas à evaporação e ao tempo de amostragem, que variou de 7 a 20 dias, bem como pela presença de amostras de deposição seca.

Figura 3 – Gráfico comparativo entre a normal climatológica (1981 a 2010) e o período de amostragem .



Fonte: Do Autor (2021).

3.2. Caracterização do Conjunto Amostral

Durante o período de estudo foram coletadas, 21 amostras de deposição total e 10 de deposição seca, totalizando 31 amostras de deposição atmosférica. Na tabela 1 estão apresentadas as amostras obtidas no período de estudo, bem como sua classificação e concentração de colônias.

Tabela 1 – Classificação das amostras obtidas durante o período de estudo.

| Amostras | Concentração (UFC/mL) | Tipo de deposição | Volume coletado (mm) | Volume estação (mm) |
|----------|-----------------------|-------------------|----------------------|---------------------|
| 32 | $4,3 \times 10^4$ | total | 35,3 | 64,0 |
| 33 | $4,2 \times 10^3$ | total | 0,3 | 26,0 |
| 34 | $7,8 \times 10^2$ | total | 13,6 | 10,3 |
| 43 | $5,0 \times 10^3$ | total | 24,3 | 34,0 |
| 47 | $1,6 \times 10^4$ | total | 5,7 | 27,0 |
| 55 | $9,8 \times 10^3$ | total | 14,2 | 47,0 |

| | | | | |
|----|-------------------|-------|-------|-------|
| 58 | $1,6 \times 10^4$ | total | 3,6 | 72,0 |
| 59 | $4,8 \times 10^4$ | seca | 1,4 | 0,0 |
| 60 | $4,8 \times 10^4$ | total | 25,1 | 41,0 |
| 61 | $5,0 \times 10^3$ | seca | 1,4 | 0,0 |
| 62 | $3,3 \times 10^4$ | total | 1,6 | 6,0 |
| 63 | $1,1 \times 10^4$ | seca | 1,6 | 3,0 |
| 65 | $5,5 \times 10^4$ | total | 3,0 | 7,0 |
| 67 | $5,4 \times 10^4$ | seca | 1,4 | 27,0 |
| 68 | $2,5 \times 10^4$ | seca | 1,4 | 0,0 |
| 69 | $2,7 \times 10^4$ | seca | 1,4 | 0,0 |
| 70 | $1,9 \times 10^4$ | seca | 1,4 | 0,0 |
| 71 | $5,0 \times 10^3$ | total | 67,2 | 91,0 |
| 72 | $3,7 \times 10^4$ | seca | 1,6 | 27,0 |
| 73 | $1,8 \times 10^4$ | total | 26,2 | 49,0 |
| 76 | $5,0 \times 10^4$ | seca | 1,6 | 13,0 |
| 77 | $1,4 \times 10^4$ | total | 121,4 | 222,0 |
| 79 | $1,0 \times 10^5$ | total | 36,1 | 88,0 |
| 82 | $8,3 \times 10^4$ | total | 70,1 | 76,0 |
| 83 | $3,4 \times 10^4$ | total | 11,1 | 25,0 |
| 84 | $8,1 \times 10^4$ | total | 127,5 | 150,0 |
| 85 | $2,6 \times 10^4$ | total | 221,8 | 317,0 |
| 86 | $1,3 \times 10^5$ | total | 102,0 | 123,0 |
| 87 | $3,0 \times 10^4$ | total | 104,1 | 119,0 |
| 88 | $5,2 \times 10^4$ | total | 11,0 | 55,0 |
| 89 | $1,1 \times 10^4$ | seca | 1,6 | 4,0 |

Fonte: Do Autor (2021).

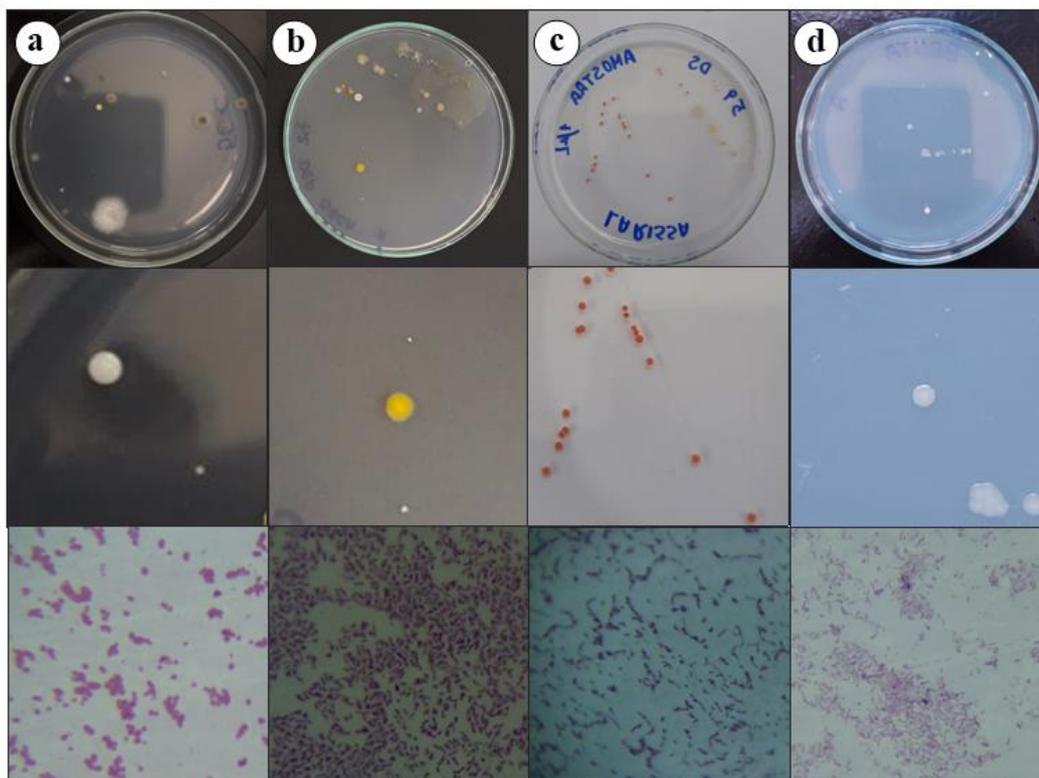
Dentre as amostras de deposição total a que apresentou maior densidade média ($1,3 \times 10^5$ UFC/mL) de colônias ocorreu no período de 14 a 21 de fevereiro de 2020 e a menor densidade ($7,8 \times 10^2$ UFC/mL) de 25 de setembro a 2 de outubro de 2018, ressalta-se ainda que outubro de 2018 e fevereiro de 2020 apresentaram anomalias positivas na precipitação. Em relação as amostras de deposição seca, a que apresentou maior densidade ($5,4 \times 10^4$ UFC/mL) correspondeu ao período de 17 de agosto a 5 de setembro de 2019 e as menores densidades foram registradas no período de 4 a 11 de junho de 2019 e 5 a 12 de março de 2020.

Cabe ressaltar, que a médias de todas as amostras de deposição total ($3,8 \times 10^4$ UFC/mL) teve densidade 25% maior ao valor médio de deposição seca ($2,9 \times 10^4$ UFC/mL). Tal discrepância se deve ao fato da deposição seca compreender uma parcela da deposição total, assim tal diferença sugere que alguns microrganismos são removidos somente pela fase úmida da deposição. Não obstante, a variabilidade entre amostras secas e totais é afetada por variáveis meteorológicas, como o total de chuva acumulado, umidade relativa e temperatura no período.

3.3. Microrganismos Identificados e Relações com Fatores Meteorológicos

Foram obtidos inicialmente cinco isolados de colônias classificadas de acordo com a pigmentação: branca (C1), amarela (C2), laranja (C3), leitosa (C4), rosa –(C6). Das colônias observadas, apenas C1 foi caracterizada como Gram-positiva, C2, C3 e C4 classificaram-se ao grupo das Gram-negativas. Em relação ao arranjo e morfologia, C1 apresentou-se na forma de *estreptococcus*, C2 *estafilococcus* e, C3 e C4 em *bacilos* (figura 4). Ressalta-se ainda que nas amostras obtidas a partir de agosto de 2019, foram observadas duas novas colônias, C7 e C8, ambas com coloração branca, porém C7 apresentou uma região nuclear delimitada enquanto C8 borda irregular.

Figura 4 – Caracterização morfológica das colônias C1, C2, C3 e C4.



Legenda: coluna a) colônia C1; coluna b) colônia C2; coluna c) colônia C3 e coluna d) colônia C4. A terceira foto das colunas, foram obtidas a partir de uma Lupa.

Fonte: Do Autor (2021).

Dos isolados bacterianos, identificaram-se pela técnica MALDI-TOF das colônias C1, C2 e C6, apresentados na tabela 2, respectivamente:

Tabela 2 – Classificação das colônias pela técnica MALDI-TOF MS.

| Colônia | Nível de identificação | Combinação | Score | Identificação NCBI |
|---------|------------------------|-----------------------------------|-------|--------------------|
| C1 | (++) | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 2094 | 1282 |
| C2 | (+++) | <i>Micrococcus luteus</i> | 2425 | 1270 |
| C3 | (-) | <i>Pseudomonas veronii</i> | 1291 | 76761 |
| C6 | (+) | <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> | 1964 | 5537 |

Fonte: Do Autor (2021).

Além dos *scores* e as combinações, o *software* Biotyper também oferece o número de registro do microrganismo do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Das colônias apenas a *Micrococcus luteus* (C2) pode ser classificada em nível de espécie, C1 apresentou classificação segura para o gênero *Staphylococcus* e C6 uma provável combinação com o gênero *Rhodotorula*, C3 não apresentou combinação confiável com o banco de dados.

A *Staphylococcus epidermidis* (presente em 75% das amostras), pertence ao filo *Firmicutes*, podem viver na pele humana e em ambientes naturais, as mesmas são inofensivas (LEE, 2020). Apesar do filo ter sido isolado de amostras de água de chuva, a espécie não apresenta associação com amostras ambientais, indicando possível contaminação, pois a inoculação não ocorreu em uma capela de fluxo laminar com prévia esterilização com radiação ultravioleta (AKILA *et. al* 2018).

O gênero *Rhodotorula* presente em 67% das amostras, e invariavelmente nas amostras de deposição seca obtidas no período de estudo. Em contrapartida, das 21 amostras de deposição total, observaram-se apenas 11, das quais 9 foram referentes ao período chuvoso (setembro a março). Essa levedura pertence ao filo *Basidiomycota*, a presença desse microrganismo reporta as condições do meio de cultura, que recupera microrganismos heterotróficos. Esses microrganismos produzem carotenóides, devido a isso apresentam coloração cor-de-rosa e, essa capacidade de pigmentação permite ao microrganismo sobreviver a condições adversas como altos níveis de UV, variações da temperatura e baixa disponibilidade de nutrientes (BUTINAR *et. al*, 2007; DELORT *et al.*, 2010; POLYMENACOU, 2012; AÏTILINGOM *et al.*, 2012; GANDOLGI *et al.*, 2013). Além disso, tais microrganismos foram identificados a partir de diversas amostras de ambientes salinos e, no ar de ambientes internos e externos (BUTINAR *et. al*, 2005; CHEGINI *et. al*, 2020). No Brasil, a mesma foi isolada em amostras de solo do semiárido, no litoral do Rio de Janeiro, na rede de abastecimento de água potável (filo

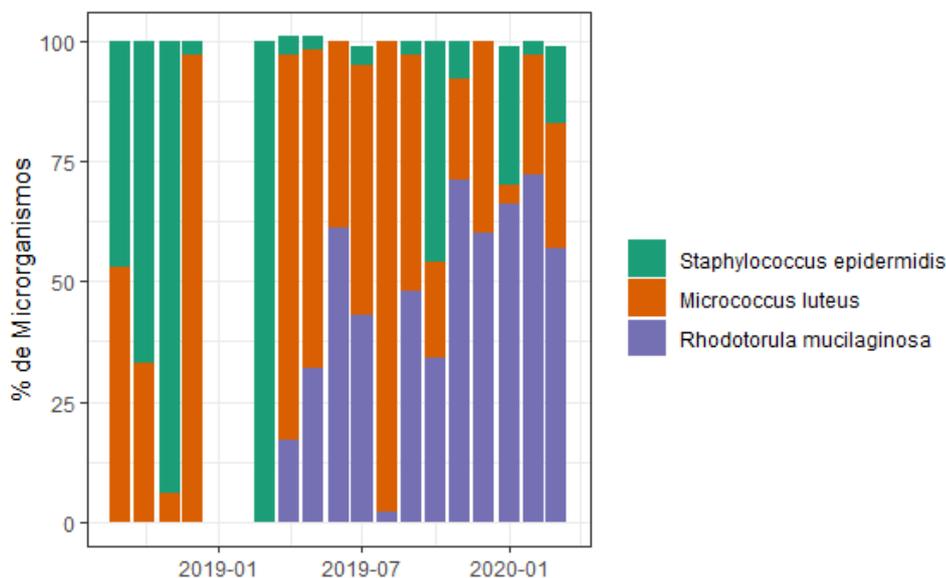
Basidiomycota) e ar na cidade de São Paulo (MENDONÇA-HAGLER, 1981; COSTA, 2006; MAZUCHI, 2019; EMYGIDIO *et. al*, 2018).

A espécie *Micrococcus luteus*, do filo *Actinobacteria*, tem como principal habitat o solo, e também identificados em ambientes aquáticos e no ar de ambientes internos (CROS, 1981; KOOKEN *et. al*, 2014). Essa bactéria foi a mais abundante no conjunto amostral, presente em cerca de 90% das amostras. Em um estudo utilizando amostradores de ar, para obtenção de material particulado em Beijing – China, identificou que entre 5,7 a 14,7% das bactérias do filo *Actinobacteria* foram encontradas em amostras coletadas próximas a vias públicas. Dessa forma a presença de *Micrococcus luteus* pode estar relacionada ao revolvimento de partículas devido ao trânsito veicular (LI, 2020).

Os três microrganismos identificados pela técnica MALDI-TOF MS, apresentaram variação na concentração mensal (figura 5). As maiores concentrações para *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus* e *Rhodotorula*, foram observados nos meses de março e agosto de 2019 e fevereiro/2020, respectivamente.

Apesar das colônias apresentarem variação mensal na concentração, a correlação de *Spearman* revelou que os microrganismos identificados não apresentaram relações monotônicas significativas – $p < 0,05$, com os elementos meteorológicos aplicados nesse estudo, mas, apresentaram apenas correlações positivas com as UFCs totais da amostra, porém TIGNAT-PERRIER *et. al* (2020) encontrou correlação positiva significativa – $r = 0,38$, com radiação UV.

Figura 5 – Variação da concentração mensal dos microrganismos durante o período de amostragem.



Fonte: Do Autor (2021).

Embora a correlação monotônica não tenha apresentado resultados satisfatórios para as variáveis meteorológicas estudadas, a análise fatorial exploratória mostrou que os dados eram adequados para a análise (teste de esfericidade de *Bartlett*, $p < 0,05$; $KMO = 0,51$). A análise indicou um melhor ajuste com a extração de quatro fatores, pois apresentaram autovalores maiores que um, e explicaram 31,51 %, 20,39%, 14,97% e 9,09% da variância dos dados, respectivamente (tabela 3).

Tabela 3 – Autovalores, porcentagem da variância e variância acumulada.

| Componente | CP1 | CP2 | CP3 | CP4 |
|-------------------------|------------|------------|------------|------------|
| Autovalor | 4,09 | 2,65 | 1,94 | 1,18 |
| Variância (%) | 31,51 | 20,39 | 14,97 | 9,09 |
| Variância Acumulada (%) | 31,51 | 51,89 | 66,86 | 75,95 |

Fonte: Do Autor (2021).

Na tabela 4, está apresentado a contribuição de cada variável nas componentes, bem como a variância compartilhada entre as variáveis – comunalidade.

Tabela 4 – Contribuição das variáveis por componentes principais e a variância compartilhada.

| Variáveis | CP1 | CP2 | CP3 | CP4 | Comunalidade |
|------------------------|------------|------------|------------|------------|---------------------|
| Tempo de coleta | 0,12 | 0,23 | | 0,67 | 0,52 |
| UFC/mL | 0,14 | 0,94 | | | 0,91 |
| <i>S. epidermidis</i> | -0,22 | -0,12 | -0,72 | | 0,59 |
| <i>M. luteus</i> | -0,14 | 0,82 | 0,17 | 0,39 | 0,87 |
| <i>R. mucilaginosa</i> | 0,29 | 0,80 | | -0,23 | 0,79 |
| WSm | | -0,17 | 0,81 | 0,32 | 0,80 |
| WSsd | -0,15 | 0,17 | 0,80 | 0,2 | 0,73 |
| P | 0,94 | | | | 0,89 |
| Tam | | 0,23 | -0,21 | -0,78 | 0,71 |
| Tasd | -0,52 | -0,13 | 0,65 | | 0,71 |
| RHm | 0,72 | | -0,47 | 0,33 | 0,85 |
| RHsd | -0,42 | -0,33 | 0,49 | 0,33 | 0,64 |
| Volume | 0,92 | 0,13 | | | 0,87 |

Legenda: WSsd – desvio padrão da velocidade do vento; WSm – velocidade do vento média; Tasd – desvio padrão da temperatura do ar; RHsd – desvio padrão da umidade relativa; UFC/mL – concentração de microrganismos – UFC/mL-; Volume – volume de amostra coletada; P – precipitação; RHm – umidade relativa média.

Fonte: Do Autor (2021).

A comunalidade foi alta para todas as variáveis, indicando que são explicadas pelos quatro fatores. Na CP1 as variáveis que apresentaram maiores cargas fatoriais (P, Tasd, RHm, RHsd e Volume) estão relacionados aos fatores meteorológicos envolvidos na formação de

precipitação, indicando que o volume coletado possui uma relação positiva com a precipitação do período e que esses microrganismos foram removidos pela deposição atmosférica. Apesar dos microrganismos apresentarem baixas cargas fatoriais na CP1, esses valores podem ser considerados, por serem componentes biológicos influenciados por diversos outros fatores ambientais e metabólicos, assim a presença de *S. epidermidis* e *M. luteus* poderiam estar relacionadas a variabilidade de temperatura do ar e umidade relativa. Em contrapartida, a poderia estar relacionada com maiores volumes de precipitação e um período caracterizado com baixa variação de umidade relativa.

A CP2 foi observada maiores cagas para as variáveis UFC/mL, *M. luteus*, *R. mucilaginosa*, *S. epidermidis* apresentou relação inversa com os outros microrganismos e com a contração total da amostra, o que pode indicar que sua presença pode ser afetada pelos demais, por tanto, essa componente dá indícios da dinâmica desses microrganismos nas amostras de deposição atmosférica. *S. epidermidis* apresentou relação inversa com WSd, WSm, Tasd e RHsd na CP3, indicando que a presença dessa bactéria na atmosfera é afetada pelo movimento de ascensão e subsidência de massas de ar, processo que depende de fatores como a variação da temperatura, acarretando no movimento das massas de ar que geram os ventos horizontais, proporcionando um ambiente instável propício para dispersão de partículas. Apesar da espécie bacteriana *Staphylococcus epidermidis* estar relacionada principalmente a estudos voltados a saúde, o filo ao qual pertence (*Firmicutes*) variou de 15,2 a 30% em amostras de material particulado (LANG-YONA *et. al*, 2020; TIGNAT-PERRIER *et. al*, 2020). Além disso, considerando que as bactérias C7 e C8, são morfologicamente semelhantes a *Staphylococcus epidermidis*, possivelmente também pertencem ao filo *Firmicutes*. A CP4 não apresentou relações compreensíveis, indicando a necessidade da ampliação do conjunto de dados.

4. CONCLUSÃO

A partir do estudo dos bioaerossois por meio da deposição atmosférica, constatou-se que a concentração dos microrganismos varia ao longo dos períodos seco e chuvoso. Portanto, esse estudo possui grande relevância, principalmente no Brasil, onde pesquisas na área ainda são escassas.

Das 31 amostras analisadas, como esperado, as amostras de deposição total apresentaram maior densidade de colônias, por corresponderem ao somatório da deposição seca e úmida. Além disso houve sazonalidade dos microrganismos ao longo do ano, destacando a presença de *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Rhodotorula mucilaginosa* ao

longo do período estudado. Apesar da correlação não ter apresentado resultados satisfatórios entre os microrganismos e elementos meteorológicos a Análise dos Componentes Principais agrupou a *Staphylococcus epidermidis* com os fatores meteorológicos. Apesar dessa bactéria indicar possível contaminação, o gênero ao qual pertence foi identificado em estudos recentes de Bioaerossóis na deposição atmosférica.

A partir dos resultados, constata-se a importância do monitoramento contínuo para ampliação do conjunto de dados possibilitando relações mais claras entre microbiologia aérea e meteorologia.

REFERÊNCIAS

AKILA, M. et al. Characterization of bacterial diversity and ice-nucleating ability during different monsoon seasons over a southern tropical Indian region. **Atmospheric Environment**, v. 191, p. 387-394, 2017.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater: 9215 Heterotrophic Plate Count, 2018. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.188>.

BAUER, Heidi et al. Airborne bacteria as cloud condensation nuclei. **Journal of Geophysical Research: Atmospheres**, v. 108, n. D21, 2003.

BOWERS, Robert M. et al. Seasonal variability in bacterial and fungal diversity of the near-surface atmosphere. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 21, p. 12097-12106, 2013.
CARSLAW, D. C; ROPKINS, K. **openair - an R package for air quality data analysis**. 2012. *Environmental Modelling & Software*. Volume 27-28, 52-61.

BRIZZOTTI-MAZUCHI, Natalia S. et al. Diversidade, sazonalidade e suscetibilidade a antifúngicos de leveduras na rede pública de abastecimento de água potável em um município do sudeste do Brasil. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 20, n. 3, pág. 450-455, 2020.

BUTINAR, L. et al. Diversidade de leveduras em habitats hipersalinos. **Cartas de microbiologia FEMS**, v. 244, n. 2, pág. 229-234, 2005.

BUTINAR, Lorena; SPENCER-MARTINS, Isabel; GUNDE-CIMERMAN, Nina. Yeasts in high Arctic glaciers: the discovery of a new habitat for eukaryotic microorganisms. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 91, n. 3, p. 277-289, 2007.

CHEN, Yan-huan et al. Quantitative microbial risk assessment and sensitivity analysis for workers exposed to pathogenic bacterial bioaerosols under various aeration modes in two wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, v. 755, p. 142615, 2020.

CONRADIE, E. H. et al. The chemical composition and fluxes of atmospheric wet deposition at four sites in South Africa. **Atmospheric environment**, v. 146, p. 113-131, 2016.

COSTA, Misael Silva Ferreira. Diversidade de leveduras do solo do SEMI-ÁRIDO da BAHIA, BRASIL. 2006.

CROSS, T. Aquatic actinomycetes: a critical survey of the occurrence, growth and role of actinomycetes in aquatic habitats. **Journal of applied Bacteriology**, v. 50, n. 3, p. 397-423, 1981.

DANTAS, Antonio Augusto Aguilar; CARVALHO, Luiz Gonzaga de; FERREIRA, Elizabeth. **Classificação e tendências climáticas em Lavras, MG**. Ciência e Agrotecnologia, v. 31, n. 6, p.1862-1866, 2007.

DELORT, Anne-Marie et al. Uma breve visão geral da população microbiana nas nuvens: papéis potenciais na química atmosférica e nos processos de nucleação. **Atmospheric Research**, v. 98, n. 2-4, pág. 249-260, 2010.

DELORT, Anne-Marie. **Microbiology of aerosols**. John Wiley & Sons, Inc, 2018.

DESPRÉS, VivianeR et al. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. **Tellus B: Chemical and Physical Meteorology**, v. 64, n. 1, p. 15598, 2012.

EMYGDIO, Ana Paula Mendes et al. **One year of temporal characterization of fungal spore concentration in São Paulo metropolitan area, Brazil**. Journal of Aerosol Science, v. 115, p. 121-132, 2018.

HAGLER, Allen N.; MENDONÇA-HAGLER, Leda C. Yeasts from marine and estuarine waters with different levels of pollution in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 173-178, 1981.

FAILOR, KC et al. Bactérias ativas de nucleação de gelo na precipitação são geneticamente diversas e nucleadas gelo empregando mecanismos diferentes. **The ISME journal**, v. 11, n. 12, pág. 2740-2753, 2017.

FREIWALD, Anja; SAUER, Sascha. Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. **Nature protocols**, v. 4, n. 5, p. 732-742, 2009.

GANDOLFI, Isabella et al. Unravelling the bacterial diversity in the atmosphere. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 11, p. 4727-4736, 2013.

HOF, Herbert. “Rhodotorula spp. no intestino - inimigo ou amigo?” *GMS infecciosas doenças* vol. 7 Doc02. 2 de setembro de 2019, doi: 10.3205 / id000042

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Panorama do município de Lavras. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/lavras/panorama>. Acesso em: 03 de fev. de 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Normal Climatológica Lavras (83687). Disponível em: <https://clima.inmet.gov.br/GraficosClimatologicos/DF/83377>. Acesso em: 03 de fev de 2021

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Banco de dados meteorológicos. Disponível em: <http://bancodedados.cptec.inpe.br/downloadBDM/>. Acesso em: 09 de nov. 2020.

KALLAWICHA, Kraiwuth et al. Exposure to ambient bioaerosols is associated with allergic skin diseases in Greater Taipei residents. **Environmental Pollution**, v. 216, p. 845-850, 2016.

KASSAMBARA, Alboukadel; MUNDT, Fabian. **factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. R package version 1.0.7. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>.

KOOKEN, Jennifer M.; FOX, Karen F.; FOX, Alvin. Characterization of Micrococcus strains isolated from indoor air. **Molecular and cellular probes**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2012.

LANG-YONA, Naama et al. Links between airborne microbiome, meteorology, and chemical composition in northwestern Turkey. **Science of The Total Environment**, p. 138227, 2020.

LEE, Ezra; ANJUM Fatima. **Staphylococcus Epidermidis**. [Atualizado em 4 de dezembro de 2020]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563240/>. Acesso: 28 de mar. 2021.

LI, Xinyue; CHEN, Haoxuan; YAO, Maosheng. Microbial emission levels and diversities from different land use types. **Environment International**, v. 143, p. 105988, 2020.

MATTHIAS-MASER, Sabine; JAENICKE, Ruprecht. The size distribution of primary biological aerosol particles with radii > 0.2 µm in an urban/rural influenced region. **Atmospheric Research**, v. 39, n. 4, p. 279-286, 1995.

MARCOVECCHIO, Francesca; PERRINO, Cinzia. Contribution of Primary Biological Aerosol Particles to airborne particulate matter in indoor and outdoor environments. **Chemosphere**, v. 264, p. 128510, 2020.

MÖHLER, O. et al. Microbiology and atmospheric processes: the role of biological particles in cloud physics. **Biogeosciences**, v. 4, n. 6, p. 1059-1071, 2007.

NASCIMENTO, Andressa de Matos, et al. Quantitative microbial risk assessment of occupational and public risks associated with bioaerosols generated during the application of dairy cattle wastewater as biofertilizer. **Science of The Total Environment**, v. 745, p. 140711, 2020.

POLYMENAKOU, Paraskevi N. Atmosfera: uma fonte de micróbios patogênicos ou benéficos? **Atmosfera**, v. 3, n. 1, pág. 87-102, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

REVELLE, William. **psych: procedures for personality and psychological research**. Northwestern University, Evanston. 2020.

SEINFELD, John H.; PANDIS, Spyros N. **Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change**. John Wiley & Sons, 2016.

SMITH, David J. et al. Airborne bacteria in earth's lower stratosphere resemble taxa detected in the troposphere: Results from a new NASA Aircraft Bioaerosol Collector (ABC). **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1752, 2018.

TIGNAT-PERRIER, Romie et al. Seasonal shift in airborne microbial communities. **Science of the Total Environment**, v. 716, p. 137129, 2020.

TOSITTI, Laura et al. Chemical characteristics of atmospheric bulk deposition in a semi-rural area of the Po Valley (Italy). **Journal of Atmospheric Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 97-121, 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Biblioteca Universitária. Manual de normalização e estrutura de trabalhos acadêmicos: TCCs, monografias, dissertações e teses. 3. ed. rev., atual. e ampl. Lavras, 2020.

VAÏTILINGOM, Mickaël et al. Long-term features of cloud microbiology at the puy de Dôme (France). **Atmospheric environment**, v. 56, p. 88-100, 2012.

WICKHAM, Hadley; CHANG, Winston; WICKHAM, Maintainer Hadley. Package 'ggplot2'. **Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics**. Version, v. 2, n. 1, p. 1-189, 2016.

WIKUATS, Caroline Fernanda Hei et al. Assessment of airborne particles and bioaerosols concentrations in a waste recycling environment in Brazil. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2020.

WIRTH, Fernanda. Infecção disseminada por *Rhodotorula* em um modelo experimental em ratos. 2011.

ZHANG, Cong-He et al. Atmospheric nitrogen deposition and its responses to anthropogenic emissions in a global hotspot region. **Atmospheric Research**, v. 248, p. 105137.