

ESCOLA POLITÉCNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS  
DOUTORADO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

LETÍCIA AZAMBUJA DOS SANTOS LICKS

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE MICROCOSMOS COMO FERRAMENTA DE ANÁLISE DA  
EFICÁCIA DE BIOMONITORAMENTO NO CONTROLE DE VAZAMENTO DE CO<sub>2</sub>**

Porto Alegre

2018

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

ESCOLA POLITÉCNICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE MICROCOSMOS COMO  
FERRAMENTA DE ANÁLISE DA EFICÁCIA DE  
BIOMONITORAMENTO NO CONTROLE DE VAZAMENTO DE CO<sub>2</sub>**

**LETÍCIA AZAMBUJA DOS SANTOS LICKS**

ENGENHEIRA QUÍMICA

MESTRE EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

**TESE PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM ENGENHARIA E  
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

**Porto Alegre**

**Mai, 2018**



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

ESCOLA POLITÉCNICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE MICROCOSMOS COMO  
FERRAMENTA DE ANÁLISE DA EFICÁCIA DE BIOMONITORAMENTO  
NO CONTROLE DE VAZAMENTO DE CO<sub>2</sub>**

**LETÍCIA AZAMBUJA DOS SANTOS LICKS**

Engenharia Química

MESTRE EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

ORIENTADOR: PROF. DR. RODRIGO SEBASTIAN IGLESIAS

CO-ORIENTADOR: Prof. DR. CLAUDIO LUIS CRESCENTE FRANKENBERG

Tese realizada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

**Porto Alegre  
Maio, 2018**

## Ficha Catalográfica

L711a Licks, Letícia Azambuja dos Santos

Avaliação da utilização de microcosmos como ferramenta de análise da eficácia de biomonitoramento no controle de vazamento de CO<sub>2</sub> / Letícia Azambuja dos Santos Licks . – 2018.

142.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sebastian Iglesias.

Co-orientador: Prof. Dr. Claudio Luis Crescente Frankenberg.

1. Biomonitoramento. 2. solo em colunas. 3. ensaios em microcosmos. 4. vazamento de CO<sub>2</sub>. I. Iglesias, Rodrigo Sebastian. II. Frankenberg, Claudio Luis Crescente. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecária responsável: Salete Maria Sartori CRB-10/1363





**AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE MICROCOSMOS COMO  
FERRAMENTA DE ANÁLISE DA EFICÁCIA DE  
BIOMONITORAMENTO NO CONTROLE DE VAZAMENTO DE  
CO<sub>2</sub>**

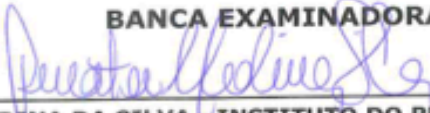
**CANDIDATA: LETÍCIA AZAMBUJA DOS SANTOS LICKS**

Esta Tese de Doutorado foi julgada para obtenção do título de DOUTOR EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

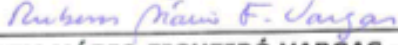
  
\_\_\_\_\_  
**DR. RODRIGO SEBASTIAN IGLESIAS - ORIENTADOR**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. CLAUDIO LUIS CRESCENTE FRANKENBERG - CO-ORIENTADOR**

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. RENATA MEDINA DA SILVA - INSTITUTO DO PETRÓLEO E DOS RECURSOS  
NATURAIS - PUCRS**

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. REJANE MARIA CANDIOTA TUBINO - PPGEEM - UFRGS**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. RUBEM MÁRIO FIGUEIRÓ VARGAS - DO PGETEMA - PUCRS**

**PUCRS**

Campus Central  
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 32 - Sala 505 - CEP: 90619-900  
Telefone: (51) 3353.4059 - Fax: (51) 3320.3625  
E-mail: engenharia.pg.materiais@pucrs.br  
www.pucrs.br/politecnica

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador Dr. Prof. Rodrigo Sebastian Iglesias pela orientação, e disponibilidade para a realização do trabalho. Ao meu co-orientador Prof. Dr. Claudio Frankenberg, que me aconselha, direciona e está sempre disponível no desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Dr. João Marcelo Medina Ketzner pelo grande auxílio na realização deste trabalho.

Aos meus alunos e bolsistas Gabriela Bertoletti, Betina Biasibetti, Bruna Homes, Andressa Andrade, Jefferson Souza, Amanda Zortéa e Lucas Papastergiopoulos. Faço um agradecimento especial a aluna Catterina Kunzler que esteve presente em todas as fases deste trabalho pela ajuda incansável e dedicação.

Ao Prof. Dr. Carlos Alexandre dos Santos e Prof. Me. Edegar de Paula pela disponibilidade e recursos da Faculdade de Engenharia para a realização deste trabalho. A equipe do Laboratório de Soldagem e do Laboratório de Fabricação (Usinagem e Protótipos), principalmente ao técnico Vanderlei Ochoa pelas ótimas ideias no projeto e no desenvolvimento das colunas.

À equipe do LAPA principalmente a técnica e amiga Dra. Fernanda Santos.

Ao IPR pelo fornecimento de estrutura e dados para a realização deste trabalho. À equipe do Laboratório de Geobiologia principalmente a Dra. Adriana Giongo Borges, Dr. Gustavo Borges e a técnica. Me. Letícia Marconatto. À equipe do Laboratório de Monitoramento Ambiental principalmente a coordenadora Dra. Clarissa Melo e sua equipe. Ao pesquisador Dr. Tiago Abreu.

A todos que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho, principalmente à minha família pela paciência e compreensão durante o desenvolvimento desta pesquisa.

O presente resultado só foi alcançado em cooperação com a Hewlett-Packard Brasil Ltda. e com recursos provenientes da Lei de Informática (Lei nº 8.248, de 1991).

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>6</b>
<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE QUADROS .....</b>	<b>13</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS .....</b>	<b>14</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>16</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>17</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Objetivos Específicos .....</b>	<b>21</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1. Captura e armazenamento geológico de carbono .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2. Técnicas de Monitoramento, Medição e Verificação (MMV).....</b>	<b>28</b>
<b>3.3. Solo .....</b>	<b>35</b>
3.3.1. Microrganismos no solo .....	40
<b>3.4. Bioindicadores de concentração de CO<sub>2</sub> no solo.....</b>	<b>42</b>
3.4.1. Microcosmos.....	43
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1. Amostragem do solo.....</b>	<b>47</b>
4.1.1. Períodos e estratégias de coleta do solo .....	48
4.1.2. Caracterização inicial do solo .....	51
4.1.3. Caracterização do solo <i>in situ</i> .....	52
<b>4.2. Sistema de microcosmos .....</b>	<b>53</b>
4.2.1. Projeto dos sistemas de microcosmos.....	53
4.2.2. Ensaio em microcosmos.....	53
<b>4.3. Análises de dados.....</b>	<b>57</b>
4.3.1. Delineamento experimental e análises físicas, químicas e microbiológica.....	57
4.3.2. Análises físicas e químicas.....	59
4.3.3. Análises Microbiológicas.....	60

4.3.4. Análise estatística de dados .....	62
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>65</b>
<b>5.1. Caracterização prévia do solo .....</b>	<b>65</b>
5.1.1. Contagem microbiana no perfil de solo.....	67
<b>5.2. Projeto do sistema de microcosmos.....</b>	<b>69</b>
<b>5.3. Análises físicas, químicas e microbiológicas .....</b>	<b>72</b>
5.3.1. Pontos 8, 9 e 10 – análises <i>in situ</i> .....	72
5.3.2. Ensaio em microcosmos.....	77
5.3.3. RISA .....	102
<b>5.4. Análise Multivariada de dados.....</b>	<b>108</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>112</b>
<b>7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>114</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>115</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>126</b>
<b>APÊNDICE A: ACOMPANHAMENTO DO ENSAIO DE UFC PARA OS PONTOS 8, 9 E 10.....</b>	<b>127</b>
<b>APÊNDICE B: RESUMO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS PONTOS 8, 9 E 10..</b>	<b>128</b>
<b>APÊNDICE C: RESUMO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS EM MICROCOSMOS COM SOLO INSATURADO .....</b>	<b>133</b>
<b>APÊNDICE D: RESUMO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS EM MICROCOSMOS COM SOLO SATURADO .....</b>	<b>138</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Comparativo entre as emissões dos gases do efeito estufa de 2005 e 2012 dos principais setores emissores. ....	23
Figura 3.2. Principais métodos de armazenamento geológico de CO <sub>2</sub> . ....	26
Figura 3.3. Perfil com os horizontes do solo. ....	35
Figura 3.4. Distribuição volumétrica dos constituintes físicos dos solos orgânico e mineral. ....	36
Figura 3.5. Representação da distribuição da água na sub-superfície do solo, mostrando as principais zonas de umidade. ....	38
Figura 4.1. Localização dos pontos de sondagens e coleta no laboratório de campo em Viamão-RS. ....	48
Figura 4.2. Amostras de solo armazenadas em sacos vedados. ....	49
Figura 4.3. Ilustração do trado helicoidal (a), amostrador tubular (b) e <i>liner</i> (c) utilizados na coleta por DPT. ....	51
Figura 4.4. Fluxograma do sistema de injeção de CO <sub>2</sub> em colunas com solo insaturado. ....	56
Figura 4.5. Etapas da análise microbiológica RISA para uma amostra de solo. ....	62
Figura 5.1. Colônias de microrganismos da superfície do ponto 9 obtida pelo método UFC na diluição seriada 10 <sup>-4</sup> . ....	68
Figura 5.2. Representação esquemática da coluna para solo insaturado com o detalhamento da vista superior do difusor de gás. ....	70
Figura 5.3. Representação esquemática da coluna para solo saturado. ....	71
Figura 5.4. Foto do sistema de injeção de CO <sub>2</sub> em solo insaturado (a) e saturado (b). ....	71
Figura 5.5. pH das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos. ....	82
Figura 5.6. Condutividade das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos. ....	86

Figura 5.7. Potencial redox das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos. ....	90
Figura 5.8. Teor de umidade das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos. ....	95
Figura 5.9. Teor de matéria orgânica e teor de cinzas (matéria mineral) das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos. ....	99
Figura 5.10. Contagem microbiana a partir das UFC em 7 dias as amostras do solo insaturado dos ensaios em microcosmos. ....	100
Figura 5.11. Contagem microbiana a partir das UFC, em 7 dias para as amostras do solo saturado dos ensaios em microcosmos. ....	101
Figura 5.12. Gel de agarose com as bandas geradas por RISA das amostras dos ensaios em microcosmos insaturado e saturado do tempo inicial, 80 dias, e do ponto 10. ....	103
Figura 5.13. Dendrograma de similaridade em RISA das amostras de solo dos pontos 8, 9 e 10 e em diferentes épocas de coleta – imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6. ....	104
Figura 5.14. Dendrograma de similaridade das amostras em RISA de solo insaturado dos ensaios de microcosmos – imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6. ....	105
Figura 5.15. Dendrograma de similaridade das amostras de solo saturado dos ensaios de microcosmos – imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6. .	107
Figura 5.16. PCA dos parâmetros físico químicos e microbiológicos do solo saturado e insaturado. - Imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6. ....	109

## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1. Resumo das informações das coletas: Data, ponto, informações climáticas e tipo de amostragem e análises. ....	50
Tabela 4.2. Escala Internacional de Classificação das Frações Granulométricas ....	52
Tabela 4.3. Escala de Pratolongo. ....	p59
Tabela 4.4. Interpretação dos valores da correlação de Pearson. ....	63
Tabela 5.1. Resultado das análises físico-químicas do ponto 10. ....	65
Tabela 5.2. Classificação das frações granulométricas do solo do ponto 10. ....	66
Tabela 5.3. Análise microbiológica de UFC dos pontos de amostragem 8, 9 e 10 em abril de 2015 em diferentes profundidades após 144h. ....	67
Tabela 5.4. Análises físicas, químicas e microbiológicas com erro padrão e teste Tukey da superfície dos pontos de amostragem 8, 9 e 10 em diferentes épocas de coleta. ....	73
Tabela 5.5. Análise de pH para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	77
Tabela 5.6. Análise de pH para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	80
Tabela 5.7. Análise da Condutividade para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	83
Tabela 5.8. Análise da Condutividade para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	84
Tabela 5.9 Análise do potencial redox para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	87
Tabela 5.10 Análise do potencial redox para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	88

Tabela 5.11 Teor de umidade para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.....	91
Tabela 5.12 Teor de umidade para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.....	93
Tabela 5.13 Teor de matéria orgânica e teor de cinzas para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão e o desvio padrão.....	96
Tabela 5.14 Teor de matéria orgânica e teor de cinzas para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o erro padrão e o desvio padrão.....	97



## LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1. Descrição dos principais tipos de processos de captura e separação de CO <sub>2</sub> . .....	25
Quadro 3.2. Etapas da MMV.....	28
Quadro 3.3. Exemplos de técnicas de monitoramento subterrâneo.....	31
Quadro 3.4. Principais técnicas de monitoramento atmosférico. ....	32
Quadro 3.5. Principais técnicas de monitoramento de superfície.....	33
Quadro 3.6. Definição dos horizontes do solo.....	36
Quadro 3.7. Descrição dos diferentes tipos de amostragem do solo. ....	39
Quadro 4.1. Identificação geográfica dos pontos amostrados. ....	48
Quadro 4.2. Principais referências utilizadas na escolha do material e dimensão das colunas.....	54
Quadro 4.3. Identificação das amostras geradas no ensaio de microcosmos de solo em colunas de acordo com o tipo de solo e dia de amostragem. ....	57
Quadro 4.4. Identificação das amostras dos pontos 8, 9 e 10 em diferentes épocas de coleta.....	59
Quadro 5.1. Correlação de Pearson dos pontos 8, 9 e 10 entre os parâmetros de pH, Redox, H, MO, Tc e UFC. ....	76

## LISTA DE SÍMBOLOS

ANOVA	Análise da Variância
$\mu\text{L}$	Unidade de concentração – micromolar
$\mu\text{m}$	Unidade de comprimento - micrometros
b.s	Base seca
b.u	Base úmida
C	Carbono
CCGS	<i>Carbon Capture and Storage Geological Technology</i>
CCUS	<i>Carbon Capture Utilization and Storage</i>
CFCs	Clorofluorcarbonos
$\text{CH}_4$	Metano
cm	centímetro
$\text{CO}_2$	Dióxido de carbono
$\text{CO}_{2\text{eq}}$	Dióxido de carbono equivalentes
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
DPT	<i>Direct push technology</i>
EC	<i>Eddy covariance</i>
ECBM	<i>Enhanced coalbed methane</i>
EOR	<i>Enhanced oil recovery</i>
g	grama
GEE	Gases do efeito estufa
GHG	<i>Greenhouse gases</i>
$\text{GtCO}_{2\text{eq}}$	Giga toneladas de dióxido de carbono-equivalentes
H	Teor de Umidade
IPCC	<i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i>
IRGA	Analizador de gás por absorção na faixa do infravermelho
kb	Mil pares de bases - quilobases
$\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$	litros por minuto
m	metros
mg	miligrama
$\text{MgCl}_2$	Cloreto de magnésio
min	minutos

mL	mililitros
mM	milimolar
MMV	Medição, monitoramento e verificação
M.O.	Matéria Orgânica
mV	milivolt
mS.cm <sup>-1</sup>	Milisiemens por centímetro
N <sub>2</sub> O	Óxido nitroso
O <sub>3</sub>	Ozônio
pb	Par de bases
PCA	Análise de Componentes Principais (do Inglês <i>Principal Analysis Component</i> )
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PVC	Policloreto de vinila
RISA	<i>Ribossomal intergenic spacer analysis</i>
TBE	Solução tampão - Tris/Borato/EDTA
T.C	Teor de Cinzas
tg	Tempo de geração
TgCO <sub>2eq</sub>	Milhões de toneladas de dióxido de carbono-equivalentes
U	Unidade de enzima
UFC	Unidade formadoras de colônias
UFC.mL <sup>-1</sup>	Unidade formadoras de colônias por mililitro
UPGMA	<i>Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average</i>
V	Volts

## RESUMO

LICKS, Letícia. **Avaliação da utilização de microcosmos como ferramenta de análise da eficácia de biomonitoramento no controle de vazamento de CO<sub>2</sub>**. Porto Alegre. 2018. Tese. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

As mudanças climáticas associadas à intensificação do efeito estufa estão entre as maiores preocupações ambientais atuais. Muita pesquisa tem sido realizada com o intuito de reduzir o impacto dos gases associados ao efeito estufa, dentre eles o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Devido à grande contribuição do CO<sub>2</sub> para o aquecimento global, é cada vez mais importante a realização de estudos que visem a diminuição de seus níveis na atmosfera. Entre as técnicas viáveis para conter estas emissões está o armazenamento geológico de carbono, que consiste em injetar quantidades significativas deste gás em formações geológicas. No entanto, para ser efetiva, o CO<sub>2</sub> deve ficar retido nestas formações geológicas profundas, não retornando a superfície a longo prazo. Assim, o monitoramento de vazamentos de CO<sub>2</sub> é uma etapa fundamental no processo de armazenamento geológico. Estes estudos usualmente são realizados em áreas extensas preparadas para testes controlados de injeção e vazamento de gás (geralmente trabalhosos e dispendiosos). Este trabalho teve como objetivo verificar a utilização de microcosmos como ferramenta de biomonitoramento no controle de vazamento de CO<sub>2</sub>, realizando injeções controladas de CO<sub>2</sub> em colunas de fluxo contínuo em diferentes condições experimentais. Foram realizadas análises físico químicas e microbiológicas no solo antes, durante e após a percolação de CO<sub>2</sub> na coluna. Esses parâmetros também foram comparados com amostras do solo *in situ*. Com base em métodos estatísticos no fim do estudo foi observado que o projeto das colunas foi adequado, no entanto, os parâmetros escolhidos foram insuficientes para determinar a influência do CO<sub>2</sub> nas condições de ensaio proposta.

Palavras-Chaves: Biomonitoramento; solo em colunas; ensaios em microcosmos; vazamento de CO<sub>2</sub>.

## ABSTRACT

LICKS, Letícia. **Evaluation of the use of microcosm as a tool to analyze the efficacy of biomonitoring in the control of CO<sub>2</sub> leakage.** Porto Alegre. 2018. PhD Thesis. Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The climate changes associated with the increase of greenhouse gases emissions to the atmosphere stand out as one of the greatest current environmental concerns. Extensive research is being conducted in order to reduce the amount of emissions and their impact on climate. Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) is the main greenhouse gas contributing to this problem. Therefore, it is increasingly important to find solutions to reduce CO<sub>2</sub> levels in the atmosphere. Among the feasible techniques to reduce these emissions is the geological storage, which consists of injecting large amounts of this gas into deep underground geological formations. To be effective, CO<sub>2</sub> must be trapped in these deep geological formations for at least several centuries. In this context, monitoring of CO<sub>2</sub> leakages and seepages to sensitive environments is a key step in the process. Research on monitoring and verification of CO<sub>2</sub> leakages in shallow environments are carried out in large areas prepared for controlled injection and leakage of this gas, this techniques for its detection are hard and expensive. In this sense, this study aims to verify the use of microcosms as a biomonitoring tool to control CO<sub>2</sub> leakage by conducting controlled injections of CO<sub>2</sub> into continuous flow columns under different experimental conditions. For this, physical, chemical and microbiological analyzes were performed in the soil before, during and after percolation of CO<sub>2</sub> in the column. These parameters were also analyzed with *in situ* soil samples. Based on statistical methods at the end of the study, it was observed that the design of the columns was suitable, however, the chosen parameters were insufficient to determine the influence of CO<sub>2</sub> on the proposed test conditions.

Key-words: Biomonitoring; soil column; microcosms; CO<sub>2</sub> leakage.

## 1. INTRODUÇÃO

Muitas são as alternativas propostas para a diminuição das emissões de gases associados ao efeito estufa decorrente de combustíveis fósseis. Dentre as mais promissoras estão as tecnologias de captura e armazenamento de carbono, conhecidas pela sigla CCUS (do inglês *Carbon Capture, Utilization, and Storage*), que vêm se tornando cada vez mais estudadas e aplicadas mundialmente. A CCUS engloba a captura do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de uma fonte emissora potencial, o transporte e a estocagem final. Segundo Ketzer, Iglesias e Einloft (2015) se totalmente implementada, a CCUS pode contribuir para redução de 20% das emissões globais dos combustíveis fósseis em 2050 e 55% até o final deste século.

Todas as etapas dentro do processo de CCUS precisam ser estudadas para verificar sua viabilidade e impactos. Diversas técnicas e tecnologias vêm sendo otimizadas e adaptadas para um melhor retorno associado ao desempenho e custos. Segundo Moreira et al. (2013), a estocagem em formações geológicas é mais adequada, pela segurança a longo prazo e ampla capacidade de armazenamento.

Para garantir a confiabilidade e eficácia do armazenamento e minimizar os riscos de escape e impactos ambientais, o armazenamento geológico precisa ser bem avaliado principalmente em questões associadas à segurança, o que requer medições e monitoramento constante de possíveis vazamentos do CO<sub>2</sub> armazenado. As técnicas de Medição, Monitoramento e Verificação (MMV) consistem em um conjunto de ferramentas empregadas para garantir o armazenamento seguro, eficaz e permanente de CO<sub>2</sub> nos reservatórios geológicos.

As técnicas de MMV são empregadas antes, durante e após a injeção, com amplas estratégias de aplicação que envolvem desde a análise de conformidade e contenção do armazenamento até a verificação de benefícios econômicos deste

armazenamento (NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY, 2016; RÜTTERS et al., 2013).

Uma das ferramentas de monitoramento utilizadas na MMV é a simulação de vazamento controlado de CO<sub>2</sub> em sítios ou laboratórios de estocagem (conhecidos como *sites*). Estas simulações possibilitam o estudo de diferentes técnicas de monitoramento do CO<sub>2</sub> nestes ambientes, e a avaliação das melhores tecnologias para detecção e remediação de um eventual vazamento próximo à superfície (MOREIRA et al., 2013; NOBLE et al., 2012). Para a implantação e desenvolvimento de um laboratório de campo é necessário um estudo prévio do local onde serão conduzidos os experimentos de vazamento controlado de CO<sub>2</sub> (MELO, 2012), e as metodologias aplicadas nestes laboratórios são normalmente caras e demoradas, pois necessitam de um controle rigoroso e diversas amostragens durante os experimentos (TARKOWSKI; KRÓLIK; ULIASZ-MISIAK, 2009).

A caracterização do solo é fundamental para a determinação de possíveis mudanças ambientais devido à liberação do gás. Estas características, bem como a qualidade do solo podem ser mensuradas através de indicadores. Estes indicadores podem ser físicos, químicos ou microbiológicos e medem a sustentabilidade do ecossistema (ARAUJO; MONTEIRO, 2007). Os microrganismos e processos microbiológicos destacam-se como indicadores de qualidade do solo por serem os principais responsáveis pela ciclagem de nutrientes e pela decomposição e formação da matéria orgânica (CHAER, et al., 2014).

Existem diversos procedimentos de monitoramento de CO<sub>2</sub> que podem ser implementados, dentre eles, está o biomonitoramento ambiental. O monitoramento biológico aplicado ao monitoramento de vazamentos de CO<sub>2</sub> consiste em avaliar o ambiente onde será realizada a injeção de CO<sub>2</sub>, encontrar bioindicadores (microrganismos, fauna, vegetação dentre outros) que proporcionem uma forma mais rápida para a detecção do vazamento (TARKOWSKI et al., 2006; NOBLE et al., 2012).

Para estudar as características e compreender o transporte de solutos no solo muitos estudos utilizam ensaios de deslocamento de fluidos em colunas de solos. Estas colunas, podem ser consideradas microcosmos quando utilizadas para controle

microbiológico, são ferramentas que possibilitam o melhor entendimento do transporte e alteração no solo permitindo estabelecer condições controladas necessárias para correlacionar a dinâmica da comunidade microbiana com as variações ambientais (RIBEIRO et al., 2011; FERNANDO, 2009).

Estudos em microcosmos podem ter um papel importante no desenvolvimento de biosensores e métodos biológicos de monitoramento diretamente adaptados ao CCUS. No entanto, existem poucos estudos neste campo. Algumas pesquisas apresentam os efeitos do aumento de CO<sub>2</sub> e da evolução da tolerância por microrganismos, mas muito poucas são associadas diretamente ao CCUS. Pesquisas com microcosmos relacionados com CCUS devem ser realizadas para um melhor atendimento e avaliação das estruturas e funções das comunidades microbianas a partir da influência do CO<sub>2</sub> (NOBLE et al., 2012).

Diante da necessidade de pesquisas sobre microcosmos e também poucas correlações estabelecidas entre os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos como ferramenta de MMV, o presente estudo fará a avaliação de eficácia da utilização de microcosmos para a caracterização do solo e análise da influência do CO<sub>2</sub> em colunas de solos insaturados e saturados com água. Esta avaliação permitirá observar se o estudo em microcosmos pode ser aplicado como ferramenta alternativa de biomonitoramento *in situ*. A principal hipótese deste trabalho é que a utilização de microcosmos para injeção controlada de CO<sub>2</sub> pode apontar resultados de mudanças físicas, químicas e microbiológicas no solo a partir da injeção de fluxo contínuo de CO<sub>2</sub>, simulando a injeção em campo, reduzindo a interferência de agentes externos.



## 2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo principal analisar a utilização de microcosmos como ferramenta alternativa ao biomonitoramento *in situ* no controle de vazamento de CO<sub>2</sub>.

### 2.1. Objetivos Específicos

São objetivos específicos deste trabalho:

- caracterizar e monitorar as propriedades físicas e químicas do solo do local de injeção de CO<sub>2</sub>;
- caracterizar as variações das comunidades microbianas a partir da contagem de bactérias e técnicas de variações genéticas do rRNA como as Análises do Espaço Intergênico Ribossomal (*Ribosomal Intergenic Spacer Analysis - RISA*);
- estabelecer um modelo de experimento de microcosmos para a injeção controlada de CO<sub>2</sub>;
- caracterizar o solo utilizado no experimento de microcosmos antes e após a injeção de CO<sub>2</sub>;
- verificar a correlação entre resultados permitindo a utilização de ensaios em laboratório para o biomonitoramento.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os gases do efeito estufa (GEE - em inglês *greenhouse gases*, GHG) são os gases que retêm parte da energia térmica proveniente do sol na atmosfera e, portanto, responsáveis pelo efeito estufa, que mantém a temperatura média na terra em níveis apropriados para a vida. Sem esses gases a terra seria inabitável, pois sua temperatura seria aproximadamente 18°C negativos. A troca de energia proveniente da radiação solar entre a superfície e a atmosfera mantém as atuais condições, que proporcionam uma temperatura média global, próxima à superfície, de 14°C (BRASIL, 2015).

Os principais gases associados ao efeito estufa são o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), os clorofluorcarbonos (CFCs) e o ozônio (O<sub>3</sub>). O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) obtido na queima de combustíveis fósseis representa 78% destas emissões associadas ao efeito estufa (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2014).

Apesar de um número crescente de políticas de mitigação das alterações climáticas, as emissões antrópicas totais dos gases do efeito estufa continuam aumentando desde a década de 70 principalmente a partir do ano 2000. A emissão anual de gases de efeito estufa cresceu em média 1,0 gigatonelada de dióxido de carbono equivalente<sup>1</sup> (GtCO<sub>2</sub>eq) (2,2%) por ano de 2000 a 2010, em comparação a

---

<sup>1</sup>Carbono equivalente (CO<sub>2</sub>eq) é um padrão que representa a emissão dos demais gases de efeito estufa em forma de CO<sub>2</sub>.

0,4 GtCO<sub>2</sub>eq (1,3%) por ano de 1970 a 2000 (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2014).

A liberação excessiva de gases do efeito estufa na atmosfera ocorre em função do aumento das emissões antrópicas principalmente associadas aos setores de energia, processos industriais, agropecuária, mudança no uso da terra e florestas e os tratamentos de resíduos (BRASIL, 2014; LICKS, 2008). Estas emissões vêm aumentando desde a Revolução Industrial, a partir do final dos anos 1700 e início de 1800 (NATIONAL GEOGRAPHIC SOCIETY, 2016).

A estimativa de emissões dos gases do efeito estufa no Brasil em 2012 apresenta o setor energético como a maior fonte emissora ultrapassando as emissões associadas ao uso de terra e florestas, que até 2005 era a principal fonte emissora (BRASIL, 2014). A Figura 3.1 ilustra a participação dos principais setores considerados fontes de emissão dos gases do efeito estufa fazendo um comparativo entre as emissões do ano de 2005 e de 2012, onde pode ser observado um aumento em 21% das emissões no setor energético e uma redução de emissão de 43% em atividades associadas ao uso de terras e floresta em nosso país (BRASIL, 2014)

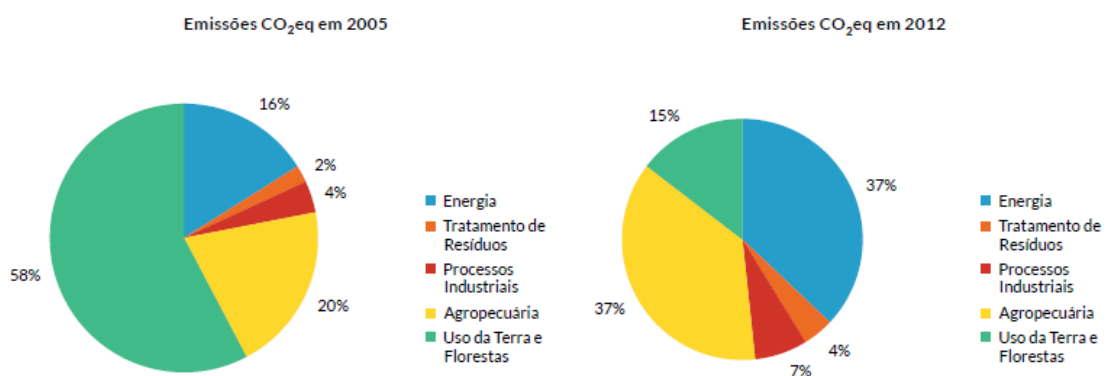


Figura 3.1. Comparativo entre as emissões dos gases do efeito estufa de 2005 e 2012 dos principais setores emissores.

Fonte: BRASIL, 2014.

O Brasil ratificou em 12 de setembro de 2016 o Acordo de Paris assumindo o compromisso para reduzir as emissões dos gases do efeito estufa. O documento foi previamente aprovado em 2015 na Conferência do Clima de Paris (COP 21) por 197 países que assumiram o compromisso de manter o aumento da temperatura média global em menos de 2°C acima dos níveis pré-industriais. Com isto, o Brasil tem como objetivo cortar as emissões de gases de efeito estufa em 37% até 2025, com o indicativo de redução de 43% até 2030, quando comparados com os níveis de emissão de 2005 (BRASIL, 2016).

De acordo com as estimativas anuais de emissões dos gases do efeito estufa realizada pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (MCT) em 2012 a emissão total dos gases do efeito estufa no Brasil foram de 1.203,40 Tg CO<sub>2</sub> eq (milhões de toneladas de dióxido de carbono equivalente), destes 55,4% correspondem às emissões de CO<sub>2</sub> (BRASIL, 2014).

Uma das ferramentas com reconhecido potencial para a redução de emissão de CO<sub>2</sub> é a técnica de captura e estocagem de carbono (CCUS) também conhecida como Armazenamento Geológico de Carbono (*Carbon Capture Storage Geological technology* - CCGS). Esta técnica é uma das principais estratégias de redução das emissões atmosféricas dos Gases de Efeito Estufa consistindo na captura e separação do CO<sub>2</sub> de uma fonte industrial seguida do armazenamento e isolamento a longo prazo deste da atmosfera (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2005; MOREIRA et al., 2013).

### **3.1. Captura e armazenamento geológico de carbono**

Para ser viável, a captura do dióxido de carbono deve ser aplicável aos processos que emitem grandes quantidades de CO<sub>2</sub>, como os industriais que utilizam a queima de combustíveis fósseis (carvão, gás e petróleo) ou biomassa. A captura e separação de CO<sub>2</sub> nas fontes emissoras de carbono pode ser realizado por diferentes processos, conforme descritos no Quadro 3.1.

Uma vez separado, o CO<sub>2</sub> é comprimido e transportado (quando necessário) até o local de armazenagem através de dutos, caminhões e navios (MOREIRA et al., 2013; FUNDAÇÃO BRASILEIRA PARA O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, 2009). A escolha de como o CO<sub>2</sub> será transportado dependerá da sua quantidade ou da distância da fonte de emissão até o local a ser armazenado (PARAGUASSU, 2012).

Quadro 3.1. Descrição dos principais tipos de processos de captura e separação de CO<sub>2</sub>.

<b>Processo</b>	<b>Descrição</b>
Pós-combustão	Esta tecnologia pode ser aplicada na maioria das termelétricas convencionais, como usinas a gás e carvão e consiste na separação do CO <sub>2</sub> dos gases de combustão após a queima do combustível. Normalmente, esse sistema utiliza solventes químicos (aminas) para capturar uma pequena fração de CO <sub>2</sub> , entre 3% e 15% da concentração em volume no gás.
Pré-combustão	Queima parcial do combustível com oxigênio para produzir o gás de síntese, composto por hidrogênio e monóxido de carbono, o qual reage com água e converte o CO em CO <sub>2</sub> .
Oxi-redução	Queima de combustível com oxigênio em elevado grau de pureza ao invés de ar, que resulta em alta concentração de CO <sub>2</sub> no efluente.

Fonte: CENTRO DE EXCELÊNCIA E PESQUISA SOBRE ARMAZENAMENTO DE CARBONO (2009); PARAGUASSU (2012).

O armazenamento geológico de carbono consiste na injeção de CO<sub>2</sub> em locais com características geológicas específicas que garantam sua permanência de estocagem a longo prazo. Estes reservatórios devem ter volume grande suficiente e características físico-químicas e geológicas ideais para aprisionar o CO<sub>2</sub> por milhões de anos. Devem ser constituídas por rochas porosas e permeáveis, que apresentem capacidade de armazenamento elevada e uma rocha impermeável que atue como selante (rocha selo) e evite a fuga de CO<sub>2</sub> para as camadas geológicas superiores (SARDINHA, 2010; MOREIRA et al., 2013).

Os três principais reservatórios para armazenamento geológico são os campos de petróleo (maduros ou depletados), aquíferos salinos e camadas de carvão (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2005). A Figura 3.2 exibe

os principais métodos de armazenamento geológico de CO<sub>2</sub> que podem ser utilizados para o sequestro de CO<sub>2</sub>.

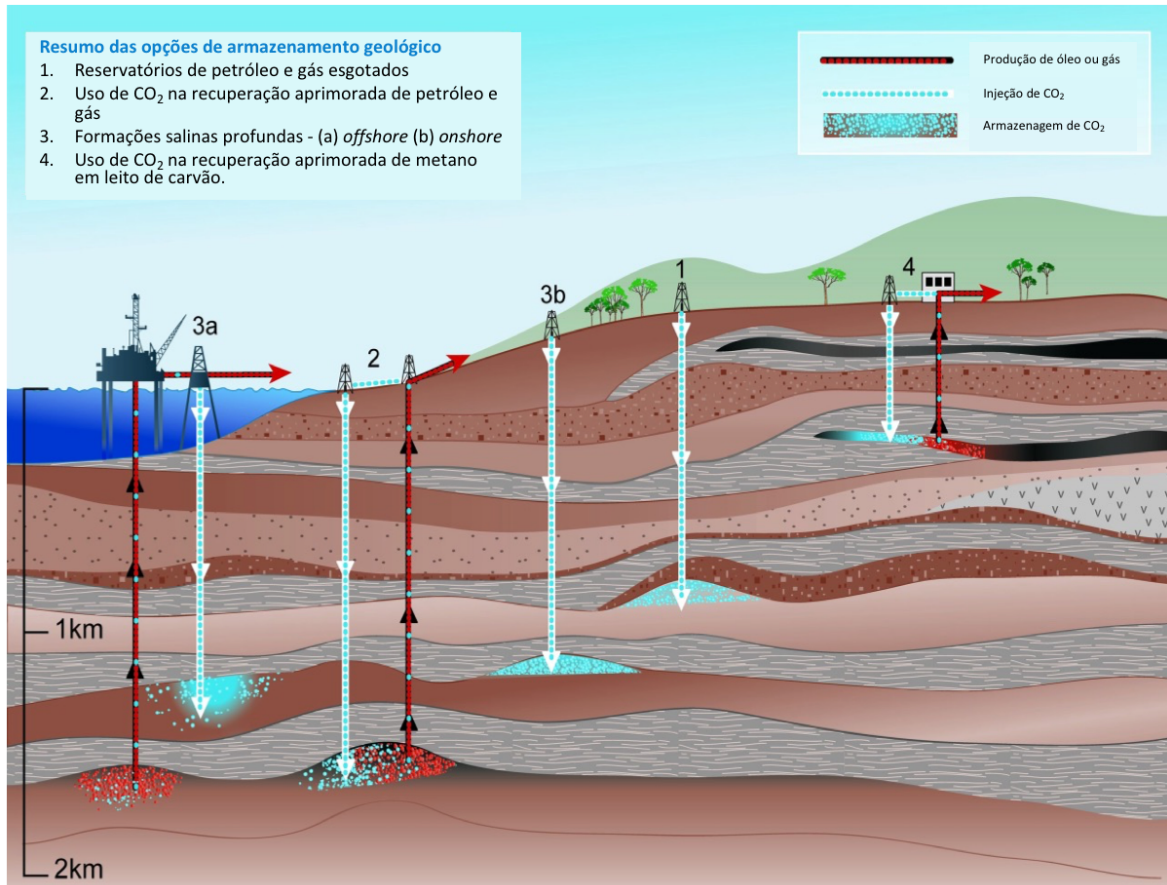


Figura 3.2. Principais métodos de armazenamento geológico de CO<sub>2</sub>.

Fonte: Adaptado de INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (2005).

A injeção de CO<sub>2</sub> em campos de petróleo pode resultar em um aumento na recuperação de hidrocarbonetos, através de uma técnica avançada de recuperação de petróleo, conhecida como *Enhanced Oil Recovery* – EOR, que consiste em injetar o CO<sub>2</sub> no reservatório, aumentando a pressão, de forma que o petróleo flui mais rapidamente. O CO<sub>2</sub> se dissolve no petróleo tornando-o menos viscoso e aumentando a sua fluidez. Ele também expande em volume, aumentando ainda mais a pressão. O CO<sub>2</sub> é bombeado no reservatório através de um poço de injeção, forçando o petróleo em direção a um poço de produção, onde ele sobe à superfície. A indústria do petróleo utiliza esta tecnologia há mais de 40 anos para recuperar petróleo adicional de campos cuja produção convencional atingiu seu limite. A capacidade de produção extra de

petróleo, por injeção de CO<sub>2</sub> está diretamente relacionada à capacidade de armazenamento de gás carbônico no reservatório (PARKER; MEYER; MEADOWS, 2009). Dependendo da pressão e da temperatura do reservatório o CO<sub>2</sub> injetado irá se dissolver no óleo, reduzindo a sua tensão interfacial e viscosidade, facilitando assim a mobilidade do óleo no reservatório e aumentando a sua produção em até 40% do volume de petróleo residual (que não pode ser extraído pelas técnicas convencionais) (CENTRO DE EXCELÊNCIA E PESQUISA SOBRE ARMAZENAMENTO DE CARBONO, 2009).

O armazenamento de CO<sub>2</sub> em camadas de carvão proporciona a recuperação do metano (ECBM, do inglês *Enhanced Coalbed Methane*) trazendo benefícios econômicos, com potencial para reduzir os custos do processo. As camadas de carvão possuem em sua estrutura fraturas e um grande número de microporos nos quais as moléculas de gases podem ser adsorvidas. Gases combustíveis naturalmente estão adsorvidos na matriz de carvão, e dentre eles o metano está em maior abundância. Devido a maior afinidade na adsorção do CO<sub>2</sub> no carvão, quando injetado em suas camadas ocorre a liberação de metano (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2005; LICKS, 2008).

A grande disponibilidade de aquíferos salinos presentes ao redor do planeta e a grande capacidade potencial para armazenamento geológico de CO<sub>2</sub> destes reservatórios, faz com que este tipo de reservatório seja considerado entre as três opções principais para tal propósito. Os aquíferos salinos são rochas porosas e permeáveis que contém água em seus poros. A injeção de CO<sub>2</sub> é realizada na fase supercrítica para maximizar a eficiência onde o CO<sub>2</sub> é preso nos poros por uma série de mecanismos formando compostos sólidos estáveis como os carbonatos que se depositam no fundo, armazenando permanentemente o dióxido de carbono (carbonatação mineral). A experiência de injeção de CO<sub>2</sub> em projetos-piloto e as operações comerciais existentes mostram que o armazenamento geológico em aquíferos salinos, assim como o EOR e o armazenamento em camadas de carvão, é tecnologicamente viável (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2005; MICHAEL et al., 2010).

A decisão sobre a formação geológica a ser utilizada para armazenamento deverá ser baseada numa caracterização e avaliação do potencial de armazenamento do local a ser estudado. Entre outras coisas, é fundamental estabelecer um programa de monitoramento completo deste local, durante e após o armazenamento, para verificar se o CO<sub>2</sub> armazenado obedece ao comportamento previsto e para detectar quaisquer irregularidades ou fugas significativas que possam afetar particularmente a água potável, a comunidade local e o meio ambiente onde o projeto foi realizado (COMISSÃO EUROPEIA, 2009).

### 3.2. Técnicas de Monitoramento, Medição e Verificação (MMV)

O Monitoramento, medição e verificação (em inglês Monitoring, Measuring and Verification – MMV) de CO<sub>2</sub> se constitui em uma estratégia tecnológica com foco principal na vigilância permanente da integridade do sítio de estocagem e a garantia de sua operacionalidade conforme o previsto e projetado, permitindo a detecção em tempo real de eventuais problemas ou riscos. Com o intuito principal de possibilitar a instalação, da infraestrutura de teste, implementar e validar técnicas de MMV, são utilizados sites de caráter experimental, denominados laboratório de campo, especificamente construídos para a condução de ensaios de vazamento controlado de CO<sub>2</sub> (MOREIRA et al., 2013). Definem-se quatro etapas para o desenvolvimento e implantação de técnicas de MMV, conforme descrito no Quadro 3.2.

Quadro 3.2. Etapas da MMV.

ETAPAS		DEFINIÇÃO
1	Levantamento de Base	Caracterização inicial do local de armazenagem e levantamento de riscos preliminares
2	Operacional	Período de injeção e monitoramento da distribuição de CO <sub>2</sub> no reservatório, potencial de migração e ocorrência de vazamentos
3	Fechamento	Fechamento dos poços após a injeção
4	Pós Fechamento	Monitoramento periódico para acompanhar a segurança e eficácia do armazenamento

Fonte: MELO (2012).



O armazenamento de CO<sub>2</sub> deve ser projetado com o intuito de preservar a vida útil do reservatório utilizado por centenas ou milhares de anos, além de garantir a sustentabilidade do ambiente e atender as expectativas de custo e retorno financeiro. Por isso seu monitoramento é necessário não apenas para um passivo ambiental, mas para assegurar que a operação de armazenamento de carbono seja eficiente, em outras palavras, que o CO<sub>2</sub> injetado não retornará à atmosfera e que permanecerá no local retido por um longo período (KRAUSE, 2011).

Os riscos em projetos de captura e armazenamento de CO<sub>2</sub> são de origem híbrida, uma combinação de riscos tecnológicos e naturais, pois uma parte das causas de possíveis vazamentos não depende da operação da tecnologia. O tamanho do reservatório, mudanças demográficas, o comportamento sísmico na região, o microclima, entre outros, podem atuar modificando as características do processo e conseqüentemente a sua complexidade. Desta forma, menos controle existe sobre as causas que podem levar a um evento catastrófico, sendo importante monitorar e identificar anomalias no processo que possam acionar um plano de alerta de forma a controlar esse evento (ESTEVEZ; MORGADO, 2010).

Para a escolha das técnicas de monitoramento devem ser levadas em conta as características do reservatório de armazenamento, tais como: localização (*onshore/offshore*), profundidade, tipo (aquífero, reservatório de óleo/gás, camada de carvão) e quantidade de CO<sub>2</sub> injetado. Dentre os tipos de monitoramento estão por exemplo, o imageamento da pluma, a verificação da integridade da rocha selo, a observação da migração do CO<sub>2</sub> para camadas sobrejacentes e/ou subjacentes, a quantificação do CO<sub>2</sub> armazenado com finalidade regulatória e fiscal, avaliação dos vazamentos para a superfície e a integridade de poços (MELO, 2012).

Para avaliar o armazenamento de CO<sub>2</sub> em sub-superfície são utilizadas diversas ferramentas de detecção e quantificação de CO<sub>2</sub>. Estas ferramentas estão associadas principalmente ao monitoramento atmosférico, ao monitoramento próximo à superfície e o monitoramento subterrâneo do reservatório (NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY, 2009).

O monitoramento subterrâneo é realizado a partir de instrumentos capazes de detectar falhas, fraturas, e qualquer atividade sísmica que podem estar presentes na zona de injeção e nas zonas confinantes adjacentes. São ferramentas já utilizadas pela indústria do petróleo para realizar o monitoramento de poços de petróleo. Elas podem incluir amostragem de sub-superfície e detecção de traçadores, além de métodos sísmicos de imageamento, métodos de alta precisão de gravidade e técnicas elétricas entre outros (CRAVEIRO, 2013; NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY, 2009). O Quadro 3.3 exibe um resumo de algumas técnicas utilizadas para o monitoramento subterrâneo.

Quadro 3.3. Exemplos de técnicas de monitoramento subterrâneo.

Método	Descrição	Vantagens	Desvantagens
<i>Well Logging</i> (Perfilagem)	Tecnologia utilizada para monitorar poços que permite a caracterização física das formações rochosas. Dentre as medições possíveis está a porosidade, densidade, litologia e imageamento do perfil.	Tecnologia facilmente implantada e conhecida.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Área de investigação está limitada as proximidades do poço.</li> <li>• Algumas ferramentas não são sensíveis ao CO<sub>2</sub> dissolvido ou mineralizado.</li> <li>• A presença dos fluidos utilizados na complementação do poço (<i>workover</i>) podem afetar os resultados das análises.</li> </ul>
<i>Downhole</i> (Sensores de fundo)	Permitem o monitoramento do desempenho de poços e a estimativa de parâmetros de reservatórios no longo prazo. Pode ser utilizada para monitorar a injeção e o avanço de CO <sub>2</sub> nos poços.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medições indiretas e diretas do transporte de CO<sub>2</sub>.</li> <li>• Sensores de pressão para monitorizar a integridade mecânica do poço e detectar vazamento de CO<sub>2</sub>.</li> <li>• Os dados de monitoramento de temperatura podem ser utilizados em modelos de simulação para monitorar as condições de fluxo de fluido ao longo do local da injeção.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sensores e medidores exigem calibrações específicas para estar em conformidade com as normas.</li> </ul>
Análise de traçadores na sub-superfície.	Tecnologia que permite monitorar o transporte de CO <sub>2</sub> no reservatório bem como as reações, dissolução e dispersão deste gás na sub-superfície.	Exibe as características geoquímicas do transporte de CO <sub>2</sub> e fornece dados para estimar o balanço de massa e a distribuição do CO <sub>2</sub> na sub-superfície.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não fornece imagens da migração de CO<sub>2</sub></li> <li>• Monitora somente fluidos na região do poço.</li> </ul>
Métodos sísmicos.	O método de refração sísmica é baseado no princípio de geração de uma frente de ondas sísmicas por uma fonte de energia e registrar este sinal através de diversos sensores.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Método conhecido e utilizado para o monitoramento da pluma de CO<sub>2</sub>.</li> <li>• Pode indicar a migração de CO<sub>2</sub> e um possível vazamento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Complexidade geológica e ruído do ambiente pode degradar ou atenuar os dados sísmicos na superfície.</li> </ul>

Fonte: Adaptado de NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY (2009); CRAVEIRO (2013).

No monitoramento atmosférico são usadas técnicas para medir a densidade e o fluxo de CO<sub>2</sub> na atmosfera acima dos locais de armazenagem subterrânea. As três técnicas mais comuns de monitoramento atmosféricos são: sensores ópticos de CO<sub>2</sub>, traçadores atmosféricos, e as técnicas de medição de fluxo a partir da covariância de vórtices turbulentos (*Eddy Covariance - EC*) (MELO, 2012; NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY, 2009). O Quadro 3.4 exibe um resumo das principais técnicas de monitoramento atmosférico.

Quadro 3.4. Principais técnicas de monitoramento atmosférico.

Método	Descrição	Vantagens	Desvantagens (Desafios)
Sensores ópticos	Sensores para medição contínua ou intermitente de CO <sub>2</sub> no ar.	Os sensores podem ser relativamente baratos e portáteis .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não distingue a liberação de emissões naturais das variações de CO<sub>2</sub> ocasionadas por algum vazamento</li> <li>• Não fornece informações contínuas em grandes áreas.</li> </ul>
Traçadores atmosféricos	Injeção de compostos químicos naturais que são monitorados no ar para ajudar a detectar CO <sub>2</sub> libertado para a atmosfera .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Usado para encontrar o CO<sub>2</sub> de forma indireta quando a observação direta não é adequada</li> <li>• Usado para rastrear potenciais plumas de CO<sub>2</sub>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Em alguns casos, o equipamento analítico não está disponível no local, e as amostras devem ser analisadas fora do local.</li> <li>• Níveis da linha de base deve ser bem estabelecidos.</li> </ul>
<i>Eddy Covariance</i>	Técnica de medição de fluxo utilizado para medir as concentrações de CO <sub>2</sub> na atmosfera a uma altura especificada acima da superfície do solo.	Pode fornecer dados médios contínuos, tanto no tempo quanto no espaço, sobre uma grande área.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• É necessário um equipamento especializado e robusto para o processamento de dados.</li> <li>• A variabilidade espacial e temporal natural no fluxo de CO<sub>2</sub> pode mascarar o sinal.</li> </ul>

Fonte: Adaptado de NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY (2009).

As técnicas de monitoramento próximos à superfície são utilizadas desde o topo do solo até a zona de águas subterrâneas rasas. As ferramentas que medem os efeitos do CO<sub>2</sub> na região próxima à superfície incluem ferramentas geoquímicas de monitoramento no solo, na zona vadosa e a zona de águas subterrâneas rasas. Este monitoramento inclui ferramentas de deslocamento e estresse do ecossistema que

geralmente se baseiam em uma avaliação de sensoriamento remoto por satélite capaz de detectar a deformação da superfície terrestre e o estresse vegetativo resultante de um aumento das concentrações ou dos fluxos de CO<sub>2</sub> em regiões próximas à superfície (MELO, 2012; NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY, 2009). O Quadro 3.5 exibe um resumo das principais técnicas de monitoramento de superfície utilizadas.

Quadro 3.5. Principais técnicas de monitoramento de superfície.

<b>Método</b>	<b>Descrição</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens (Desafios)</b>
Águas Subterrâneas	Amostragem da água e solo para análises químicas básicas.	Tecnologia madura; detecção mais fácil do que a atmosférica. Detecção precoce antes de grandes emissões.	Esforço significativo para resultado nulo, caso não ocorram vazamentos. Detecção de vazamentos relativamente tardia.
Gases no solo/Zona Vadosa	Amostragem de gases na zona vadosa/solo para análises de CO <sub>2</sub> .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CO<sub>2</sub> retido nos gases do solo permanece por longos períodos de tempo.</li> <li>• Detecção de concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> (bem acima dos níveis de background) é indicativa de vazamento e migração do reservatório de armazenamento.</li> </ul>	Esforço significativo para resultado nulo, caso não ocorram vazamentos. Detecção de vazamentos relativamente tardia.
Câmaras de fluxo	Quantifica fluxos de CO <sub>2</sub> do solo em uma área pequena, pré-determinada.	Detecção rápida e efetiva dos fluxos de CO <sub>2</sub> .	Medições instantâneas em áreas limitadas.
Ecosistemas	Técnicas utilizadas para avaliar o estresse do ecossistema como um indicador de vazamento de CO <sub>2</sub> .	Método de reconhecimento fácil e efetivo de detecção rápida e efetiva dos fluxos de CO <sub>2</sub> .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detecção somente após a emissão ter ocorrido.</li> <li>• Difícil quantificação de taxas de vazamento. Modificações não relacionadas a CCUS levam a falsos-positivos.</li> <li>• Nem todos ecossistemas são igualmente sensíveis ao CO<sub>2</sub>.</li> </ul>

Fonte: Adaptado de NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY (2009), MOREIRA et al. (2013).

Alguns projetos de MMV já investigam a utilização do biomonitoramento como os levantamentos botânicos (saúde e diversidade da vegetação), microbianos (contagem de bactérias totais, biomassa total, tipos e níveis de atividade microbiana) como técnica de detecção de vazamento de CO<sub>2</sub>. Estudos indicam que a pesquisa associada ao biomonitoramento adaptada à fuga desse gás traz resultados eficientes e às vezes com métodos simples, o que diminui os custos (NOBLE et al., 2012).

Segundo Wang et al. (2014), diversos estudos sugerem que, a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>, os microrganismos no solo são os primeiros a sentir os efeitos e, conseqüentemente, a se modificarem. Portanto, estudar a mudança dos microrganismos do solo, sob condições de alta concentração de CO<sub>2</sub>, é uma maneira relevante de avaliar as condições de vazamentos e riscos em projetos de CCUS quantitativamente.

Existem diversos sites destinados à condução de ensaios de vazamento de CO<sub>2</sub> em diferentes países. No Brasil, o primeiro laboratório de campo foi construído na fazenda Ressacada no campus da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A liberação controlada foi feita através de um duto horizontal com 50 metros de comprimento, a 8 metros abaixo da superfície em 5 seções individualizadas de aproximadamente 10 metros cada. A detecção do fluxo de CO<sub>2</sub> na atmosfera foi feita pelo método *Eddy Covariance* com câmaras de fluxo dinâmicas através de um analisador de gás por absorção na faixa do infravermelho (IRGA) que determina a concentração de CO<sub>2</sub> por meio de espectroscopia de absorção óptica. O método geofísico utilizado para a caracterização geofísica e hidrogeológica foi a eletrorrestividade por sondagem elétrica vertical e imageamento 2D e 3D. As medidas de concentração *in situ* foram realizadas utilizando sensores ópticos (MOREIRA et al., 2013).

### 3.3. Solo

O solo pode ser definido como uma cobertura natural da superfície terrestre com características próprias desenvolvidas durante seu processo de formação, o qual é condicionado pelos fatores ambientais, apresentando características morfológicas, físicas, químicas e mineralógicas relacionadas aos processos e fatores que lhe deram origem (MEURER; ANGHINONI, 2012).

O solo também pode ser caracterizado como um material solto e macio que cobre a superfície da terra, podendo variar em relação à sua espessura, características como cor, quantidade e organização das partículas que o compõe, fertilidade e porosidade. Fazem parte da sua constituição material mineral, orgânico, água, ar e organismos vivos (COELHO et al., 2013).

Diferentes condições ambientais formam solos de diferentes tipos, existindo uma grande variabilidade, que possuem diferentes profundidades, cores, estrutura, textura, consistência, teores de nutrientes, acidez e matéria orgânica, entre outros. Estas diferenças entre tipos de solo podem ser estudadas a partir do perfil do solo, que consiste de um corte vertical que permite a observação da existência de camadas paralelas à superfície e denominadas de horizontes do solo, conforme a Figura 3.3 (CASTILHOS et al., 2004).

Os horizontes do solo são diferenciados de acordo com a sua composição química, física e mineralógica, como descrito no Quadro 3.6.

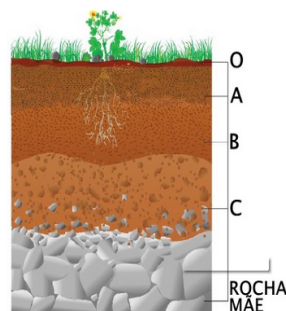


Figura 3.3. Perfil com os horizontes do solo.

Fonte: Costa (2004).

Um horizonte pode ser distinguido, em geral, de outro adjacente, através das características observáveis no campo. No entanto são necessários normalmente dados laboratoriais para uma completa caracterização dos horizontes e, portanto, para a sua perfeita identificação e designação (COSTA, 2004).

Quadro 3.6. Definição dos horizontes do solo.

HORIZONTE	DEFINIÇÃO
O	Horizonte orgânico, de cobertura, composto predominantemente por matéria orgânica fresca ou em decomposição.
A	Horizonte mineral superficial resultante da concentração de material orgânico decomposto misturado com material mineral.
B	Horizonte mineral bastante afetado pelos processos de formação do solo e caracterizado pelo acúmulo de argila, ferro e alumínio e pouca matéria orgânica.
C	Horizonte mineral formado por material não consolidado com pouca influência de organismos e normalmente apresenta composição química, física e mineralógica similares à do material onde se desenvolveu o solo.
Rocha Mãe	Rocha matriz a partir da qual o solo se desenvolveu

Fonte: Adaptado de COSTA (2004).

Pode-se dizer que o solo é composto por três fases bem distintas: gasosa, líquida e sólida (KIEHL,1987). A fase sólida é formada por material orgânico decomposto e minerais de partículas de diferentes tamanhos (argila, silte e areia). Os espaços vazios gerados pela agregação das partículas, denominados poros, são preenchidos com água, que compõe a fase líquida, e ar, que compõe a fase gasosa (CASTILHOS et al., 2004). A Figura 3.4 apresenta a distribuição volumétrica dos constituintes físicos de dois solos típicos: orgânico e mineral.



Figura 3.4. Distribuição volumétrica dos constituintes físicos dos solos orgânico e mineral.

Fonte: Adaptado de KIEHL (1987).



De acordo com as características hidrogeológicas do solo, a água em sub-superfície se distribui nos vazios em duas zonas principais: zona não saturada (também conhecida como zona vadosa, zona rasa ou zona de aeração) e zona saturada ou freática. A zona vadosa corresponde à porção superficial do material geológico, situada entre a superfície do terreno e o topo do aquífero, sendo caracterizada como um meio onde os poros estão preenchidos pela água nas fases líquida e gasosa. A zona saturada é o local onde as rochas ou o solo estão com seus poros totalmente preenchidos por água líquida. O limiar entre estas duas zonas é denominado de superfície freática ou nível da água subterrânea (GROTZINGER, JORDAN, 2013; PAIXÃO, 2005). A hidrologia da zona vadosa é muito diferente da hidrologia da zona saturada justamente devido à presença de ar nos poros do solo. A proporção de água e ar nos poros varia, influenciando diretamente as propriedades hidráulicas do meio poroso (FETTER, 1992). A Figura 3.5 exibe uma representação da sub-superfície do solo e a distribuição da água nas principais zonas de umidade.

Dentre diversas classificações dos tipos de solo, destacam-se os solos arenosos e os argilosos. O solo arenoso tem boa porosidade e é bastante permeável sendo que a penetração da água até camadas mais profundas faz com que ele seja mais seco. Assim, plantas e micro-organismos têm mais dificuldade para crescer nessas condições. Já o solo argiloso é menos permeável e, por isso, armazena mais água. Além disso, tem grande quantidade de óxidos de alumínio e de ferro (SILVA, 2009).

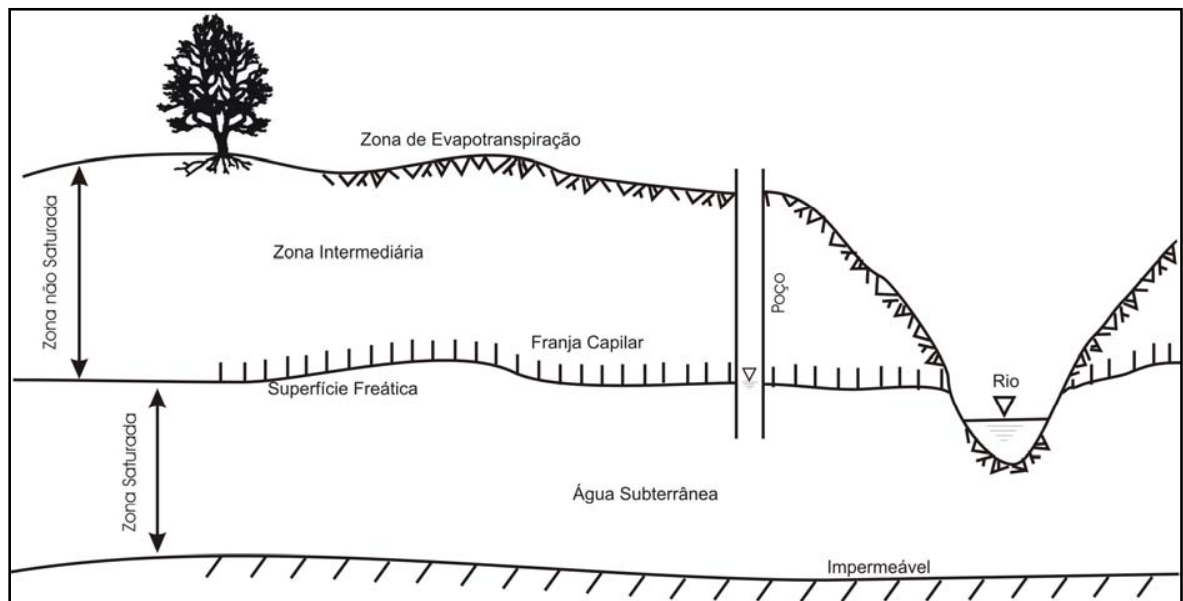


Figura 3.5. Representação da distribuição da água na sub-superfície do solo, mostrando as principais zonas de umidade.

Fonte: PAIXÃO (2005).

Solos posicionados em cotas mais baixas nas paisagens são sujeitos a saturação por água ou alagamentos e são conhecidos como várzeas. O alagamento altera o equilíbrio natural do solo desencadeando uma série de transformações nas características físicas, biológicas, eletroquímicas e químicas desse meio. Assim como na zona freática quando alagado a água preenche os poros do solo fazendo com que ocorra uma redução na perda de nutrientes por percolação. O oxigênio é rapidamente consumido pois a difusão de gases é muito. Como o consumo de oxigênio pelos organismos do solo é maior que o oxigênio obtido por difusão, forma-se um gradiente de concentração de oxigênio formando duas camadas distintas: a superficial mais oxidada e a mais profunda mais reduzida (AGOSTINETTO et al., 2002; MEURER; ANGHINONI, 2012).

A qualidade do solo é mensurada através do uso de diversos indicadores (atributos que medem ou refletem o *status* ambiental ou a condição de sustentabilidade do ecossistema). Os indicadores de qualidade do solo podem ser classificados como físicos, químicos e biológicos. Os microrganismos se enquadram nesses critérios, podendo ser utilizados como sensíveis bioindicadores da qualidade do solo (DE ARAÚJO & MONTEIRO, 2007).

Para se caracterizar um solo, fatores como a qualidade da amostra e os procedimentos dos ensaios devem ser levados em consideração. As amostras podem ser deformadas ou indeformadas (TONIN, 2013). As amostras deformadas destinam-se a classificação e identificação do solo e as amostras indeformadas preservam a textura, estrutura e umidade do solo por isso são destinadas à execução de ensaios de determinação de propriedades físicas e mecânicas do solo. A escolha entre um tipo ou outro de amostra é função da heterogeneidade do sub-solo, da natureza das camadas que o compõem e do tipo de análise que será feito (CAPUTO, 1988). O Quadro 3.7 mostra algumas diferenças entre as amostras de solo deformadas e indeformadas.

Quadro 3.7. Descrição dos diferentes tipos de amostragem do solo.

TIPO DE AMOSTRA/PARÂMETRO	DEFORMADA	INDEFORMADA
CARACTERÍSTICA / ASPECTO	Porção representativa de solo desagregado que mantém a textura/constituição mineral.	Porção representativa do solo na forma cúbica ou cilíndrica que mantém sua estrutura, textura e umidade.
UTILIZAÇÃO	Identificação visual e tátil, ensaios e de classificação, ensaios de compactação, ensaios de permeabilidade, compressibilidade e resistência ao cisalhamento.	Determinação das características do solo "in situ"
AMOSTRAGEM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Até 1,0 m da superfície pode ser realizada por ferramentas simples tais como pás e enxadas.</li> <li>• Para profundidades maiores utiliza-se trados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solos moles abaixo do nível d'água – amostradores de parede fina</li> <li>• Solos acima do nível d'água ou mais densos pode se abrir um poço e retirar um bloco usando uma caixa com dimensões apropriadas, ou por cravamento de amostrador biselado.</li> </ul>

Fonte: Adaptado de TONIN (2013).

A qualidade das amostras em solos é importante para minimizar a desestruturação do material principalmente quando se necessita uma amostra indeformada. Em profundidade, normalmente (por questões de viabilidade prática e financeira) a escavação de trincheiras ou poços para retirada de blocos tem sido substituída pela utilização de amostradores. A qualidade do amostrador e da técnica de amostragem empregada, assim como o acondicionamento da amostra e retirada

do amostrador será determinante para a caracterização do solo (BERTUOL, BRESSANI, BICA, 2009).

### 3.3.1. Microrganismos no solo

A comunidade microbiana é um componente essencial aos ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, uma vez que atua na decomposição da matéria orgânica, alterando a disponibilidade de nutrientes para as plantas, e influenciando as propriedades físicas do solo. A microbiota participa da formação da estrutura do solo, controla a disponibilidade de nutrientes às plantas pela mediação nos ciclos biogeoquímicos dos elementos, incluindo a fixação biológica do nitrogênio e a ciclagem de fósforo (SIQUEIRA et al., 1994).

Segundo Costa (2004) as atividades dos diversos grupos de organismos do solo estão interligadas entre si e com as condições de ambientes predominantes a cada momento, verificando-se que as populações microbianas se ajustam rapidamente às variações dessas condições. A ação microbiana do solo depende, entre outros fatores, da temperatura, aeração condições de umidade e pH, e teor de elementos nutritivos, bem como a competição que se estabelece entre os próprios grupos de microrganismos.

Os principais microrganismos do solo, de acordo com Martins (2014), são representados por bactérias, fungos e algas, além dos vírus, estruturas que se desenvolvem dentro das células vivas de outros organismos.

Observações *in situ* utilizando-se microscopia eletrônica revelam que os microrganismos ocupam, geralmente, menos de 0,5% do espaço poroso do solo aumentando significativamente no solo rizosférico (região do solo próximo a raízes das plantas) devido a maior disponibilidade de substrato (matéria orgânica) (MICHEREFF et al., 2005).

A maior atividade microbiológica no solo situa-se na camada entre 0 e 20 cm de profundidade, pois é onde ocorre maior acúmulo de matéria orgânica devido à

decomposição de matéria vegetal da parte aérea, além dos efeitos das raízes. No solo não-rizosférico, alguns microrganismos existentes encontram-se em dormência devido a baixa concentração de ingredientes necessários ao seu metabolismo, principalmente substratos orgânicos e ambientes físico-químicos favoráveis (MOREIRA, SIQUEIRA, 2006).

Em condições ideais, as bactérias são os microrganismos com maior velocidade de crescimento, podendo apresentar um tempo de geração (tg) em média de 20 minutos. Entretanto, tal velocidade não é constante, havendo acentuadas variações, que irão depender da fase de crescimento em que se encontram e das condições do ambiente. Os parâmetros intrínsecos (inerentes ao solo) e os extrínsecos (inerentes ao ambiente), por conseguinte, determinam também a velocidade de multiplicação (HOFFMAN, 2001).

A constituição genética da comunidade microbiana do solo, modulada pelas condições ambientais e disponibilidade de substrato, garantem os diversos tipos de relações entre seus componentes, permitindo o controle do crescimento e a atividade de cada população, evitando a explosão populacional e gerando o equilíbrio microbiológico do solo. Desse modo, a existência de um microrganismo num determinado tempo e lugar, resulta da sua evolução naquele lugar, da existência de fatores físicos e químicos favoráveis ao seu desenvolvimento, da existência de microrganismos associados e de competidores, antagonistas e predadores. Portanto, as relações biológicas são fatores determinantes da densidade e atividade dos microrganismos no solo (MICHEREFF et al., 2005).

As comunidades bacterianas não estão distribuídas aleatoriamente no solo. Padrões espaciais têm sido identificados na distribuição de bactérias e na função bacteriana em escalas de vários milímetros a vários metros (NUNAN et al., 2003). A quantidade microbiana no solo é impulsionada principalmente pela distribuição espacial dos recursos disponíveis e, portanto, com a redução da concentração de carbono (C) no solo, a abundância microbiana normalmente diminui com a profundidade. Próximo à superfície do solo, há suprimentos de C acima e abaixo da

biomassa vegetal, provendo substrato para uma abundante e ativa comunidade microbiana (HELGASON et al., 2014).

### 3.4. Bioindicadores de concentração de CO<sub>2</sub> no solo

Em geral as mudanças biológicas na natureza são conhecidas e podem servir como indicadores simples, mas eficazes na indicação de mudanças no ecossistema em geral. Devido à riqueza, e atividade bioquímica e metabólica, e também pelo fato de proporcionar respostas rápidas a mudanças no ambiente, o uso de microrganismos como bioindicadores apresenta alto potencial na avaliação da qualidade do solo (ARAUJO; MONTEIRO, 2007).

Segundo Moreira et al. (2013), o fluxo de CO<sub>2</sub> no solo é um processo físico governado principalmente pela difusão devido aos gradientes de concentração de CO<sub>2</sub> entre as camadas superiores de solo e a atmosfera mais próxima à superfície do solo. Fatores ambientais (temperatura e umidade do solo, conteúdo de matéria orgânica) e biológicos (tamanho da cobertura vegetal, atividade de crescimento microbiano, etc.) também afetam a produção de CO<sub>2</sub> no solo e seu transporte solo-atmosfera.

O objetivo do monitoramento microbiológico é identificar, localizar e entender as alterações na atividade e composição da comunidade microbiana frente à variação na concentração de CO<sub>2</sub>. Os mais diferentes tipos de espécies biológicas podem influenciar e sofrer a influência do meio, e das alterações de pH, salinidade, temperatura, entre outras, que podem ser associadas à presença de CO<sub>2</sub> na superfície. Segundo Tarkowski, Królik e Uliasz-Misiak (2009) aproximadamente 2 a 3 milhões de espécies de bactérias podem ser encontradas na biosfera, portanto existe uma grande possibilidade que diversas espécies já estejam adaptadas a altas concentrações de CO<sub>2</sub> tendo condições de crescer e se proliferar, servindo como ferramenta para monitoramento da presença do gás (NOBLE et al., 2012).

Pierce e Sjoergersten (2009) examinaram os efeitos das concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> na comunidade microbiana do site *Artificial Soil Gassing and Response Detection* (ASGARD) localizado no campus da Universidade de Norttingham no Reino

Unido. O CO<sub>2</sub> foi injetado 60 cm abaixo do solo em uma área de 2,5 m x 2,5 m com uma vazão de 1 L.min<sup>-1</sup>. As injeções foram feitas de forma contínua por um período de 10 semanas. Esse estudo não detectou mudanças significativas na biomassa, no entanto foi observado uma redução na respiração microbiana. A partir do estudo, os autores sugerem o desenvolvimento de métodos de detecção de vazamento a partir dos microrganismos.

O projeto PISCO2 que está sendo desenvolvido pela *Fundación Ciudad de la Energía* (CIUDEN) em parceria com o governo espanhol, pretende encontrar bioindicadores baratos para o vazamento de pequenos fluxos de CO<sub>2</sub>. O laboratório de campo instalado em In Salah – Argélia constatou uma significativa mudança na diversidade das plantas após a injeção de CO<sub>2</sub>. No laboratório de campo instalado na cidade de Ketzin na Alemanha, foi observado um aumento na comunidade microbiana de Archea após vazamento de CO<sub>2</sub> devido à mudança do pH no solo desta região (NOBLE et al., 2012).

#### 3.4.1. **Microcosmos**

O estudo de microcosmos permite estabelecer condições controladas necessárias para correlacionar a dinâmica da comunidade microbiana com as diferentes variáveis ambientais. Estes ensaios podem ser realizados em diversos sistemas em batelada e em colunas (FERNANDO, 2009).

Os ensaios em colunas buscam simular condições de campo, porém com maior controle de entrada de gases e análises em diferentes condições (ARAÚJO, 2014) e já são utilizados há muito tempo em estudos de propriedades hidrogeológicas do solo (LEWIS; SJÖSTROM, 2010). Também podem ser utilizados para fornecer parâmetros de transporte e retenção, através da migração das espécies químicas por meio de fluxo em material poroso (BASSO, 2010).

Os ensaios podem ser realizados através da injeção de ar atmosférico ou outros gases em colunas preenchidas com o substrato a ser estudado (ARAÚJO, 2014). Os resultados serão impactados pela metodologia escolhida para a construção

do sistema de colunas. Nestes estudos, é importante reproduzir as condições do ambiente e evitar o escoamento pelas paredes, via fluxo preferencial (LEWIS; SJÖSTROM, 2010).

Colunas de solo insaturado são conhecidas como lisímetros (termo utilizado para colunas de solo ao ar livre), sem definição para requisito mínimo de tamanho. São caracterizadas por terem ar e água (ou outro líquido) nos poros, e são utilizadas para reproduzir características encontradas no solo aerado. Já as colunas que operam em regime saturado têm seus poros preenchidos com um líquido, como a água, ou um líquido não aquoso, como uma fase oleosa. Não possuem ar ou fase gasosa presente nos poros e são geralmente utilizadas para reproduzir as condições encontradas em um aquífero (LEWIS; SJÖSTROM, 2010).

Experimentos em colunas com solo saturado e insaturado são amplamente utilizados, seja para avaliar modelos de transporte, ou para o estudo de microrganismos, entre outros (LEWIS; SJÖSTROM, 2010). Normalmente esses ensaios são realizados através da injeção de ar atmosférico ou outros gases em colunas preenchidas com o substrato a ser estudado (ARAUJO, 2014).

Apesar destas colunas serem aparentemente simples de serem construídas, existe uma série de questões técnicas que podem afetar o resultado de um experimento, como a formação de vias preferenciais de percolação, regimes de umidade irreais, entre outros (LEWIS; SJÖSTROM, 2010). Diversos estudos em colunas foram realizados, com o objetivo de simular as condições de campo, com a possibilidade de controlar a entrada dos gases e realizar análises em diferentes profundidades (ARAUJO, 2014).

De acordo com Bromly, Hinz e Aylmore (2007), para colunas saturadas a geometria vertical e lateral das colunas é importante para determinar as características de fluxo de gás. Através de análises de regressão e classificação, foi verificado que há uma relação entre a dispersividade média e o diâmetro. Diâmetros maiores ou iguais a 7,59 cm tendem a causar uma maior dispersividade do que colunas com diâmetros menores que este. Porém, não há muitos estudos que



comprovem isso, segundo os autores. O mesmo estudo observou que diâmetros maiores que 7,59 cm não influenciam na dispersividade e que esta irá variar somente com a altura da coluna. Colunas com alturas maiores do que 10,7 cm produzem maiores dispersividades, apesar dos efeitos de escalonamento sugerirem o contrário.

Kightley, Nedwell e Cooper (1995) examinaram como as comunidades microbianas metanotróficas, em uma variedade de solos adubados, respondiam à presença de gás metano, utilizando colunas (de 1 m de comprimento e 15 cm de diâmetro) seladas de policloreto de vinila (PVC), preenchidas com 90 cm de solo, expostas a fluxos de ar e metano. O solo foi agitado durante o preenchimento para acomodar o substrato. O metano foi injetado no fluxo ascendente ( $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) simulando condições naturais de dispersão em solos de aterros, enquanto o ar foi injetado na parte superior da coluna ( $300 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) para manter as características redox do solo. A partir do estudo em microcosmos foi possível observar dois períodos estacionários distintos um de aumento e outro de declínio no fluxo de  $\text{CH}_4$  no solo durante o ensaio que estão associados às diferentes interações da comunidade metanotróficas.

Wilshusen, Hettiaratchi e Stein (2004) desenvolveram um sistema de colunas para testar o potencial de oxidação do metano em solo. As colunas foram feitas de acrílico, com 1 m de comprimento e 0,14 m de diâmetro interno, com amostragens de gás, perfurados a cada 0,05 m. O gás metano foi injetado, em quatro tipos de solos adubados, através da parte inferior da coluna. O estudo observou que foi obtida uma alta taxa de oxidação do metano em diferentes períodos para todos os solos após uma fase rápida de aclimação nas colunas.

Rachor et al. (2011) construíram um sistema com cinco colunas de PVC com uma entrada para gás na parte inferior, e uma saída na parte superior. Pontos de amostragem foram instalados verticalmente a cada 0,10 metros. Na parte de baixo foi instalada também uma saída para água de drenagem de lixiviados. Este sistema foi criado com o objetivo de obter critérios de *design* para a construção de uma cobertura oxidante de metano, a partir de uma variedade de solos e determinar a capacidade de oxidação deste gás sob condições simuladas. Segundo os autores, o estudo em

colunas serviu como um sistema de teste apropriado para determinar a capacidade de oxidação do metano de um solo destinado a ser usado como material de cobertura de aterro.

Österreicher-Cunha et al. (2015) avaliaram o efeito do aumento da quantidade de CO<sub>2</sub> sobre a microbiota e as propriedades físico-químicas de um solo tropical não saturado a partir de microcosmos construídos em PVC de 60 cm de altura e 20 cm de diâmetro conectados a um cilindro de CO<sub>2</sub>. O gás foi injetado na coluna no sentido ascendente com uma vazão de 1 L.min<sup>-1</sup> para cada coluna por 2 horas, três vezes por semana para amostras deformadas e 5 vezes por semana em amostras indeformadas. Após incubação de até 90 dias o estudo indicou que o aumento de CO<sub>2</sub> aumentou a atividade das espécies anaeróbias podendo alterar as funções no ecossistema.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia deste trabalho foi estruturada a partir de quatro etapas distintas, as quais são: amostragem e caracterização do solo, montagem e execução do experimento de microcosmos, análises de dados por técnicas analíticas, microbiológicas e por fim o tratamento de dados.

### 4.1. Amostragem do solo

As amostras de solo para todas análises e ensaios foram coletadas no campus da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), no município de Viamão (coordenadas 30.05S e 51.03W, de latitude e longitude, respectivamente), local onde foi realizado o projeto do segundo laboratório de campo para injeção controlada de CO<sub>2</sub> do Brasil (CO<sub>2</sub>MOVE). Neste projeto foram realizadas sondagens em 10 pontos (numerados de 1 a 10), de acordo com as necessidades do projeto. Destes, foram selecionados três pontos para este estudo, que são os pontos 8, 9 e 10. A escolha destes pontos foi feita de maneira a não interferir nos locais de injeção e nas malhas de controle de vazamento de CO<sub>2</sub>. A Figura 4.1 exibe a localização dos três pontos onde foram realizadas as sondagens e coleta do solo no laboratório de campo com a identificação dos pontos de coleta. O Quadro 4.1 exibe a projeção geográfica dos pontos de coleta utilizados neste estudo. Esse projeto iniciou em 2015 e tem capacidade de injeção de CO<sub>2</sub> de 5 à 50 quilogramas por dia. As injeções ocorreram em Outubro de 2016 por um período de 30 dias em uma área de aproximadamente 100 m<sup>2</sup> (MELO et al., 2017).



Figura 4.1. Localização dos pontos de sondagens e coleta no laboratório de campo em Viamão-RS.

Quadro 4.1. Identificação geográfica dos pontos amostrados.

Ponto	Projeção Geográfica					
	Latitude			Longitude		
	Grau	Minuto	Segundo	Grau	Minuto	Segundo
8	-30	5	1,65	-51	3	31,88
9	-30	5	0,47	-51	3	32,73
10	-30	5	0,17	-51	3	32,19

#### 4.1.1. Períodos e estratégias de coleta do solo

Todas as amostras de solo coletadas durante o estudo foram embaladas e vedadas (Figura 4.2), e encaminhadas para o Laboratório de Processos Ambientais (LAPA) da Escola Politécnica e para o Instituto de Petróleo e dos Recursos Naturais (IPR) da PUCRS, para serem armazenadas e caracterizadas.

O material coletado destinado às análises físicas e químicas foi armazenado em local com temperatura controlada ( $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) e as amostras destinadas à análise microbiológica permaneceram congeladas em um freezer (a  $-20^{\circ}\text{C}$ ) para a contagem

de unidades formadoras e em um ultrafreezer (a  $-80^{\circ}\text{C}$ ) para a caracterização das comunidades microbianas.



Figura 4.2. Amostras de solo armazenadas em sacos vedados.

A primeira coleta ocorreu em abril de 2015 onde foi realizado um acompanhamento das sondagens iniciais do projeto CO<sub>2</sub>MOVE. Esta primeira coleta teve como objetivo conhecer o local onde seria implementado este projeto. Em janeiro de 2016 foi realizada uma coleta com pás dos pontos nomeados 9 e 10 foram coletados com diferentes propósitos. O ponto 8, nesta ocasião, estava inacessível pois a vegetação estava muito alta. A terceira coleta ocorreu em agosto de 2016, nesta coleta o solo foi coletado por pás na superfície. O solo para os ensaios de microcosmos foi coletado em setembro de 2016, por cravamento, pouco antes do início das injeções de CO<sub>2</sub>. Em outubro de 2016 ao final das injeções de CO<sub>2</sub> foi realizada uma nova coleta por pás dos pontos 8, 9 e 10. Essas datas foram escolhidas de acordo com a disponibilidade de acesso e permissão do projeto CO<sub>2</sub>MOVE, não tendo relação com as sazonalidades do ano. A última coleta de solo dos pontos 8, 9 e 10 foi realizada em janeiro de 2017. O Tabela 4.1 exibe o resumo das coletas realizadas durante o desenvolvimento da pesquisa.

Tabela 4.1. Resumo das informações das coletas: Data, ponto, informações climáticas e tipo de amostragem e análises.

Coleta	Ponto	Informações Climáticas e do local				Amostragem (Profundidade)	Análises
		Descrição	Precip (mm)	Temp. média (°C)	Umid. (%)		
abr/15	8	Coletado em 15/04, pancadas de chuva. Próximo a vegetação mais alta	0.9	22,7	90,75	Liner (0 - 8,65)	RISA
						Trado helicoidal ( 0 – 5,65)	Análises físico químicas e UFC
	9	Coletado em 16/04, parcialmente nublado Vegetação rasteira	3.5	22,4	81,75	Liner (0 - 11,50)	RISA
						Trado Helicoidal (0 - 11,50)	Análises físico químicas e UFC
	10	Coletado em 17/04, ensolarado. Próximo a vegetação mais alta	0	22,2	81	Liner (0 - 10,15)	RISA
						Trado Helicoidal (0 – 10,15)	Análises físico químicas, granulométrica e UFC
jan/16	8	Não coletado devido a falta de acesso ao local (vegetação alta)	-	-	-	Pás (superfície)	
	9	Coletado para as análises RISA em 19/01, ensolarado	0	26,2	69,25	Pás (superfície)	RISA
	10						
ago/16	8	Coletado em 23/08, ensolarado	0	13,3	60,5	Pás (superfície)	RISA, análises físico-químicas e UFC
	9						
	10						
set/16	8	Não coletado				-	
	9	Coletado para os ensaios em microcosmos em 02/09, parcialmente nublado	0	15,5	86,25	Cravamento (0,20)	RISA, análises físico-químicas e UFC
	10	Não coletado				-	
out/16	8	Coletado em 29/10, ensolarado	0	16,7	68,25	Pás (superfície)	RISA, análises físico-químicas e UFC
	9						
	10						
jan/17	8	Coletado em 13/01. Ensolarado. Vegetação alta	0	26,9	64	Pás (superfície)	RISA, análises físico-químicas e UFC
	9						
	10						

#### 4.1.2. Caracterização inicial do solo

A caracterização preliminar do local onde foram realizadas a injeção de CO<sub>2</sub> foi realizada juntamente com o projeto CO<sub>2</sub>MOVE a partir das primeiras sondagens no laboratório de campo em abril de 2015, conforme descrito no item 4.1.1.

Estas coletas foram feitas pela técnica *Direct Push Technology* (DPT) juntamente com sondagem a trado oco helicoidal (Figura 4.3a). *Direct Push Technology* é uma técnica de sondagem à percussão que consiste na aplicação de um impulso direto sobre a sonda, que opera a seco (sem fluido de perfuração), contendo um amostrador tubular (Figura 4.3b) de pequeno diâmetro, provido de um *liner*<sup>2</sup> (Figura 4.3c) plástico em seu interior (onde a amostra de solo fica retida) e de uma ponteira cônica maciça que perfura o solo (MONDELLI, 2004). Cada ponto de amostragem foi perfurado a partir da superfície até a rocha mãe, o que ocasionou diferentes profundidades de perfuração.



Figura 4.3. Ilustração do trado helicoidal (a), amostrador tubular (b) e *liner* (c) utilizados na coleta por DPT.

<sup>2</sup> Amostrador de solo em forma cilíndrica em PVC, utilizado para coletar amostras indeformadas

Para a caracterização da comunidade microbiana foram reservadas amostras do *liner*. Para as demais análises físicas, químicas e microbiológicas, foram utilizadas as amostras obtidas pelo trado helicoidal em diferentes profundidades.

Para realizar a análise granulométrica do solo foi utilizado o solo do ponto 10, pois a coleta do perfil do solo foi total. Para este procedimento, as amostras do mesmo ponto de perfuração em diferentes profundidades foram misturadas em porções de pesos iguais. Antes do peneiramento, a amostra de solo já misturada passou por um processo de secagem em estufa pelo período de duas horas a 110°C para retirar sua umidade. O solo seco foi levado à um vibrador de peneiras constituído por oito peneiras da série ASTM (do inglês *American Society for Testing and Materials*) de diâmetros de abertura diferentes onde permaneceu por vinte minutos até a separação de partículas em diversas frações.

A classificação das frações granulométricas realizada em uma amostra da primeira sondagem foi realizada a partir da Escala Internacional de Classificação das Frações Granulométricas (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Escala Internacional de Classificação das Frações Granulométricas

Nome da Fração Granulométrica	Limite do Diâmetro (mm)
Cascalho	20-2
Areia Grossa	2-0,2
Areia Fina	0,2-0,02
Silte	0,02-0,002
Argila	<0,002

Fonte: KIEHL (1987).

#### 4.1.3. Caracterização do solo *in situ*

Para comparar os resultados dos ensaios em microcosmos com o solo do laboratório de campo, além do solo coletado na sondagem do local (em abril de 2015), foram realizadas coletas de solo superficiais antes da injeção de CO<sub>2</sub> em janeiro e agosto de 2016, no fim da injeção (outubro de 2016) e posterior à injeção (janeiro de 2017). Para este monitoramento o solo foi coletado manualmente utilizando pás. Sua



caracterização foi realizada a partir das análises físicas, químicas e microbiológicas bem como a do solo em colunas.

## **4.2. Sistema de microcosmos**

### **4.2.1. Projeto dos sistemas de microcosmos**

Para a determinação do tipo e das características das colunas a serem utilizadas no experimento foi realizado um estudo bibliográfico para mapear técnicas, tamanhos e materiais que pudessem ser utilizados na confecção de um sistema para aferição dos dados experimentais. Este levantamento foi apresentado no item 3.4.1 (Microcosmos – Solos em coluna) desta tese. O Quadro 4.2 apresenta um resumo deste levantamento bibliográfico.

Para a escolha do material, além dos estudos apresentados foram considerados os custos, disponibilidade de recursos e confecção das colunas. As colunas foram projetadas de maneira distinta de acordo com o experimento e foram confeccionadas no Laboratório de Fabricação (Usinagem e Protótipos) da Escola Politécnica da PUCRS.

### **4.2.2. Ensaio em microcosmos**

O solo utilizado neste ensaio foi coletado do ponto 9 de maneira indeformada por cravamento direto da coluna no solo até 20 cm de profundidade. A coleta do solo aconteceu na manhã de 02 de setembro de 2016 (temperatura na hora da coleta e média do dia de 15 °C, umidade 80%, sem precipitação). Nas semanas anteriores à coleta, o tempo foi instável ocorrendo períodos de chuvas – precipitação total de 98,8 mm, temperatura média 16 °C para agosto de 2016 (DARKSKY, 2017; INPE, 2017).

Para a realização do ensaio em microcosmos para o teste denominado de insaturado, foi utilizado o solo nas condições de coleta. Para simular uma situação de solo encharcado (ou saturado) foi realizado o preenchimento dos poros com água de chuva esterilizada em autoclave. Os ensaios em microcosmos de solo com injeção

contínua de CO<sub>2</sub> foram realizados no Laboratório de Modelagem Geoquímica (LAMOG) do IPR e no Laboratório de Soldagem (LABSOLDA) da Escola Politécnica. Estes ensaios foram realizados com solo insaturado e solo saturado com água. estéril.

Quadro 4.2. Principais referências utilizadas na escolha do material e dimensão das colunas.

Estudo	Colunas			Referência
	Material	Dimensão	Informações	
Como as comunidades microbianas metanotróficas, em uma variedade de solos, respondiam à presença de gás metano	PVC	1 m x 0,15 m	90 cm de solo;	[1]
			Fluxo de Metano ascendente (5 L.min <sup>-1</sup> );	
			Fluxo de ar descendente (300 mL.min <sup>-1</sup> )	
Testar potencial de oxidação do metano em adubos	Acrílico	1m x 0,14m	Amostragem a cada 0,05 m da coluna;	[2]
			Fluxo ascendente	
Obtenção de design para a construção de uma cobertura oxidante de metano e analisar a capacidade oxidante deste gás	PVC	1,07 m x 0,19m	Amostragem a cada 0,10 m da coluna;	[3]
			Fluxo ascendente	
			Purga de água	
Efeito do aumento da quantidade de CO <sub>2</sub> sobre a microbiota e as propriedades física e químicas de um solo tropical não saturado	PVC	0,6 m x 0,2 m	Fluxo ascendente (1 L.min <sup>-1</sup> ) por 2h 3x e 5x por semana.	[4]
			1 cilindro de CO <sub>2</sub> .	
			Incubação de 90 dias de ensaio	
Relação da dispersividade das propriedades do solo em colunas homogêneas, saturadas e empacotadas	-	Diâmetros ≥ 7,59 cm	Maior dispersividade e que esta irá variar somente com a altura da coluna.	[5]
		Colunas com alturas > 10,7 cm	Produzem maiores dispersividades, apesar dos efeitos de escalonamento sugerirem o contrário.	

[1] Kightley, Nedwell e Cooper (1995); [2] Wilshusen, Herriaratchi e Stein (2004); [3] Rachor et al. (2011); [4] Österreicher-Cunha et al. (2015); [5] Bromly, Hinz e Aylmore (2007).

Os ensaios foram realizados em 4 colunas com solo insaturado e 4 com solo saturado. Uma coluna com o solo insaturado (B1) e outra com solo saturado com água (B2) permaneceram nas mesmas condições que as demais colunas, porém sem injeção de CO<sub>2</sub>. As colunas onde foi percolado o CO<sub>2</sub>, foram denominadas de C1, C2 e C3 para o ensaio com solo insaturado e C4, C5 e C6 para o solo saturado. O CO<sub>2</sub> foi injetado com fluxo ascendente continuamente até o término do cilindro (8 m<sup>3</sup>) com vazão aproximada de 1,4 L.min<sup>-1</sup> distribuída por um dispersor entre as 3 colunas consideradas triplicatas biológicas. A vazão foi determinada de acordo com limite mínimo de detecção do fluxômetro de CO<sub>2</sub>. O CO<sub>2</sub> efluente das colunas foi borbulhado em sabão diluído para monitoramento da saída de gás.

A Figura 4.4 exibe um diagrama esquemático do ensaio em colunas para solo insaturado com a injeção de CO<sub>2</sub>. De acordo com a pesquisa bibliográfica realizada, não foi encontrada uma descrição de um método para a saturação do solo para ser utilizado em microcosmos para análise microbiológica. Como os microcosmos formam sistemas abertos com fluxo contínuo de gás foi necessário a determinação da quantidade de água suficiente para garantir o solo encharcado, mas sem água acumulada para que não houvesse interferência no fluxo de gás.



Antes e após a realização dos experimentos foram feitas análises físicas, químicas e microbiológicas do solo das colunas. As amostras foram retiradas da superfície do solo no microcosmos sendo analisada antes da injeção de CO<sub>2</sub>, no término de injeção (4 dias) e em um período de incubação, onde as colunas foram mantidas nas mesmas condições, em ambiente de temperatura controlada (23 ± 3°C), 80 e 160 dias após a injeção.

### 4.3. Análises de dados

#### 4.3.1. Delineamento experimental e análises físicas, químicas e microbiológica

As análises associadas aos experimentos de microcosmos foram o pH, condutividade, teor de umidade, matéria orgânica, potencial de oxirredução e as análises microbiológicas de contagem de unidade formadoras de colônia e análise do espaçamento intergênico (RISA). Na realização do experimento em microcosmos foram geradas uma amostra inicial (antes do experimento) mais 12 amostras de cada teste (3 amostras para cada coluna) que estão apresentadas no Quadro 4.3.

Quadro 4.3. Identificação das amostras geradas no ensaio de microcosmos de solo em colunas de acordo com o tipo de solo e dia de amostragem.

Ensaio com solo Insaturado				Ensaio com solo saturado			
B1 – 4d	C1 – 4d	C2 – 4d	C3 – 4d	B2 – 4d	C4 – 4d	C5 – 4d	C6 – 4d
B1 – 80d	C1 – 80d	C2 – 80d	C3 – 80d	B2 – 80d	C4 – 80d	C5 – 80d	C6 – 80d
B1 – 160d	C1 – 160d	C2 – 160d	C3 – 160d	B2 – 160d	C4 – 160d	C5 – 160d	C6 – 160d
ZERO - Amostra inicial dos ensaios com solo saturado e insaturado sem injeção de CO <sub>2</sub> .							

Para a identificação das amostras obtidas durante o ensaio em microcosmos, foram criados códigos amostrais. A amostra de solo retirada antes da injeção de CO<sub>2</sub> foi nomeada de ZERO. As colunas sem percolação de CO<sub>2</sub> identificadas como B1 no ensaio com solo insaturado e B2 no ensaio com solo saturado tiveram o acréscimo em sua nomenclatura de acordo com os dias em que foram coletadas (Quadro 4.3).

Na amostra coletada no fim da injeção de CO<sub>2</sub> (quarto dia), foi adicionado o código 4d, sendo assim, as amostras ficaram referenciadas como B1 - 4d e B2 - 4d. Nas amostras coletadas nestas colunas em 80 e 160 dias de incubação foram adicionados os códigos 80d, e 160d, respectivamente. Para as amostras dos ensaios com injeção de CO<sub>2</sub> das colunas com solo insaturado (C1, C2 e C3), e com solo saturado (C4, C5 e C6), também foi utilizada a mesma nomenclatura adotada para as colunas B1 e B2.

As amostras das coletas do solo do laboratório de campo, coletados para a comparação com o solo do experimento em microcosmos, geraram 14 amostras e também foram identificadas por código. O Quadro 4.4, exibe a identificação utilizada para os pontos de coleta do solo de acordo com a data de coleta.

Quadro 4.4. Identificação das amostras dos pontos 8, 9 e 10 em diferentes épocas de coleta.

Ponto	Código da amostra	Descrição
8	8A	Ponto 8 coletado em Abr./2015 por DPT
	8B	*
	8C	Ponto 8 coletado em Ago./2016 por pás
	8D	Ponto 8 coletado em Out./2016 por pás
	8E	Ponto 8 coletado em Jan./2017 por pás
9	9A	Ponto 9 coletado em Abr./2015 por pás
	9B	Ponto 9 coletado em Jan./2016 por pás
	9C	Ponto 9 coletado em Ago./2016 por pás
	9D	Ponto 9 coletado em Out./2016 por pás
	9E	Ponto 9 coletado em Jan./2017 por pás
10	10A	Ponto 10 coletado em Abr./2015 por pás
	10B	Ponto 10 coletado em Jan./2016 por pás
	10C	Ponto 10 coletado em Ago./2016 por pás
	10D	Ponto 10 coletado em Out./2016 por pás
	10E	Ponto 10 coletado em Jan./2017 por pás

\*Amostra não coletada devido a indisponibilidade de acesso ao local em jan. de 2016.

#### 4.3.2. Análises físicas e químicas

O pH das amostras foi determinado seguindo a metodologia da ASTM D4972-13 (2013) e classificado de acordo com a escala de Pralongo (Tabela 4.3).

Tabela 4.3. Escala de Pralongo.

pH do solo	≤ 4,5	4,6 – 5,5	5,6- 6,5	6,6- 7,5	7,6- 8,5	8,6- 9,5	≥ 9,6
Designação	Hiperácido	Ácido	Subácido	Neutro	Subalcalino	Alcalino	Hiperalkalino

Fonte: COSTA (2004).

A condutividade foi determinada pela NBR 10223: 1988 (ABNT, 1988) e o potencial de oxirredução (Redox) pelo Método 2580 da *American Publish Health Association* – APHA (APHAa, 1998). O teor de umidade do solo amostrado foi determinado pela remoção de água por aquecimento adaptado de ASTM (2010). Os recipientes utilizados passaram por um processo de secagem até atingirem peso constante livre de umidade. Para as amostras úmidas foi adotada a massa mínima de

10 gramas devido à falta de informação do tamanho máximo das partículas. As amostras foram aquecidas em estufa a 105°C e pesadas em balança analítica até peso constante.

O teor de umidade das amostras pode ser calculado a partir da Equação 4.1:

$$h = \frac{m_{bu} - m_{bs}}{m_{bs} - m} \times 100 \quad (4.1)$$

onde h é o teor de umidade em porcentagem,  $m_{bu}$  é a massa em base úmida em gramas correspondente à massa do recipiente mais a amostra de material úmido,  $m_{bs}$  é a massa em base seca em gramas correspondente à massa do recipiente mais a amostra de material seco em gramas e m corresponde à massa do recipiente, também em gramas.

Após a secagem, as amostras foram novamente aquecidas, a uma temperatura de 440°C, para a determinação do teor de cinzas por ignição. Foi adotado como procedimento de referência o Método C da ASTM D2974-14. O teor de cinzas (TC) expresso em base seca (bs) é obtido a partir da Equação 4.2

$$TC (\%) = \frac{B}{C} \times 100 \quad (4.2)$$

onde C é a massa de cinzas em gramas e B a massa do recipiente em gramas.

A quantidade de matéria orgânica (MO) expressa em base seca foi determinada através da diferença do teor de cinzas, de acordo com a Equação 4.3.

$$MO (\%) = 100 - TC(\%) \quad (4.3)$$

#### 4.3.3. Análises Microbiológicas



A contagem do número mais provável de unidades formadoras de colônias foi realizada através de diluições decimais em série adaptadas de Martins (2014). Para compor a diluição inicial foram adicionados 10 g de solo em 100 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,85%. A solução permaneceu sob agitação durante 30 minutos. As diluições posteriores foram obtidas transferindo-se 1 mL da solução inicial para tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina, seguida de agitação para homogeneizar a suspensão antes de proceder a diluição seguinte. Foram retiradas alíquotas de 0,1 mL das diluições seriadas e inoculadas em meio para contagem microrganismos heterotróficos (triptona a 21%, extrato de levedura a 11% e dextrose a 4%) adaptado de APHAb (1998).

As placas permaneceram a 30°C, em estufa por um período de sete dias e as contagens das UFC foram realizadas diariamente, para observar a evolução das formações de colônias, porém foi considerado como parâmetro a contagem de 7 dias. O número de microrganismos totais foi estimado pela média aritmética das contagens de cada diluição e expresso de acordo com a Equação 4.4.

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{\text{Número de colônias contadas}}{\text{Volume real de amostra em placa (mL)}} \quad (4.4)$$

Para a caracterização molecular das comunidades microbianas presentes nas diferentes amostras, o DNA total foi isolado a partir de 500 mg de amostra utilizando o kit *MoBio Power Soil* (Qiagen) seguindo o protocolo do fabricante. A reação de PCR foi realizada com oligonucleotídeos iniciadores universais para a técnica de fingerprint RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) (BORNEMAN, TRIPLETT, 1997). O volume final das reações de PCR foi de 25 µL. Foram adicionados 2 µL do DNA total ao mix contendo 2 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 2 mM de dNTPs, 1x PCR Buffer, 2mM MgCl<sub>2</sub> e 1 U de *Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen)*. As condições de ciclos de PCR foram uma desnaturação inicial de 94°C por 5 min; 35 ciclos com desnaturação de 94°C por 20 segundos, anelamento de 50°C por 30 segundos e extensão de 72°C por 1 minuto; e extensão final de 72°C por 5 minutos. Os produtos de PCR foram submetidos a eletroforese a 85 V por 180 minutos utilizando gel de

agarose 1,7% em tampão TBE 0,5X corado com Sybr Green (Bio-Rad). O tamanho dos fragmentos gerados foi estimado usando marcadores moleculares de 100 pb e de 1 Kb (Invitrogen).

Os procedimentos de biologia molecular e as análises foram realizadas no Laboratório de Geobiologia (LAGEB) do IPR. A Figura 4.5 ilustra as etapas da análise microbiológica RISA utilizada.

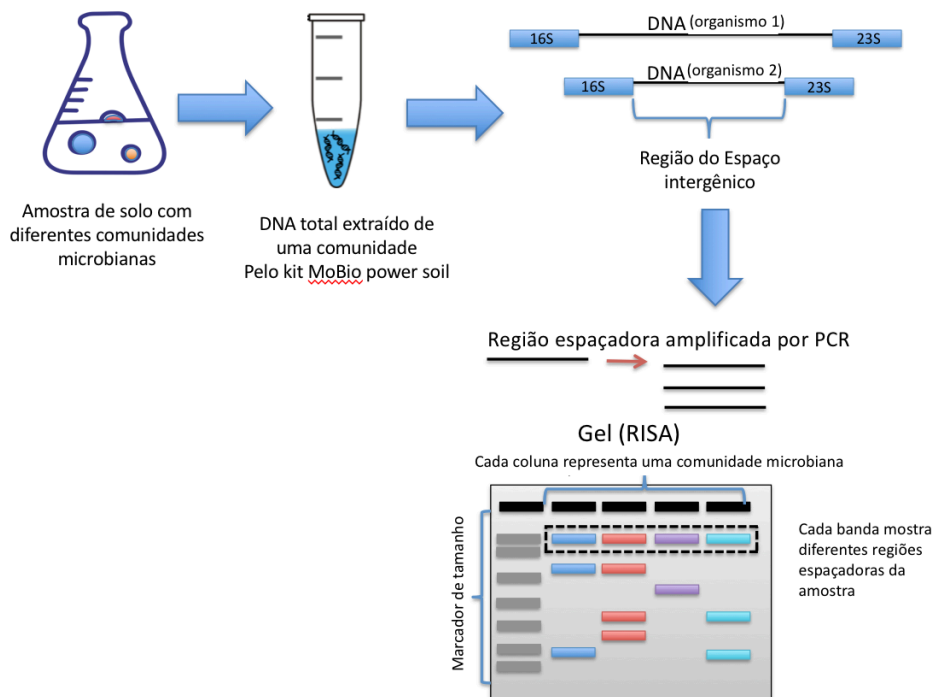


Figura 4.5. Etapas da análise microbiológica RISA para uma amostra de solo.

#### 4.3.4. Análise estatística de dados

Para sintetizar os dados foram utilizadas análises estatísticas descritivas, tais como média, desvio padrão e coeficiente de variação. Para a comparação dos dados foram utilizadas a análise da variância (ANOVA) e quando necessário o teste Tukey. Para a correlação dos parâmetros físicos e químicos foram utilizados a análise de componente principal (do inglês *Principal Component Analysis* – PCA).

As análises físicas, químicas e microbiológicas do experimento em microcosmos foram realizadas em triplicata analítica. No entanto algumas amostras foram analisadas em duplicatas. Para determinar se as amostras eram homogêneas foram calculados a média aritmética e o desvio padrão. Para avaliar a dispersão amostral entre os ensaios foi calculado o coeficiente de variação, sendo considerado como critério de dispersão máxima de dados 20% (OLIVEIRA, 2017).

Para correlacionar os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos foi utilizado o coeficiente de Pearson. A Tabela 4.4 apresenta a interpretação da correlação de Pearson Segundo Hinkle, Wiersma e Jurs (2003) citados por Mukaka (2012).

Tabela 4.4. Interpretação dos valores da correlação de Pearson.

<b>Correlação</b>	<b>Interpretação</b>
0.90 a 1.00 ou (-0.90 a 1.00)	correlação muito forte
0.7 a 0.9 ou (-0.70 a -0.90)	correlação forte
0.5 a 0.7 ou (-0.50 a -0.70)	correlação moderada
0.3 a 0.5 ou (-0.30 a -0.50)	correlação fraca
0 a 0.3 ou (0.00 a -0.30)	correlação desprezível

Adaptado de Mukaka (2012).

Para validação dos resultados dos ensaios em microcosmos, os dados obtidos foram submetidos a uma ANOVA *two way* com repetição seguida do teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

Os perfis de bandas foram analisados utilizando-se o programa *Past* v3.6 (HAMMER et al., 2001). As amostras foram clusterizadas pelo método de UPGMA (*unweighted pair group method using arithmetic average*) utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard.

Na análise multivariada entre os parâmetros físicos, químicos e os valores de UFC foi empregado o método de análise de componentes principais – PCA. A

normalização dos parâmetros foi realizada a partir do escore padronizado (*Z-score*) (MONTGOMERY, RUNGER, 2016; GOTELLI, AARON, 2011). Os dados foram estruturados e analisados utilizando o software estatístico Past v3.6.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Caracterização prévia do solo

Os resultados das análises físicas e químicas obtidas do solo do ponto 10, (Figura 4.1) em diferentes profundidades estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Resultado das análises físico-químicas do ponto 10.

<b>Profundidade (m)</b>	<b>pH</b>	<b>Umidade (%)</b>	<b>Cinzas (%) b.s.</b>	<b>Matéria Orgânica (%) b.s.</b>
0,00 a 1,15	6,62	12,97	97,01	2,99
1,50 a 2,65	4,96	16,55	95,91	4,09
3,00 a 4,15	4,95	17,49	95,11	4,89
4,50 a 5,65	5,35	17,01	97,12	2,88
6,00 a 7,15	5,59	16,53	98,25	1,75
7,50 a 8,65	5,56	19,07	97,94	2,06
9,00 a 10,15	5,49	16,27	96,87	3,13

b.s. - base seca (sem teor de umidade).

O pH deste ponto de análise variou de 4,95 a 6,62. De acordo com a escala de Pratolongo, a amostra da superfície (0 – 1,15 m) foi classificada como neutra, e as demais como ácidas. Foi observado que nas amostras entre 1,50 e 4,15 metros de profundidade houve uma acidificação maior em relação à superfície, nessa profundidade também foi observado um aumento de matéria orgânica presente. Segundo Brady e Weil (2013), o acúmulo de matéria orgânica no solo pode aumentar a acidez, pois pode ocorrer a formação de complexos solúveis com cátions não ácidos

facilitando sua perda por lixiviação. A matéria orgânica pode conter grupos funcionais ácidos dos quais os íons  $H^+$  podem se dissociar e acidificar o meio. Esta acidificação também pode estar associada à incorporação de calcário no solo, que pode provocar um aumento na acidez em horizontes subsuperficiais abaixo desta incorporação. Como não há informações exatas das atividades desenvolvidas anteriormente na área de estudo, muitos podem ser os fatores responsáveis por estas diferenças encontradas nas diferentes profundidades do solo.

Foi observado que o teor de umidade e a quantidade de matéria inorgânica (representada pelo teor de cinzas) não se distribuem uniformemente ao longo das profundidades de perfuração. Analisando a porcentagem representativa de ambos, o solo amostrado pode ser considerado como mineral como a grande maioria dos solos. A diferença no teor de umidade na superfície em relação às demais profundidades possivelmente está associada ao dia de coleta estar ensolarado, mas nos dias anteriores tinha tido alguns períodos com chuvas. A Tabela 5.2 exibe a classificação granulométrica do ponto 10.

Tabela 5.2. Classificação das frações granulométricas do solo do ponto 10.

Peneira ASTM		Composição Granulométrica			
	Diâmetro (mm)	Peso Retido (g)	% Retida	% Retida Acumulada	Classificação
<b>6</b>	3,350	86,80	28,00	28,00	Cascalho
<b>9</b>	2,000	58,56	18,89	46,90	Areia Grossa
<b>12</b>	1,400	39,90	12,87	59,77	Areia Grossa
<b>16</b>	1,000	36,56	11,80	71,57	Areia Grossa
<b>24</b>	0,710	26,73	8,62	80,19	Areia Grossa
<b>32</b>	0,500	16,00	5,16	85,35	Areia Grossa
<b>42</b>	0,355	16,56	5,34	90,70	Areia Grossa
<b>60</b>	0,250	10,96	3,54	94,23	Areia Grossa
-	Panela	17,88	5,77	100,00	Areia Grossa
-	Total	309,95	100,00	100,00	-

De acordo com os resultados obtidos o tipo de solo corrobora o trabalho de Melo et al. (2017) que caracteriza este local como uma área representada por um manto de mudança de granito de enxofre composto predominantemente por uma lama

arenosa seguida por um material mais grosseiro (areia lamosa) com variações na quantidade de cascalho que ocorre em ambas as camadas.

### 5.1.1. Contagem microbiana no perfil de solo

A partir deste estudo foi observado que a comunidade microbiana do solo cresce de forma distinta para cada ponto e após sete dias não há mais crescimento microbiano. A Tabela 5.3 exibe a contagem de unidades formadoras de colônias dos pontos 8, 9 e 10 em diferentes profundidades após 7 dias.

Tabela 5.3. Análise microbiológica de UFC dos pontos de amostragem 8, 9 e 10 em abril de 2015 em diferentes profundidades após 144h.

Ponto	Profundidade (m)	Contagem Microbiológica (UFC.mL <sup>-1</sup> )
8	0-1,15m (superfície)	4,84E+05
	3-4,15m (intermediária)	2,60E+05
	4,5-5,65m (junto à rocha mãe)	7,93E+05
9	0-1,15m (superfície)	1,37E+05
	4,5-5,65m (intermediária)	6,45E+04
	10,5-11,5m (junto à rocha mãe)	8,15E+04
10	0-1,15m (superfície)	5,29E+04
	4,5-5,65m (intermediária)	9,35E+04
	9,0-10,15m (junto à rocha mãe)	6,52E+04

No ponto 8 a maior abundância de colônias foi encontrada próximo à rocha mãe (4,5 à 5,65 metros de profundidade). No ponto 9 a maior número de UFC foi encontrado no solo superficial (até 1,15 metros de profundidade) e no ponto 10 o maior número de UFC foi encontrado na profundidade intermediária do ponto (4,5 à 5,65 metros de profundidade). Os pontos apesar de estarem próximos geograficamente, tem características que podem estar associadas as diferenças. O ponto 8 é mais próximo de um banhado, o ponto 9 está localizado próximo a algumas bananeiras e o ponto 10 apesar de bem perto do ponto 8 está mais distante das bananeiras e do banhado, fazendo com que os resultados estejam associados ao grande dinamismo e heterogeneidade do solo desta área. Essas diferenças de resultados também podem

estar associadas ao referido por Madigan et al. (2016) como a grande anomalia da contagem em placa que limita a técnica de contagem em placas para solo e água.

Foi observado que ocorre um aumento no número de colônias com o tempo. O maior crescimento é verificado após 72 horas de incubação. Depois deste tempo, o crescimento desacelera e após 7 dias não é percebido nenhum aumento na comunidade microbiana. Estes resultados podem indicar que diferentes populações microbianas podem estar presentes nestas amostras, visto que o tempo de geração para que cada microorganismo se desenvolva é diferente para cada espécie (SALVATIERRA, 2014). O detalhamento destes resultados está apresentado na Tabela A.1 do Apêndice A desta tese.

Para ilustrar o método de UFC empregado, a Figura 5.1 mostra as colônias de microrganismos obtidos da amostra da superfície do ponto 9 após diluição seriada até  $10^{-4}$  após 144 horas de incubação.

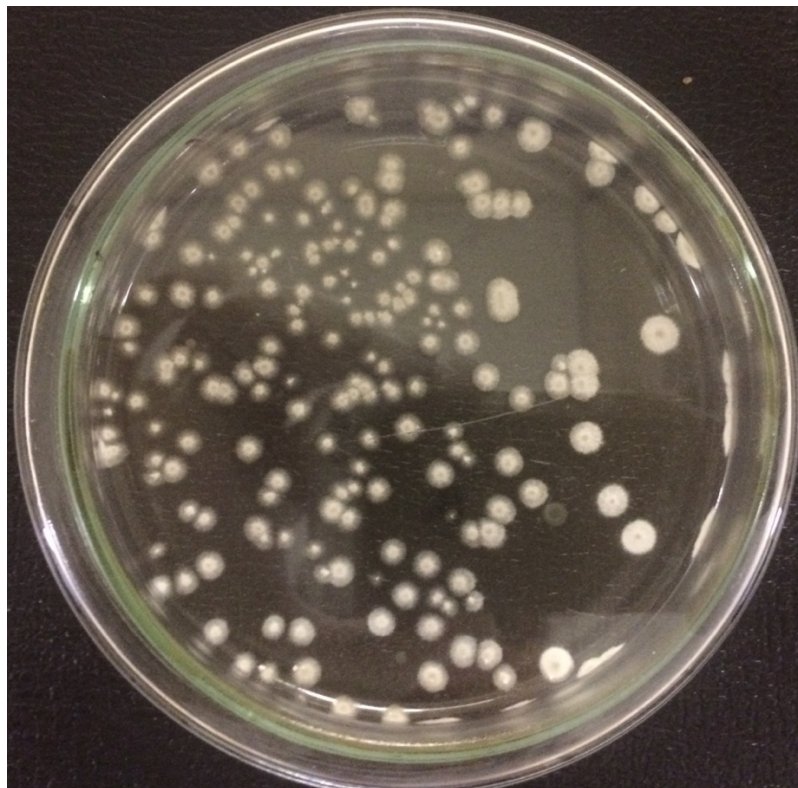


Figura 5.1. Colônias de microrganismos da superfície do ponto 9 obtida pelo método UFC na diluição seriada  $10^{-4}$ .



## 5.2. Projeto do sistema de microcosmos

De acordo com os estudos realizados e apresentados no item 4.2.1, contando com a disponibilidade de material, as colunas foram confeccionadas com PVC com as seguintes dimensões: 15 cm de diâmetro externo, 14,2 cm de diâmetro interno e 50 cm de altura. Esta relação de altura e diâmetro proporciona uma boa relação de dispersividade no solo segundo Bromly, Hinz e Aylmore (2007). Para o fechamento da coluna foram utilizados dois *caps* (tampas de PVC), inferior e superior, onde foram instaladas entradas e saídas para o fluxo de ar e água.

As colunas foram projetadas de forma distinta para solos saturados e insaturados. Em ambos os casos o fluxo de gás é ascendente. Na coluna para o solo insaturado foi instalada na base uma entrada para o gás e, no topo, uma saída. Foi utilizado um difusor de fluxo de gás (com 14,2 cm de diâmetro e com ranhuras para a dispersão do gás do centro até 8 cm de diâmetro), e papel filtro quantitativo (11 cm de diâmetro e com poros de 8  $\mu\text{m}$ ), para garantir o correto escoamento e evitar caminhos preferenciais. As colunas foram seladas e vedadas com anéis de vedação (*O-rings*) entre os *caps* e o tubo. A Figura 5.2 apresenta um esquema da coluna para solo insaturado e um detalhamento da vista superior do difusor de CO<sub>2</sub>. As colunas, os difusores de gás e os dispersores foram desenvolvidos no Laboratório de Fabricação (Usinagem e Protótipos – LABFAB) da Escola Politécnica.

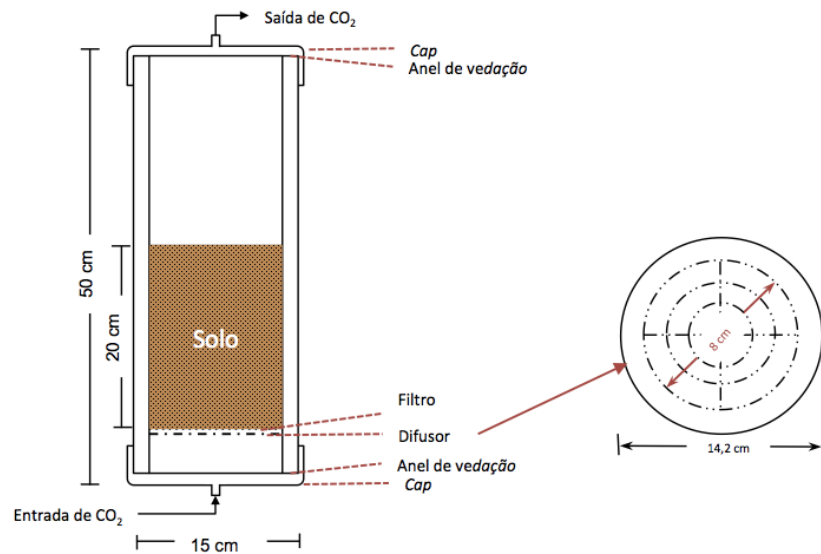


Figura 5.2. Representação esquemática da coluna para solo insaturado com o detalhamento da vista superior do difusor de gás.

A coluna para solo saturado (ou encharcado) além do ter as mesmas dimensões e características da coluna para solo insaturado, possui uma entrada e um aspersor para a distribuição homogênea de água no topo da coluna e uma purga na parte inferior.

De acordo com os ensaios de porosidade, o solo apresentou porosidade média de 35,8% o que representa um volume de vazios médio de 1133 mL. Esse volume corresponde à quantidade de água necessária para saturar por completo o solo da coluna. No entanto, de acordo com os testes experimentais após 300 mL o solo começou a liberar água continuamente. Desta forma, foi adotado para os ensaios com solo encharcado, o preenchimento da coluna foi realizado a partir do aspersor com 600 mL de água. O solo foi encharcado antes do teste e a saturação foi mantida durante o teste a partir da reposição de 60 mL de água diariamente. A Figura 5.3 mostra um esquema da coluna para solo saturado.

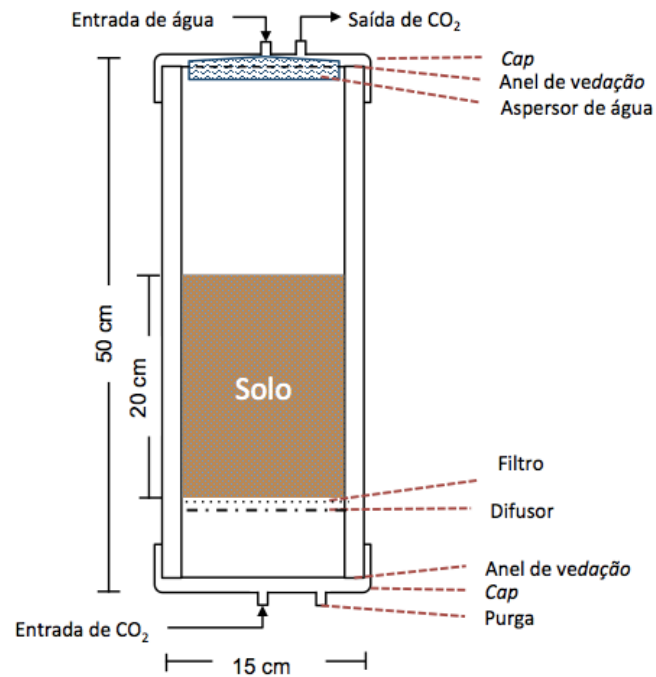


Figura 5.3. Representação esquemática da coluna para solo saturado.

A Figura 5.4 exibe a montagem do experimento em solo insaturado (a) e saturado (b) que foram realizados nas mesmas condições, mas com o solo saturado.



1 - Fluxômetro de CO<sub>2</sub>; 2 - Coluna sem injeção de CO<sub>2</sub>; 3 - Dispensor de CO<sub>2</sub>; 4 - Borbulhamento de CO<sub>2</sub>

(a) Ensaio com solo insaturado.

(b) Ensaio com solo saturado.

Figura 5.4. Foto do sistema de injeção de CO<sub>2</sub> em solo insaturado (a) e saturado (b).

### 5.3. Análises físicas, químicas e microbiológicas

Para a discussão dos resultados este item foi dividido em análises físicas, químicas e microbiológicas realizadas nos pontos de coleta (amostragem do solo *in situ* em diferentes datas de coleta), nos ensaios em microcosmos com solo insaturado e com solo saturado. A análise de RISA dos pontos e dos ensaios também foi apresentada separadamente das demais análises.

#### 5.3.1. Pontos 8, 9 e 10 – análises *in situ*

A Tabela 5.4 exibe os resultados das análises de pH, condutividade, potencial de oxirredução (Redox), teor de umidade (H), teor de matéria orgânica (M.O.), teor de cinzas (T.C) juntamente com o erro padrão e o teste de Tukey e a contagem microbiológica a partir das unidades formadoras de colônias (UFC) de amostras superficiais do solo em diferentes épocas conforme codificado no Quadro 4.4. O Apêndice B exibe a análise da variância e a matriz binária realizada para o teste Tukey para os pontos 8, 9 e 10 dos parâmetros de pH, Condutividade, Redox, H, M.O. e T.C.

Tabela 5.4. Análises físicas, químicas e microbiológicas com erro padrão e teste Tukey da superfície dos pontos de amostragem 8, 9 e 10 em diferentes épocas de coleta.

PONTO	pH	Condutividade (mS.cm <sup>-1</sup> )	Redox (mV)	H (%)	M.O. (%) <sub>b.s.</sub>	T.C (%) <sub>b.s.</sub>	UFC (UFC.mL <sup>-1</sup> )
8A	6,77 <sup>abcde</sup> ± 0,09	0,460 <sup>a</sup> ± 0,000	533,7 <sup>abcdef</sup> ± 12,2	*	*	*	4,80E+05
8C	6,32 <sup>cdefgh</sup> ± 0,35	0,487 <sup>a</sup> ± 0,029	517,7 <sup>abcd</sup> ± 72,3	17,42 <sup>bcd</sup> ± 2,75	3,99 ± 2,63	96,01 ± 0,59	6,30E+05
8D	6,59 <sup>abcdef</sup> ± 0,19	0,248 <sup>bc</sup> ± 0,042	518,3 <sup>abcd</sup> ± 59,6	17,76 <sup>bc</sup> ± 1,33	3,92 ± 0,74	96,08 ± 0,79	6,10E+05
8E	6,83 <sup>abcd</sup> ± 0,24	0,089 <sup>cd</sup> ± 0,012	492,6 <sup>abc</sup> ± 10,8	17,27 <sup>a</sup> ± 1,87	3,69 ± 0,94	96,31 ± 0,94	1,30E+06
9A	6,83 <sup>abcd</sup> ± 0,05	0,477 <sup>a</sup> ± 0,029	510,1 <sup>abcdef</sup> ± 36,9	*	*	*	1,40E+05
9C	6,36 <sup>cdefgh</sup> ± 0,19	0,460 <sup>ac</sup> ± 0,050	542,3 <sup>bcdef</sup> ± 17,0	8,92 <sup>g</sup> ± 1,32	4,29 ± 1,06	95,71 ± 1,06	1,00E+06
9D	6,33 <sup>cdefgh</sup> ± 0,56	0,218 <sup>a</sup> ± 0,046	528,0 <sup>abcdef</sup> ± 6,5	11,86 <sup>ef</sup> ± 1,10	4,10 ± 2,25	95,90 ± 2,25	2,00E+05
9E	6,12 <sup>fh</sup> ± 0,10	0,080 <sup>a</sup> ± 0,025	570,6 <sup>cdf</sup> ± 17,8	17,27 <sup>bc</sup> ± 4,31	4,00 ± 0,49	96,00 ± 0,49	1,90E+05
10A	6,62 <sup>abcdef</sup> ± 0,00	*	*	12,97 <sup>h</sup> ± 9,02	*	*	5,30E+04
10C	6,35 <sup>cdefgh</sup> ± 0,35	0,213 <sup>bcd</sup> ± 0,273	540,4 <sup>abcdef</sup> ± 35,0	13,79 <sup>def</sup> ± 1,00	4,10 ± 0,98	95,90 ± 0,98	3,10E+05
10D	6,52 <sup>bcdefg</sup> ± 0,09	0,132 <sup>bc</sup> ± 0,010	533,2 <sup>abcdef</sup> ± 20,3	20,80 <sup>a</sup> ± 0,57	3,72 ± 0,96	96,30 ± 0,96	1,40E+06
10E	6,27 <sup>cefg</sup> ± 0,10	0,173 <sup>bcd</sup> ± 0,014	564,1 <sup>cde</sup> ± 32,7	14,64 <sup>cde</sup> ± 0,86	3,51 ± 5,18	96,49 ± 5,18	2,00E+06

\* Não analisado.

Identificação dos pontos realizada conforme Quadro 4.4 (número do ponto mais legenda da coleta: A – abr/15, C – ago/16, D – out/16 e E – jan/16)..

Médias na mesma coluna com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

M.O. e TC não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey com significância de 5%.

O pH das amostras de solo do ponto 8 em diferentes épocas de coleta (Quadro 4.4) variou entre 6,32 e 6,7. A partir da ANOVA e do teste Tukey (apresentados na Tabela B.1 e Quadro B.1 do Apêndice B) foi verificada diferenças significativas (5 %) apenas entre as amostras 8A (abr/15) e 8C (ago/16) e entre as amostras 8C e 8D (out/16). O pH das amostras do ponto 9 em diferentes coletas variou entre 6,12 e 6,83. A partir da ANOVA e o teste Tukey foi verificada diferenças significativas entre a amostra 9A em relação as demais 9C, 9D e 9E. Já o pH das amostras do ponto 10 em diferentes épocas de coleta variou entre 6,27 e 6,62 não havendo diferenças significativas entre as coletas em diferentes tempos. Apesar das diferenças observadas o solo se manteve de acordo com a escala de Pratolongo entre sub-ácido e neutro dentro de uma variação normal para um solo classificado como mineral como já discutido no item 4.1.

Em relação à condutividade no ponto 8 ela variou entre 0,089  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  e 0,460. No ponto 9 a variação da condutividade foi de 0,080  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  a 0,477  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . No ponto 10 a variação foi de 0,173  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  a 0,213  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Em todos os pontos amostrados em abril de 2015 (8A, 9A e 10A) o valor da condutividade foi menor que as demais coletas. A Tabela B.2 e o Quadro B.2 do Apêndice B apresentam o resumo estatístico da Anova e a matriz binária do teste Tukey para a condutividade dos pontos 8, 9 e 10. Observam-se diferenças significativas entre as amostras 8C e 10C, 8D e 9D, 9D e 20D e entre todas as amostras da coleta realizada em janeiro de 2017 (8E, 9E e 10E). No entanto, apesar das diferenças observadas na análise estatística a condutividade do solo não foi alterada de maneira que houvesse uma mudança em sua salinidade ou umidade. Essas diferenças observadas estão associadas à própria diversidade e heterogeneidade do solo.

O potencial de oxirredução das amostras de solo do ponto 8 nas diferentes amostragens variou de 492,6 mV até 533,7 mV. No ponto 9 a variação foi de 528,0 mV a 570,6 mV. E no ponto 10 foi de 533,2 a 564,1 mV. A partir da análise da variância (Tabela B.3 e Quadro B.3 do Apêndice B) não foi observada diferenças significativas entre os valores das amostras no mesmo tempo de ensaio da coleta realizada em abril de 2015 (8A, 9A e 10 A), agosto de 2016 (8C, 9C e 10C) e outubro de 2016 (8D, 9D e 10D). Somente a coleta realizada em janeiro de 2017 (8E, 9E e 10E) apresentou

diferenças significativas entre as amostras, no entanto, esta pouca diferença não é conclusiva para afirmar que o CO<sub>2</sub> influencia na mudança deste parâmetro, visto que quando comparada a amostra do mesmo ponto em diferentes épocas de coleta (8A, 8C, 8D e 8E por exemplo) não há diferenças significativas entre elas. Desta análise pode-se observar que o solo do laboratório de campo se manteve nas mesmas condições de aeração durante as amostragens no período de coleta (abril 2015 – outubro 2017).

Em relação ao teor de umidade ao longo das amostragens era esperado uma mudança visto as coletas serem realizadas em diferentes períodos durante aproximadamente 2 anos. Além disso, a própria posição geográfica dos pontos no campo são diferentes e por isso sofrem influências distintas do relevo e do dinamismo do solo. Nas amostras do ponto 8 houve pouca variação no teor de umidade (17,27% até 17,76%). No ponto 9 o teor de umidade variou de 8,92% e 12,27% e no ponto 10 o teor de umidade variou de 12,97 a 20,80%. O resumo estatístico da Anova e a matriz binária do teste Tukey do teor de umidade para os pontos 8, 9 e 10 está apresentada na Tabela B.4 e no Quadro B.4 do Apêndice B.

O teor de matéria orgânica e o teor de matéria mineral (apresentados como teor de cinzas) estão diretamente associados. Para o ponto 8 o teor de matéria orgânica em relação às diferentes amostragens, variou de 3,69% a 3,99%. No ponto 9 a variação foi de 4,00% a 4,29% e no ponto 10 foi de 3,51% a 4,10%. O que mostra que o teor de matéria orgânica na superfície do solo do laboratório de campo é em média 4% e o teor de matéria mineral é de 96%, valor que está de acordo com as maiorias das literaturas que diz que o solo tem em sua composição volumétrica em média 5% de matéria orgânica e que a grande maioria desta se localiza na camada superficial. De acordo com o tratamento de dados realizado não foi observado diferenças significativas (mais de 5%) entre as amostras e seus diferentes tempo de amostragem (Tabela B.5 do Apêndice B).

Em relação à quantidade de microrganismos a partir das UFC, observa-se uma variabilidade muito grande para todos os pontos em todas as épocas de coleta. Não sendo possível estabelecer uma relação em função do tempo ou da amostra já que

existem diversos fatores que influem nas diferentes formas de crescimento microbiano no solo.

O Quadro 5.1 exibe o coeficiente de Pearson calculado para a correlação entre os diferentes parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. Analisando as correlações obtidas utilizando os critérios baseados em Hinkle, Wiersma e Jurs (2003) apresentados por Mukaka (2012), (Tabela 4.4) os parâmetros pH e o potencial de oxirredução possuem uma boa correlação negativa (0,85) entre si, mas uma baixa correlação com os demais parâmetros. Essa boa correlação entre o pH e o redox está associada aos diferentes estados de oxidação que se alteram, mudando os íons  $H^+$  e consequentemente modificando o pH.

Quadro 5.1. Correlação de Pearson dos pontos 8, 9 e 10 entre os parâmetros de pH, Redox, H, MO, Tc e UFC.

	pH	Condutividade	Redox	Umidade	M.O.	Cinzas	UFC
pH		-0,1951	-0,8511	0,3165	-0,3323	0,3348	0,3257
Condutividade			-0,1370	-0,4453	0,5598	-0,5619	-0,1213
Redox				-0,2159	0,0484	-0,0484	0,0014
Umidade					-0,6055	0,6150	0,1535
M.O.						-0,9997	-0,7416
Cinzas							0,7441
UFC							

A condutividade não teve uma boa correlação com os demais parâmetros apresentando uma correlação média apenas com a matéria orgânica e o teor de cinzas. O teor de umidade também não teve uma boa correlação com os demais parâmetros. A melhor correlação obtida foi com o teor de matéria orgânica e teor de cinzas (correlação igual a 0,61). A matéria orgânica presente no solo pode aumentar a capacidade de retenção de água, no entanto essa relação entre a matéria orgânica e o teor de umidade não foi observado a partir das análises o que corrobora essa correlação média entre os parâmetros.

Por serem inversamente (Equação 4.3) relacionadas a matéria orgânica e o teor de cinzas, a correlação se aproxima a 1. O método utilizado para a determinação



de matéria orgânica adotado é por diferença (em base seca), então esta alta correlação já era esperada.

A partir dos resultados das análises, bem como da correlação obtida verifica-se que os parâmetros escolhidos não apresentaram uma boa relação de controle do solo *in situ* no período de amostragem. Este estudo confirma que o solo é uma matriz complexa e que necessita de controle mais específicos para se obter uma relação. Conforme descrito na metodologia (Seção 4.1.1), as coletas foram realizadas antes, durante e depois da injeção de CO<sub>2</sub>, e nenhuma mudança significativa foi observada em relação a esta possível influência.

### 5.3.2. Ensaio em microcosmos

A Tabela 5.5. exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para as análises de pH do solo insaturado. A Tabela C.1 e o Quadro C.1 do Apêndice C exibem os cálculos para a Anova e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o pH do solo insaturado.

Tabela 5.5. Análise de pH para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	pH*		Desvio Padrão	C.V
ZERO	7,02 <sup>ab</sup>	± 0,65	0,262	0,037
B1 - 4d	5,79 <sup>defgh</sup>	± 0,83	0,092	0,016
C1 - 4d	6,26 <sup>bcdefg</sup>	± 0,19	0,021	0,003
C2 - 4d	6,12 <sup>bcdefgh</sup>	± 1,59	0,177	0,029
C3 - 4d	5,68 <sup>efgh</sup>	± 1,46	0,163	0,029
B1 - 80d	6,58 <sup>abcde</sup>	± 0,32	0,130	0,020
C1 - 80d	6,84 <sup>ab</sup>	± 0,16	0,064	0,009
C2 - 80d	6,77 <sup>ab</sup>	± 0,16	0,064	0,009
C3 - 80d	6,57 <sup>abcde</sup>	± 0,05	0,020	0,003
B1 - 160d	6,06 <sup>cdefgh</sup>	± 0,18	0,072	0,012
C1 - 160d	6,20 <sup>bcdefg</sup>	± 0,1	0,040	0,006
C2 - 160d	6,29 <sup>bcdef</sup>	± 0,33	0,134	0,021
C3 - 160d	6,18 <sup>bcdefg</sup>	± 0,15	0,059	0,009

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

Analisando a os dados da Tabela 5.5, pode-se observar que o maior valor de pH é o da amostra ZERO (pH = 7,02), que corresponde ao tempo inicial de ensaio. O valor de pH mais baixo observado foi de 5,68 na coluna C3 no quarto dia de ensaio (C3 – 4d). De acordo com a escala de Pralong (apresentada na Tabela 4.3) o pH passa de neutro para subácido. Esta mudança foi observada em todas as colunas em relação ao tempo de ensaio. O pH das amostras reduziu após os 4 dias de percolação de CO<sub>2</sub>.

Esse comportamento é o esperado nas colunas onde houve o contato do gás com o solo, pois o CO<sub>2</sub> em contato com o solo e com a água se dissocia liberando íons H<sup>+</sup> que acidificam o solo. O CO<sub>2</sub> inicialmente se dissolve (Equação 5.1), reagindo com a água e formando ácido carbônico (Equação 5.2) que se dissocia no equilíbrio do sistema carbonático (Equações 5.3 e 5.4).



No entanto, esta acidificação também foi observada na coluna B1 (sem percolação de CO<sub>2</sub>). Após 80 dias de incubação, o pH das amostras de todas as colunas aumenta em relação aos 4 dias de ensaio e em 160 dias reduziram novamente, mas se mantiveram mais altos que nos primeiros 4 dias.

A partir da análise das variâncias e do teste Tukey, as amostras correspondentes ao dia 4 de ensaio e após 160 dias de incubação apresentam

diferenças significativas em relação a amostra do início do ensaio (ZERO). Analisando a influência do tempo nas amostras das colunas (B1, C1, C2 e C3) nos, 4, 80 e 160 dias, foi observado que as amostras das colunas não apresentam diferenças significativas entre elas e no mesmo tempo de amostragem. A única diferença observada foi entre as colunas C1 – 4d e C3 – 4d, no entanto o dms calculado foi de 0,58 e o tabelado 0,52. Apesar de haver diferença ela é pequena. Estes resultados apontam que a percolação de CO<sub>2</sub> no sistema não influencia a mudança do comportamento do pH das amostras.

Observando a mudança de pH em relação ao tempo de ensaio, na coluna sem percolação de CO<sub>2</sub> (B1) o pH da amostra correspondente ao dia 4 de ensaio é 5,76, aumenta para 6,58 nos 80 dias de incubação e reduz para 6,06 aos 160 dias de incubação. A partir da análise das variâncias e do teste Tukey, esse aumento de pH nos 80 dias é significativo em relação as amostras do quarto e dos 160 dias. Essas análises realizadas nas colunas também mostraram diferenças significativas entre as amostras de 80 dias e 4 e 160 dias. Essas observações indicam que com o passar do há mudança no pH.

A Tabela 5.6 exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para as análises de pH do solo saturado. A Tabela D.1 e o Quadro D.1 do Apêndice D exibem os cálculos para a Anova e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o pH do solo saturado.

Tabela 5.6. Análise de pH para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	pH*		Desvio Padrão	C.V	
ZERO	7,02 <sup>abc</sup>	±	0,65	0,262	0,037
B2 - 4d	6,64 <sup>abcde</sup>	±	0,06	0,007	0,001
C4 - 4d	6,51 <sup>bcde</sup>	±	1,46	0,163	0,025
C5 - 4d	6,76 <sup>abcde</sup>	±	0,44	0,049	0,007
C6 - 4d	6,68 <sup>abcde</sup>	±	0,25	0,028	0,004
B2 - 80d	6,54 <sup>bcde</sup>	±	0,09	0,036	0,006
C4 - 80d	6,87 <sup>abcd</sup>	±	0,33	0,132	0,019
C5 - 80d	6,86 <sup>abcd</sup>	±	0,29	0,117	0,017
C6 - 80d	6,74 <sup>abcde</sup>	±	0,19	0,076	0,011
B2 - 160d	6,40 <sup>cde</sup>	±	6,37	0,012	0,002
C4 - 160d	6,48 <sup>cde</sup>	±	0,2	0,082	0,013
C5 - 160d	6,62 <sup>abcde</sup>	±	0,07	0,029	0,004
C6 - 160d	6,37 <sup>cde</sup>	±	0,27	0,110	0,017

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

A partir da análise dos resultados observa-se que o valor mais alto de pH é da amostra antes do ensaio ZERO (7,02) e o valor mais baixo é de 6,37 correspondente a coluna C6 - 160d. De acordo com a escala de Pratolongo (Tabela 4.3), o solo utilizado no ensaio se manteve como subácido e neutro. Valores que estão de acordo com o esperado, segundo Camargo, Santos e Zonta (1999) o pH da maioria dos solos encharcados tende a neutralidade atingindo um equilíbrio em torno de 6,5 e 7,5.

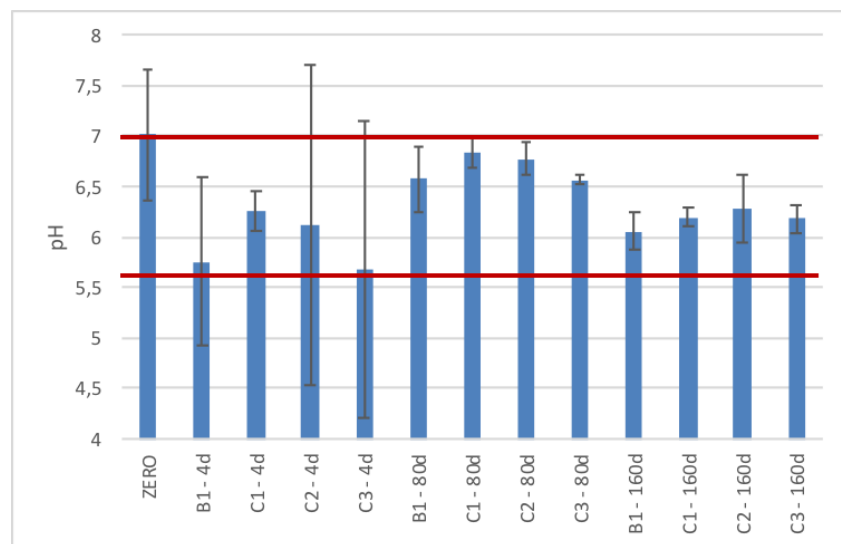
O pH das amostras das colunas C4, C5 e C6, em relação as amostragens de 4 dias de ensaio (C4 – 4d, C5 – 4d e C6 – 4d), aumentou aos 80 dias e reduziu aos 160

dias de incubação. Já a amostra da coluna B2 aos 4 dias de ensaio (B2 – 4d) apresentou uma redução no pH aos 80 dias e aos 160 dias.

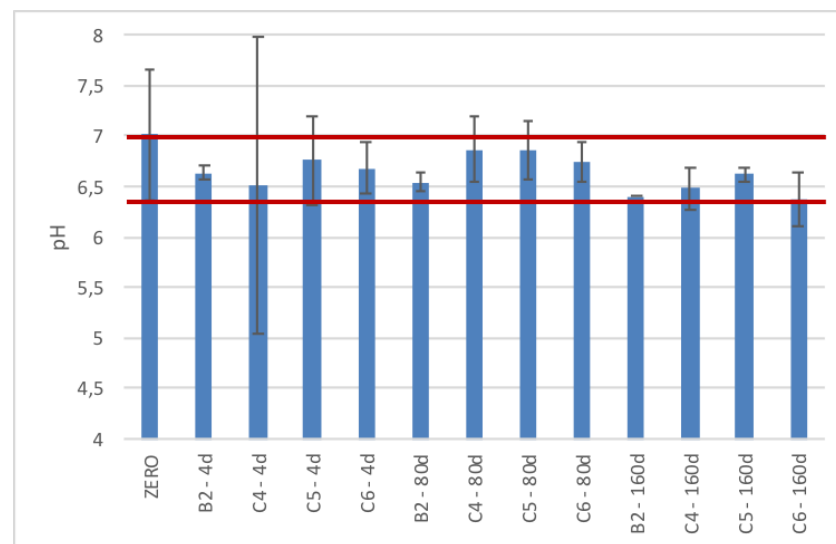
Analisando as diferentes colunas (B2, C4, C5 e C6) em relação ao tempo de amostragem (4, 80 e 160 dias), a partir da análise de variância e teste de Tukey elas não apresentam diferenças significativas entre si. A amostra do início do ensaio (ZERO) é uma amostra insaturada que apresentou diferenças significativas em relação a coluna C4 na amostragem de 4 e 160 dias (C4 – 4d e C4 – 160d), e com a amostra da coluna B2 em 80 e 160 dias de amostragem (B2 -80d e B2 – 160d), e com a coluna C6 em 160 dias de amostragem (C6 -160).

Essa redução no valor do pH aos 160 dias poderia estar associada a diferença de saturação ao longo do tempo. No entanto, de acordo com a ANOVA e o teste Tukey a única diferença significativa observada foi entre a amostra C4 – 80d e C4 – 160d.

A Figura 5.5 exibe o valor do pH para o ensaio com solo insaturado (a) bem como para o solo saturado (b). Observa-se que pH varia um pouco mais no solo insaturado (na faixa de 5,5 -7,0) do que no saturado (na faixa de 6,3 – 7,0), no entanto não é uma diferença que mude a classificação do pH pela escala de Prato Longo.



(a) Solo insaturado



(b) Solo saturado

Figura 5.5. pH das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos.

A Tabela 5.7 exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para as análises de condutividade do solo insaturado. A Tabela C.2 e o Quadro C.2 do Apêndice C exibem os cálculos para a ANOVA e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para a condutividade do solo insaturado.

Tabela 5.7. Análise da Condutividade para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	Condutividade (mS.cm <sup>-1</sup> )*			Desvio Padrão	C.V
ZERO	0,21 <sup>c</sup>	±	0,18	0,072	0,334
B1 - 4d	0,16 <sup>c</sup>	±	0,06	0,007	0,046
C1 - 4d	0,08 <sup>c</sup>	±	0,06	0,007	0,094
C2 - 4d	0,08 <sup>c</sup>	±	0,00	0,000	0,000
C3 - 4d	0,10 <sup>c</sup>	±	0,00	0,000	0,000
B1 - 80d	0,16 <sup>c</sup>	±	0,02	0,008	0,048
C1 - 80d	0,11 <sup>c</sup>	±	0,02	0,009	0,079
C2 - 80d	0,12 <sup>c</sup>	±	0,03	0,011	0,090
C3 - 80d	0,14 <sup>c</sup>	±	0,03	0,013	0,094
B1 - 160d	0,60 <sup>a</sup>	±	0,03	0,013	0,022
C1 - 160d	0,47 <sup>b</sup>	±	0,04	0,017	0,036
C2 - 160d	0,37 <sup>b</sup>	±	0,14	0,055	0,150
C3 - 160d	0,44 <sup>b</sup>	±	0,09	0,034	0,079

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

A partir dos dados apresentados na Tabela 5.7 observa-se que a condutividade inicial do ensaio é de 0,21 mS.cm<sup>-1</sup>. Após quatro dias de ensaio a condutividade das amostras das colunas teve uma leve redução para as amostras das colunas de solo (B1 = 0,16 mS.cm<sup>-1</sup>, C1 e C2 = 0,08 mS.cm<sup>-1</sup> e C3 igual a 0,10 mS.cm<sup>-1</sup>). Em 80 dias de incubação, a condutividade da amostra da coluna B1 permanece a mesma que em 4 dias. Já as colunas C1, C2 e C3 tiveram um leve aumento no valor da condutividade em 80 dias (C1 = 0,11 mS.cm<sup>-1</sup>, C2= 0,12 mS.cm<sup>-1</sup> e C3 =0,14 mS.cm<sup>-1</sup>). Todas as amostras das colunas no tempo de 160 dias tiveram um aumento no valor da condutividade (B1 = mS.cm<sup>-1</sup>, C1 = 0,47 mS.cm<sup>-1</sup>, C2= 0,37 mS.cm<sup>-1</sup> e C3 = 0,44 mS.cm<sup>-1</sup>) em relação aos 80 dias de incubação. Esse aumento na condutividade

elétrica em relação ao tempo de ensaio pode indicar um aumento de sais dissolvidos no solo com o passar do tempo. Os sais podem se dissociar em cátions e ânions aumentando a habilidade de conduzir corrente elétrica. A análise de variância mostrou que havia uma diferença entre os tempos, no entanto a partir do teste Tukey com significância de 5% não foi observado diferenças significativas entre as amostras no tempo de 4 dias (B1 - 4d, C1 - 4d, C2 - 4d e C3 - 4d) e 80 dias (B1- 4d, C1 - 4d, C2 - 4d e C3 - 4d). No entanto, em 160 dias a amostra B1 apresentou diferenças significativas com as demais colunas (C1 - 160d, C2 - 160d e C3 - 160d). O erro padrão apresentado na amostra ZERO foi elevado devido à diferença entre os valores entre as replicatas.

A Tabela 5.8 exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para as análises de condutividade do solo saturado. A Tabela D.2 e o Quadro D.2 do Apêndice D exibem os cálculos para a ANOVA e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para a condutividade do solo saturado.

Tabela 5.8. Análise da Condutividade para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	Condutividade (mS.cm <sup>-1</sup> )*		Desvio Padrão	C.V	
ZERO	0,210 <sup>defgh</sup>	±	0,180	0,072	0,334
B2 - 4d	0,494 <sup>abcd</sup>	±	0,654	0,073	0,147
C4 - 4d	0,030 <sup>ghi</sup>	±	0,130	0,014	0,471
C5 - 4d	0,020 <sup>ghi</sup>	±	0,000	0,000	0,000
C6 - 4d	0,020 <sup>ghi</sup>	±	0,000	0,000	0,000
B2 - 80d	0,110 <sup>fghi</sup>	±	0,060	0,026	0,239
C4 - 80d	0,110 <sup>fghi</sup>	±	0,040	0,016	0,149
C5 - 80d	0,160 <sup>efghi</sup>	±	0,190	0,077	0,483
C6 - 80d	0,110 <sup>fghi</sup>	±	0,010	0,004	0,034
B2 - 160d	0,360 <sup>abcdef</sup>	±	0,070	0,027	0,073
C4 - 160d	0,400 <sup>abcde</sup>	±	0,060	0,025	0,063
C5 - 160d	0,300 <sup>cdefg</sup>	±	0,040	0,015	0,050
C6 - 160d	0,460 <sup>abcd</sup>	±	0,110	0,043	0,095

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

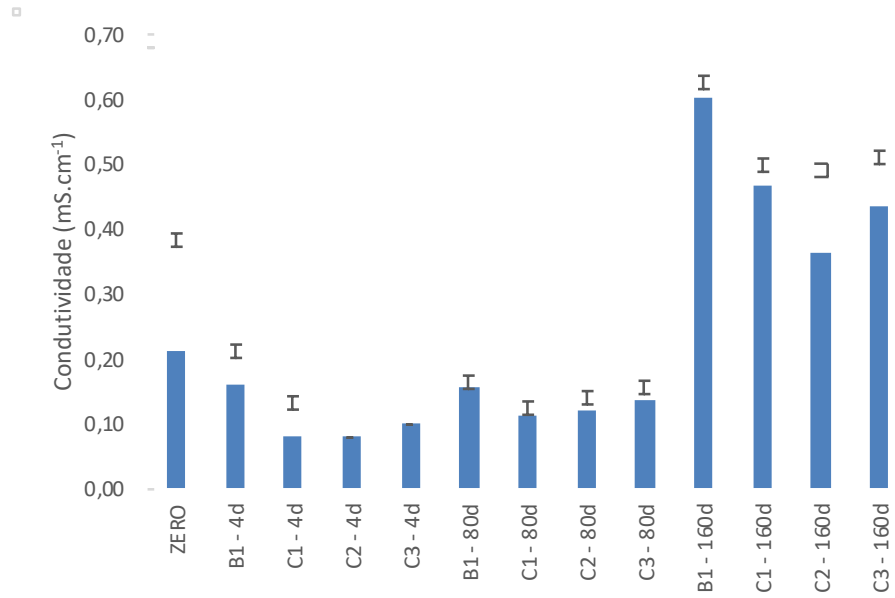
C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.



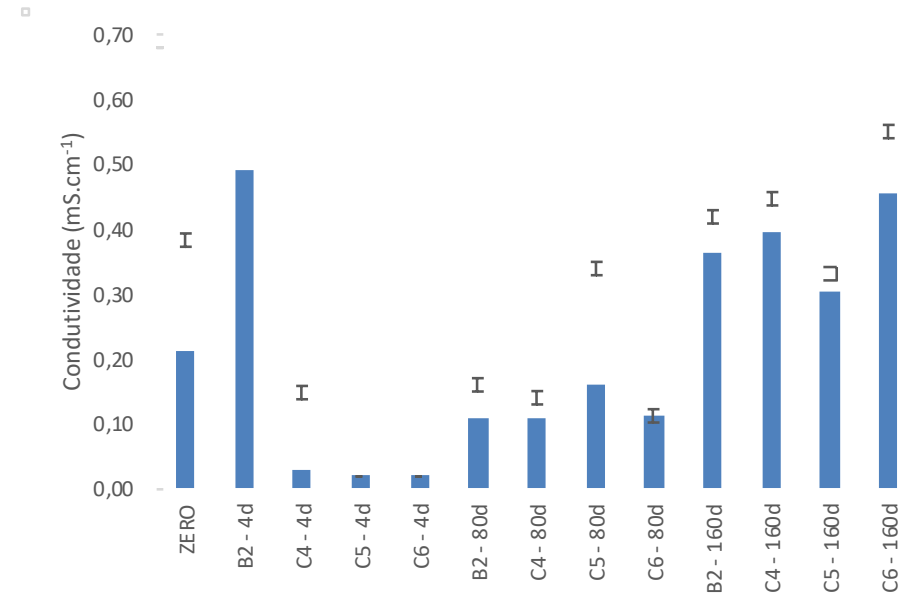
Após 4 dias de ensaio as amostras das colunas C4, C5 e C6 mostraram uma redução na condutividade em relação a amostra ZERO. A amostra da coluna B2 neste mesmo tempo teve um aumento do valor da condutividade ( $0,49 \text{ mS.cm}^{-1}$ ). Em 80 dias de incubação a condutividade das amostras das colunas ficaram próximo a  $0,11 \text{ mS.cm}^{-1}$  e aos 160 dias ficaram aproximadamente a  $0,40 \text{ mS.cm}^{-1}$ . Estes resultados se aproximaram aos resultados obtidos com o solo insaturado.

De acordo com Camargo, Santos e Zonta (1999) para um solo inundado os valores de condutividade após a inundação aumentam atingindo um valor máximo e decrescendo para valores estáveis. À exceção da coluna B2 (4 dias) este comportamento não foi observado no ensaio no decorrer do tempo. As análises da coluna B2 obtiveram um desvio e um erro padrão elevado ( $0,654 \text{ mS.cm}^{-1}$ ). Essas diferenças estão associadas a grande variabilidade do solo.

A Figura 5.6 exhibe o valor da condutividade para o ensaio com solo insaturado (a) bem como para o solo saturado (b). Observa-se que exceção da amostra B2 – 4d a condutividade do solo saturado está um pouco abaixo da condutividade solo insaturado aos quatro dias de ensaio. Em 80 dias a condutividade dos ensaios reduz e aumenta aos 160 dias para ambos os ensaios.



(a) Solo insaturado



(b) Solo saturado

Figura 5.6. Condutividade das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos.

A Tabela 5.9 exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para as análises do potencial redox do solo insaturado. A Tabela C.3 e o Quadro C.3 do Apêndice C exibem os cálculos para a ANOVA e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o potencial redox do solo insaturado.

Tabela 5.9 Análise do potencial redox para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	Redox (mV)*		Desvio Padrão	C.V
ZERO	455,60 <sup>fg</sup>	± 7,62	0,849	0,002
B1 - 4d	487,40 <sup>efg</sup>	± 39,39	4,384	0,009
C1 - 4d	471,65 <sup>fg</sup>	± 14,61	1,626	0,003
C2 - 4d	471,90 <sup>fg</sup>	± 17,79	1,980	0,004
C3 - 4d	481,00 <sup>fg</sup>	± 25,41	2,828	0,006
B1 - 80d	517,10 <sup>cdef</sup>	± 40,87	16,451	0,032
C1 - 80d	515,97 <sup>cdef</sup>	± 10,87	4,375	0,008
C2 - 80d	514,43 <sup>cdef</sup>	± 14,54	5,853	0,011
C3 - 80d	512,50 <sup>cdef</sup>	± 7,78	3,132	0,006
B1 - 160d	561,20 <sup>abc</sup>	± 9,97	4,015	0,007
C1 - 160d	547,87 <sup>abcd</sup>	± 13,04	5,248	0,010
C2 - 160d	526,10 <sup>bcde</sup>	± 14,02	5,645	0,011
C3 - 160d	534,13 <sup>abcde</sup>	± 56,39	22,697	0,042

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

De acordo com os resultados obtidos apresentados na Tabela 5.9, com o passar do tempo o valor do potencial de oxirredução aumenta para o solo insaturado. No instante inicial do ensaio o valor do redox é de 455,6 mV para a amostra ZERO. Este valor vai aumentando com o tempo e aos 160 dias de incubação chega a 561,2 mV para B1, 547,9 mV para C1, 526,1 mV C2 e 534,1 mV para C3. Essa mudança pode indicar um aumento na aeração do sistema de microcosmos. Os valores estão dentro da faixa de solos aerados. Segundo Brady e Weil (2013) um solo bem aerado possui potencial redox entre 400 e 700 mV.

De acordo com a ANOVA e o teste Tukey a amostra ZERO apresenta diferenças significativas em relação as amostras de 80 e 160 dias de incubação. Não há diferenças significativas entre as amostras das colunas de 4 dias de ensaio e de 80 dias de incubação. As amostras das colunas de 160 dias de incubação apresentam diferenças significativas apenas entre o B1 (B1 – 160d) e a coluna C2 (C2 – 160d). Esse resultado pode indicar a observação da não influência do CO<sub>2</sub> associada a esse parâmetro. As maiores diferenças foram observadas em relação ao tempo de ensaio. Das amostras correspondentes ao dia 4 de ensaio apenas a da coluna B1 (B1 – 4d) não teve diferença significativa com as amostras das colunas de 80 dias de incubação. Todas as amostras de 4 dias de ensaio tiveram diferenças significativas entre as amostras das colunas de 160 dias de incubação.

A Tabela 5.10 exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para as análises do potencial Redox do solo insaturado. A Tabela D.3 e o Quadro D.3 do Apêndice D exibem os cálculos para a ANOVA e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o potencial redox do solo saturado.

Tabela 5.10 Análise do potencial redox para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	pH*			Desvio Padrão	C.V
ZERO	7,02 <sup>abc</sup>	±	0,65	0,262	0,037
B2 - 4d	6,64 <sup>abcde</sup>	±	0,06	0,007	0,001
C4 - 4d	6,51 <sup>bcde</sup>	±	1,46	0,163	0,025
C5 - 4d	6,76 <sup>abcde</sup>	±	0,44	0,049	0,007
C6 - 4d	6,68 <sup>abcde</sup>	±	0,25	0,028	0,004
B2 - 80d	6,54 <sup>bcde</sup>	±	0,09	0,036	0,006
C4 - 80d	6,87 <sup>abcd</sup>	±	0,33	0,132	0,019
C5 - 80d	6,86 <sup>abcd</sup>	±	0,29	0,117	0,017
C6 - 80d	6,74 <sup>abcde</sup>	±	0,19	0,076	0,011
B2 - 160d	6,40 <sup>cde</sup>	±	6,37	0,012	0,002
C4 - 160d	6,48 <sup>cde</sup>	±	0,2	0,082	0,013
C5 - 160d	6,62 <sup>abcde</sup>	±	0,07	0,029	0,004
C6 - 160d	6,37 <sup>cde</sup>	±	0,27	0,110	0,017

\* Média e erro padrão;

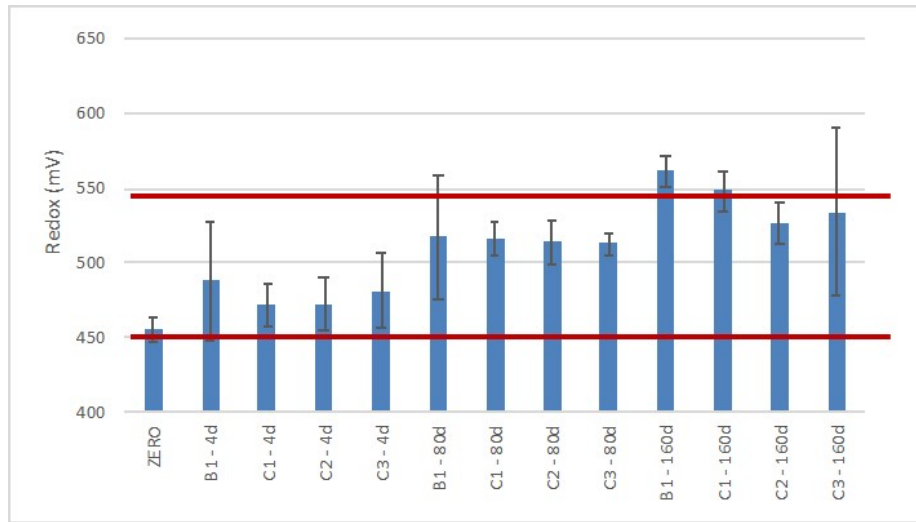
Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

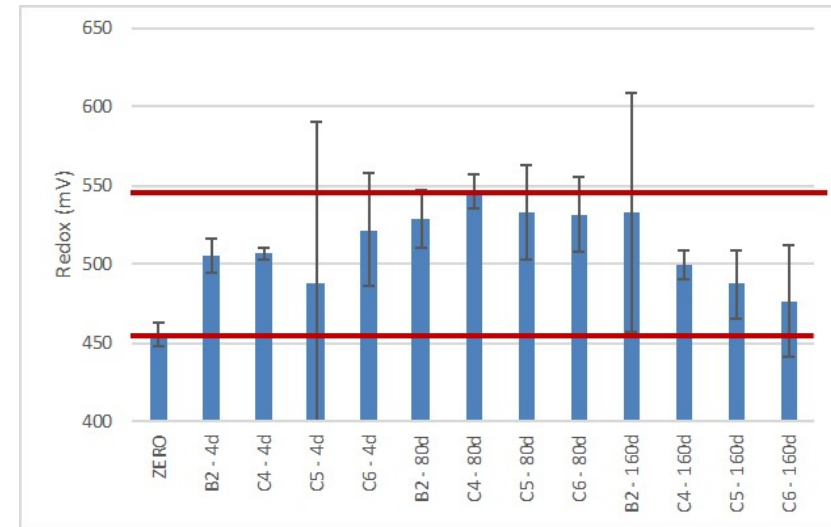
A partir dos resultados apresentados na Tabela 5.10 observa-se que o valor do potencial redox variou entre 455,60 mV (ZERO) a 545,57 mV (C4 – 80d), segundo Camargo, Santos e Zonta (1999) classificam o solo como oxidado (>400 mV). Segundo Brady e Weil (2013) solos inundados apresentam valores de potencial redox abaixo de 300 mV. O resultado obtido pode ser devido ao fato de que a retirada de amostra ser na parte superior da coluna de solo (camada oxidada). Em geral a valor do potencial redox foi menor aos 4 dias de ensaio e foi aumentando no decorrer do período de incubação de e 80 dias e reduzindo aos 160 dias.

A partir da análise da variância observa-se que a amostra do tempo zero (ZERO) só não apresenta diferenças significativas com as amostras C5 – 4d e com as amostras C5 -160d e C6 – 160d dos 160 dias de incubação. Essas diferenças já eram esperadas visto que a amostra ZERO corresponde à amostra de solo não saturada (antes do ensaio em microcosmos). A amostra da coluna sem percolação de CO<sub>2</sub> (B2) não apresenta diferenças significativas entre seus resultados durante o ensaio e período de incubação (B2 – 4d, B2 – 80d e B2 – 160d). Esse comportamento também é observado na coluna C4 (C4 – 4d, C4 – 80d e C4 – 160d). A coluna C5 apresenta diferenças significativa entre seus valores entre quatro e 80 dias de incubação (C5 – 4d e C5 – 80d) e a coluna C6 entre as amostras do quarto dia e de 160 dias de incubação (C6 – 4d e C6 – 160d). Em relação às amostras das colunas no mesmo período de ensaio as diferenças significativas foram observadas apenas entre as amostras das colunas B2 (B2 -160d) em relação as colunas C5 e C6 (C5 - 160d e C6 – 160d).

A Figura 5.7 exibe o valor para o potencial redox do ensaio com solo insaturado (a) bem como para o solo saturado (b). Observa-se que tanto para o solo saturado quanto para o solo insaturado as faixas de potencial redox ficaram entre 450 e 550 mV o que pode indicar que a análise do potencial redox adotada não apresentou boa confiabilidade como padrão de indicação de saturação e de mudanças no solo para o ensaio realizado.



(a) Solo insaturado



(b) Solo saturado

Figura 5.7. Potencial redox das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos.

A Tabela 5.11 exibe a média juntamente com o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para o teor de umidade do solo insaturado. A Tabela C.4 e o Quadro C.4 do Apêndice C exibem os cálculos para a ANOVA e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o teor de umidade do solo insaturado.

Tabela 5.11 Teor de umidade para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	Teor de umidade (%)*			Desvio Padrão	C.V
ZERO	12,00 <sup>e</sup>	±	2,33	0,26	0,02
B1 - 4d	19,91 <sup>ab</sup>	±	12,28	1,37	0,07
C1 - 4d	15,87 <sup>bcd</sup>	±	9,10	1,01	0,06
C2 - 4d	14,63 <sup>cd</sup>	±	13,58	1,51	0,10
C3 - 4d	18,25 <sup>abc</sup>	±	1,83	0,20	0,01
B1 - 80d	9,70 <sup>ef</sup>	±	3,33	1,34	0,14
C1 - 80d	8,53 <sup>fg</sup>	±	1,18	0,47	0,06
C2 - 80d	6,66 <sup>fg</sup>	±	0,13	0,01	0,002
C3 - 80d	9,88 <sup>ef</sup>	±	0,96	0,38	0,04
B1 - 160d	12,67 <sup>de</sup>	±	0,79	0,32	0,03
C1 - 160d	8,67 <sup>fg</sup>	±	0,34	0,14	0,02
C2 - 160d	7,43 <sup>fg</sup>	±	1,48	0,60	0,08
C3 - 160d	8,76 <sup>fg</sup>	±	0,32	0,13	0,01

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

A partir da análise dos dados obtidos apresentados na Tabela 5.11 pode-se verificar o teor de umidade aumentou no dia 4 de ensaio em relação ao início dos ensaios, em 80 dias reduziu em comparação aos 4 dias e em 160 dias se manteve muito próximo aos valores obtidos em 80 dias. Também é observado que o erro padrão das colunas B1, C1 e C2 aos quatro dias de ensaio são altos (12,28%, 9,10% e 13,58%, respectivamente). Esses erros foram elevados, pois o desvio padrão foi maior que 1% para essas amostras e o erro foi calculado para duas repetições ( $t = 12,706$ ). No entanto, o coeficiente de variação (CV) ficou abaixo de 0,1 para todas as amostras, o que demonstra que as amostras são homogêneas.

De acordo com a ANOVA e o teste Tukey a diferença entre a amostra inicial e as obtidas aos quatro dias são significativas. Comparando a amostra ZERO nos demais tempos de amostragem observa-se que somente há diferenças significativas entre a B1 – 80 d e a B1 – 160d.

Analisando as colunas no mesmo período de tempo de amostragem em quatro dias a amostra B1 apresentou distinção expressiva entre as amostras das colunas C1 e C2. E a coluna C2 apresentou diferenças significativas em relação a C3. O teor de umidade das amostras de 4 dias tem diferenças significativas em relação as amostras referentes aos 80 dias de incubação. Já em relação aos 160 dias de incubação não houve diferença significativa das amostras coletadas em 4 dias da coluna C2 (C2 – 4d) em relação as da coluna B1 (B1 -160d).

Em 80 dias de incubação ocorreu diferenças significativas entre as amostras da coluna C2 (C2 – 80d) em relação a B1 (B1 – 80d) e a C3 (C3 -80d). O teor de umidade das amostras da coluna B1 em 160 dias apresentou expressivas distinções em relação as demais (C1 – 160d, C2 – 160d e C3 – 160d) do mesmo período de amostragem. Essas colunas (C1, C2 e C3) não apresentaram diferenças significativas entre si.

De acordo com os métodos estatísticos adotados para a discussão dos resultados, o teor de umidade do solo insaturado em microcosmos não apresentou uma relação à qual fosse possível fazer muitas afirmações de seu comportamento no sistema de microcosmos tanto em relação ao CO<sub>2</sub> quanto em relação ao tempo de ensaio. No entanto, observando a matriz de significância gerada a partir do teste Tukey (Quadro C.3 – Apêndice C) percebe-se que apesar de existir diferenças nos mesmos tempos entre as colunas, em geral as maiores diferenças foram observadas entre os diferentes tempos de análise, o que sugere uma mudança no teor de umidade em relação ao tempo de ensaio. Na análise multivariada apresentada na seção 5.4 este parâmetro será melhor discutido.

A Tabela 5.12 exibe a média juntamente o teste Tukey e erro padrão, o desvio padrão e o coeficiente de variação para o teor de umidade do solo saturado. A Tabela



D.4 e o Quadro D.4 do Apêndice D exibem os cálculos para a Anova e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o pH do solo insaturado.

Tabela 5.12 Teor de umidade para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o teste Tukey, erro padrão, desvio padrão e coeficiente de variação.

AMOSTRA	Teor de Umidade (%)*			Desvio Padrão	C.V
ZERO	12,00 <sup>defg</sup>	±	2,330	0,260	0,020
B2 - 4d	1,85 <sup>h</sup>	±	0,670	0,270	0,150
C4 - 4d	23,89 <sup>a</sup>	±	15,340	1,707	0,070
C5 - 4d	19,59 <sup>abc</sup>	±	3,560	0,397	0,020
C6 - 4d	18,61 <sup>bcde</sup>	±	11,120	1,238	0,070
B2 - 80d	11,09 <sup>defg</sup>	±	0,500	0,202	0,020
C4 - 80d	11,05 <sup>defg</sup>	±	0,680	0,273	0,020
C5 - 80d	12,73 <sup>defg</sup>	±	1,430	0,577	0,050
C6 - 80d	10,03 <sup>efg</sup>	±	3,310	1,334	0,130
B2 - 160d	14,58 <sup>cdef</sup>	±	2,020	0,814	0,060
C4 - 160d	14,06 <sup>cdefg</sup>	±	4,990	2,008	0,140
C5 - 160d	13,54 <sup>defg</sup>	±	1,350	0,545	0,040
C6 - 160d	12,18 <sup>defg</sup>	±	1,950	0,787	0,060

\* Média e erro padrão;

Médias com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

C.V – coeficiente de variação: Desvio Padrão/Média.

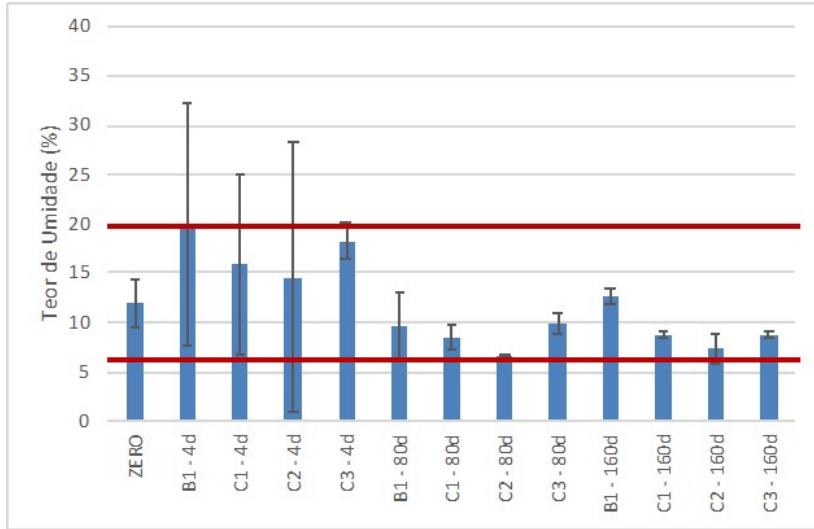
A partir dos resultados apresentados na Tabela 5.12 observa-se que o teor de umidade das colunas aos 4 dias de ensaio variou de 1,85% na B2 – 4d e 23,69% na C4 – 4d, conforme a seção 4.3.1 da Metodologia as colunas foram saturadas antes do ensaio até o último dia de injeção (quarto dia de ensaio). O valor encontrado para a amostra B2 – 4d está diferente das demais pois houve a necessidade de reanálise da amostra para este ensaio. Acredita-se que a exposição ao tempo de armazenamento foi determinante para a mudança no parâmetro, pois o erro padrão entre as replicatas é baixo (0,67%). Além do erro padrão é apresentado nesta tabela a média, teste Tukey, o desvio padrão e o coeficiente de variação do teor de umidade para a amostra de solo saturado em microcosmos.

Aos 80 dias de incubação o teor de umidade das amostras se apresentou em torno de 12%, próximo aos valores das amostras do ensaio sem saturação (Figura

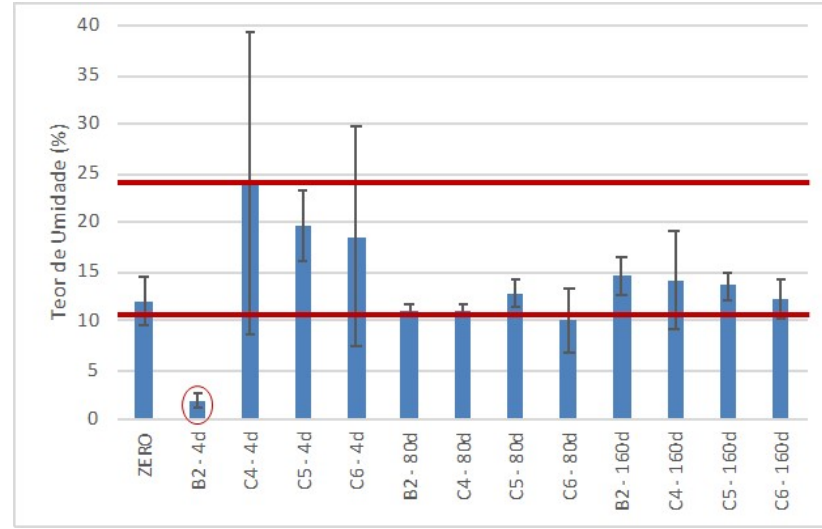
5.8). Aos 160 dias ocorreu um leve aumento no teor de umidade em todas as amostras das colunas, mas de acordo com a análise de variância e o teste Tukey, apresentados nas

As diferenças obtidas no teor de umidade e entre as amostras está associada a influência da água, visto que a coluna sem injeção de CO<sub>2</sub> (B2) não apresentou diferenças significativas entre as amostras entre as demais colunas.

Figura 5.8 exibe o teor de umidade do ensaio com solo insaturado (a) bem como para o solo saturado (b). Observa-se que a exceção da amostra B2 – 4d há sempre uma redução no teor de umidade nas colunas com injeção de CO<sub>2</sub> para ambos os ensaios, o que poderia indicar alguma influência do gás no teor de umidade.



(a) Solo insaturado



(b) Solo saturado

Figura 5.8. Teor de umidade das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos.

A Tabela 5.13 exibe o teor de matéria orgânica e matéria mineral (como teor de cinzas) realizados (em base seca) para os ensaios em microcosmos com solo insaturado, juntamente com o teste Tukey, erro padrão e o desvio padrão. A Tabela A C.5 e o Quadro C.5 do Apêndice C exibem os cálculos para a ANOVA e a matriz binária do teste Tukey, com significância de 5%, para o teor de matéria orgânica e o teor de cinzas.

Tabela 5.13 Teor de matéria orgânica e teor de cinzas para os ensaios em microcosmos com solo insaturado apresentando o teste Tukey, erro padrão e o desvio padrão.

AMOSTRA	M.O. (%) <sup>1*</sup>	T.C. (%) <sup>*</sup>		Erro Padrão	Desvio Padrão
ZERO	1,99 <sup>b</sup>	98,01 <sup>a</sup>	±	1,38	0,15
B1 - 4d	1,92 <sup>b</sup>	98,08 <sup>a</sup>	±	1,42	0,16
C1 - 4d	1,90 <sup>b</sup>	98,10 <sup>a</sup>	±	1,01	0,11
C2 - 4d	1,99 <sup>b</sup>	98,01 <sup>a</sup>	±	0,39	0,04
C3 - 4d	1,83 <sup>b</sup>	98,17 <sup>a</sup>	±	0,08	0,01
B1 - 80d	4,10 <sup>a</sup>	95,90 <sup>b</sup>	±	0,67	0,27
C1 - 80d	3,99 <sup>a</sup>	96,01 <sup>b</sup>	±	0,13	0,05
C2 - 80d	4,24 <sup>a</sup>	95,76 <sup>b</sup>	±	0,38	0,15
C3 - 80d	3,94 <sup>a</sup>	96,06 <sup>b</sup>	±	0,27	0,11
B1 - 160d	4,06 <sup>a</sup>	95,94 <sup>b</sup>	±	0,51	0,21
C1 - 160d	4,34 <sup>a</sup>	95,66 <sup>b</sup>	±	0,84	0,34
C2 - 160d	4,18 <sup>a</sup>	95,82 <sup>b</sup>	±	0,67	0,27
C3 - 160d	3,98 <sup>a</sup>	96,02 <sup>b</sup>	±	0,19	0,08

<sup>1</sup> Obtido por diferença (Equação 4.3)

\* Média aritmética do teor de matéria orgânica (M.O.) e teor de cinzas (T.C.);

Médias com a mesma letra na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey com significância de 5%.

A partir da análise dos resultados apresentados na Tabela 5.13, observa-se que o conteúdo de matéria orgânica antes do ensaio era de 2%, esse teor se manteve nos quatro dias de ensaio. Aos 80 dias de incubação o teor de matéria orgânica ficou próximo de 4%. Esse teor manteve-se constante aos 160 dias de ensaio. Esse aumento de matéria orgânica no decorrer do tempo pode estar associado com um aumento da comunidade microbiana do solo.

De acordo com a ANOVA e o teste Tukey em relação ao tempo ZERO e quatro dias de ensaio não houve diferenças significativas nos teores de matéria orgânica,

consequentemente também não houve diferenças significativas nos teores de matéria mineral. No entanto, quando comparada às amostras dos tempos de incubação de 80 e 160 dias houve diferenças significativas. As amostras obtidas nos tempos (80 e 160 dias) não apresentaram diferenças expressivas.

A Tabela 5.14 exibe o teor de matéria orgânica e matéria mineral (como teor de cinzas) realizados (em base seca) para os ensaios em microcosmos com solo saturado, juntamente com o erro padrão e o desvio padrão. As médias não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey.

Tabela 5.14 Teor de matéria orgânica e teor de cinzas para os ensaios em microcosmos com solo saturado apresentando o erro padrão e o desvio padrão.

AMOSTRA	M.O. (%) <sup>1*</sup>	T.C. (%) <sup>*</sup>		Erro Padrão	Desvio Padrão
ZERO	1,99	98,01	±	1,38	0,15
B2 - 4d	5,07	95,23	±	0,82	0,33
C4 - 4d	1,79	98,21	±	0,66	0,07
C5 - 4d	3,79	96,21	±	0,32	0,04
C6 - 4d	3,87	96,13	±	2,16	0,24
B2 - 80d	4,12	95,88	±	0,94	0,38
C4 - 80d	4,15	95,85	±	0,80	0,32
C5 - 80d	3,98	96,02	±	0,64	0,26
C6 - 80d	4,16	95,84	±	1,03	0,42
B2 - 160d	4,31	95,69	±	1,27	0,14
C4 - 160d	4,07	95,93	±	8,71	3,51
C5 - 160d	4,39	95,62	±	1,51	0,17
C6 - 160d	4,30	95,70	±	1,92	0,21

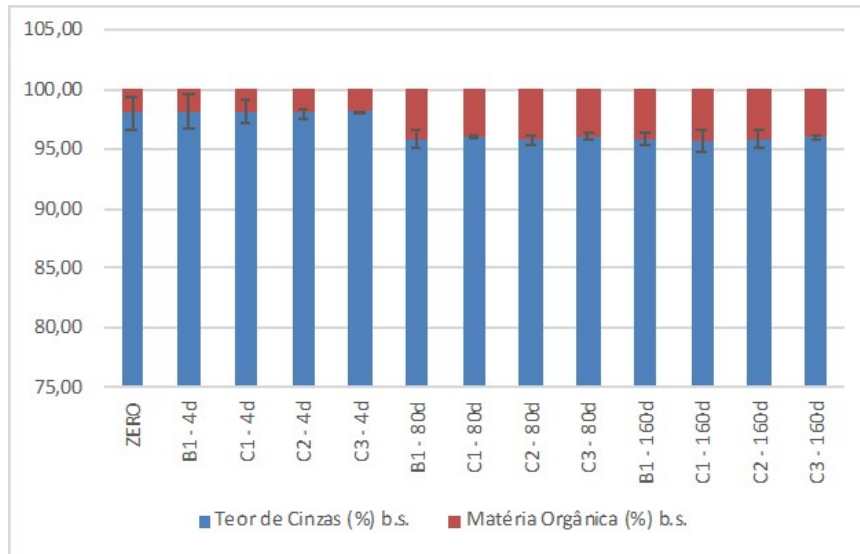
<sup>1</sup> Obtido por diferença (equação 4.3)

\* Média aritmética do teor de matéria orgânica (M.O.) e teor de cinzas (T.C.);

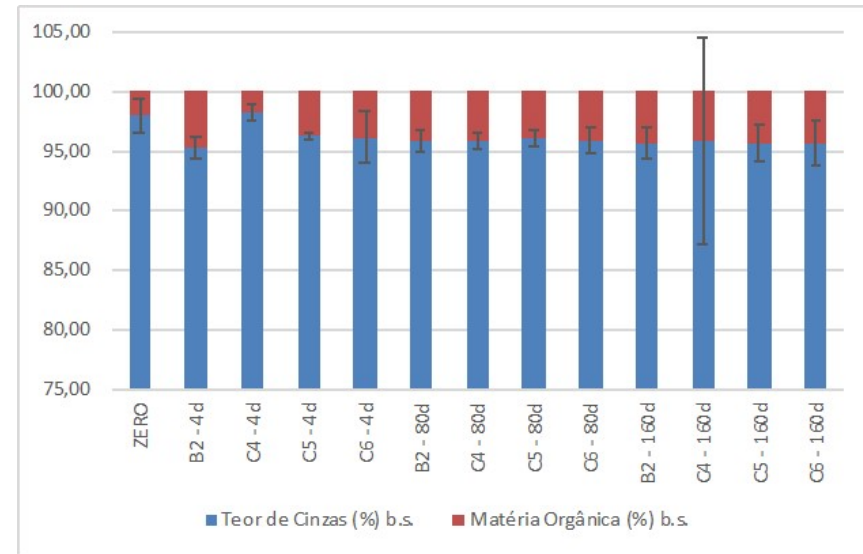
De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5.14, à exceção da coluna C4 – 4d, todas as amostras do quarto dia de ensaio (B2 – 4d, C5 – 4d e C6 – 4d) tiveram o teor de matéria orgânica alterado para valores acima de 4%, o que se mantém até o fim do período de incubação. Na amostra ZERO o teor de matéria orgânica é de 2%. Esse aumento ocorrido pode estar associado a um aumento na comunidade microbiana, já no início do teste devido à saturação. De acordo com a ANOVA (Tabela D.5 do Apêndice D) essas diferenças não são significativas. Segundo

Camargo, Santo e Zonta (1999), em solos inundados o equilíbrio dos elementos e compostos e o metabolismo microbiano são alterados, desencadeando uma série de transformações que levam a um novo estado de equilíbrio, com características distintas às de antes da inundação.

Figura 5.9 exibe o teor de matéria orgânica e o teor de matéria mineral do ensaio com solo insaturado (a) bem como para o solo saturado (b). Comparando os ensaios não se verifica diferenças no teor de matéria orgânica entre os solos insaturado e saturado e que o solo é classificado como solo mineral.



(a) Solo insaturado



(b) Solo saturado

Figura 5.9. Teor de matéria orgânica e teor de cinzas (matéria mineral) das amostras de solo insaturado (a) e do solo saturado (b) dos ensaios em microcosmos.

A Figura 5.10 exibe a contagem de UFC.mL<sup>-1</sup> das comunidades microbianas em sete dias nos diferentes tempos de ensaio em microcosmos de solo insaturado

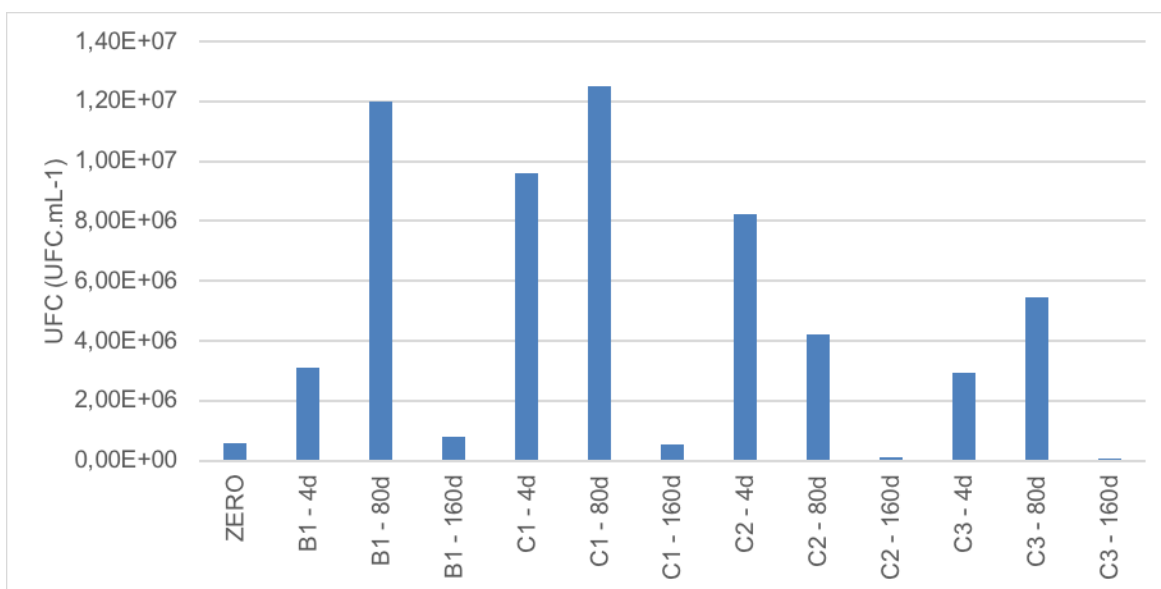


Figura 5.10. Contagem microbiana a partir das UFC em 7 dias as amostras do solo insaturado dos ensaios em microcosmos.

A partir dos resultados obtidos apresentados na Figura 5.10, observa-se que houve um aumento na quantidade de colônias após quatro dias de percolação de CO<sub>2</sub> para todas as amostras das diferentes colunas. Para as amostras das colunas B1, C1 e C3, a quantidade de unidade formadoras de colônias aumentou aos 80 dias e reduziu aos 160 dias de incubação. Para a amostra da coluna C2 em 80 dias, houve uma redução de unidades formadoras de colônias em relação aos 4 dias de percolação, no entanto, aos 160 dias de incubação a quantidade de UFC reduz ainda mais.

Este aumento nas UFC verificado no decorrer do tempo pode estar associado à disponibilidade do meio, e condições de temperatura e umidade que o sistema de microcosmos pode proporcionar. O decréscimo da quantidade de UFC aos 160 dias de incubação pode estar relacionado com a redução de nutrientes do solo na coluna, o que acarretaria o aumento do número de morte dos microrganismos em relação à geração. Esse período pode estar associado à transição da fase de crescimento



estacionário com a fase de declínio ou morte dos microrganismos. Também, segundo Madigan et al. (2016), apesar da alta sensibilidade deste método de contagem, uma grande parte das células depositadas na placa formarão colônias tornando essas modificações imprecisas.

A partir das análises físicas, químicas e microbiológicas realizadas com o solo insaturado em microcosmos verifica-se que o tempo influencia em todos os parâmetros escolhidos e esta influência pode ser observada com o experimento em colunas.

No entanto, não foi possível constatar a ação do  $\text{CO}_2$  no solo insaturado em microcosmos, pois a coluna sem percolação do gás (B1) não apresentou comportamento distinto entre as demais colunas com percolação de  $\text{CO}_2$ .

A Figura 5.11 exibe a contagem de  $\text{UFC.mL}^{-1}$  das comunidades microbianas após sete dias nos diferentes tempos de ensaio em microcosmos com solo saturado a partir das Unidades Formadoras de Colônias.

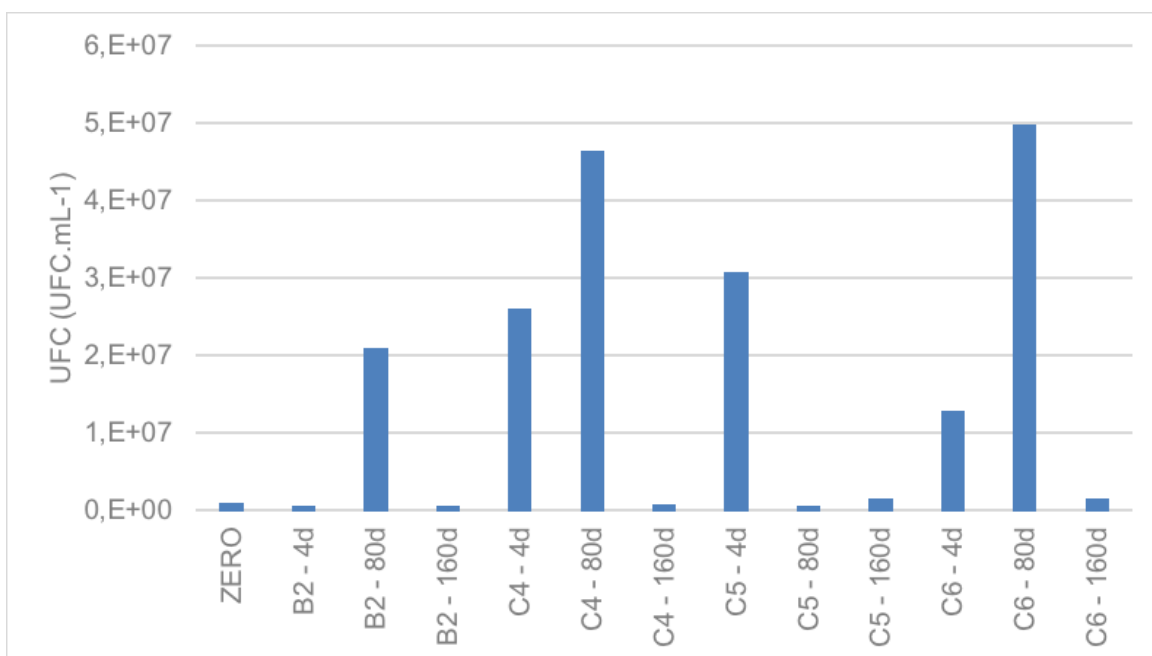


Figura 5.11. Contagem microbiana a partir das UFC, em 7 dias para as amostras do solo saturado dos ensaios em microcosmos.

Com base nos resultados apresentados na Figura 5.11, observa-se que houve um aumento na quantidade de colônias após quatro dias de percolação de CO<sub>2</sub> para todas as amostras das colunas C4, C5 e C6. Na coluna B2, aos 4 dias, a quantidade de UFC reduz comparando com a amostra do tempo zero. No entanto, aos 80 dias de incubação as amostras das colunas B2, C4 e C6 apresentam um aumento na quantidade de unidades formadoras e em 160 dias de incubação novamente houve uma redução. Para a amostra da coluna C5 em 80 dias (C – 80d), houve uma redução de unidades formadoras de colônias em relação aos 4 dias de percolação, no entanto, aos 160 dias de incubação a quantidade de UFC tem um leve aumento quando comparada aos 80 dias. Esse leve aumento nas UFC pode estar associado com ao método de contagem por placa. Assim como no ensaio em microcosmos com o solo insaturado, o aumento e redução observado nas UFC no decorrer do tempo pode estar associado à disponibilidade de nutrientes do meio, condições de temperatura e umidade que o sistema de microcosmos pode proporcionar. Os resultados obtidos com esse parâmetro indicam que a influência do tempo pode ser observada durante o experimento de microcosmos. Já a ação do CO<sub>2</sub> em relação a este parâmetro não foi percebida, visto que a coluna sem injeção de CO<sub>2</sub> (B2) teve comportamento similar as demais colunas com injeção de CO<sub>2</sub>.

### 5.3.3. RISA

Todas as amostras analisadas por RISA produziram fragmentos quando submetidos ao PCR. A Figura 5.12 exibe um gel de agarose com algumas bandas geradas por RISA das amostras dos ensaios em microcosmos do tempo inicial do ensaio (ZERO), amostra das colunas de microcosmos com solo insaturado e saturado aos 80 dias, e do ponto 10. A amplificação utilizando os oligonucleotídeos iniciadores 1406F e 23SR geraram de 1 a 18 fragmentos, com tamanhos que variaram de 700 a 3000 pares de base. Todos os fragmentos foram considerados nas análises. A intensidade das bandas não foi considerada na diferenciação das amostras.

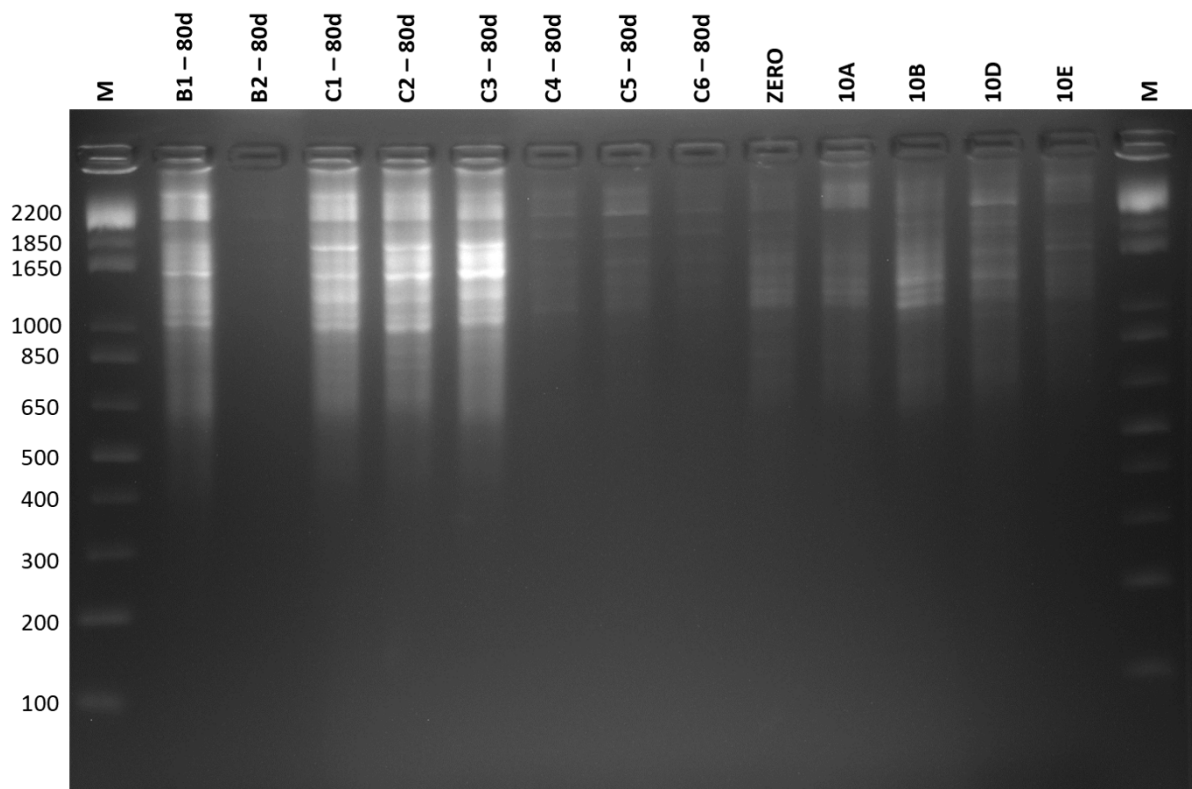


Figura 5.12. Gel de agarose com as bandas geradas por RISA das amostras dos ensaios em microcosmos insaturado e saturado do tempo inicial, 80 dias, e do ponto 10.

Figura 5.13 exibe um dendrograma de similaridade baseados em RISA as amostras de solo dos pontos 8, 9 e 10 em diferentes épocas de coleta (conforme codificação apresentada no Quadro 4.4). Nesta figura, observa-se que as 13 amostras analisadas formaram 10 grupamentos distintos. Estes grupamentos estão divididos em dois grupos principais 1 e 2. O coeficiente de similaridade entre os grupos principais é de 0,32. O grupo 1 é formado pela amostra 10E. No grupo 2 cinco subgrupos foram formados (2.1, 2.2, 2.3, 2.4 e 2.5). O grupo 2.1 é formado pela amostra 8E e o 2.2 pela 9E.

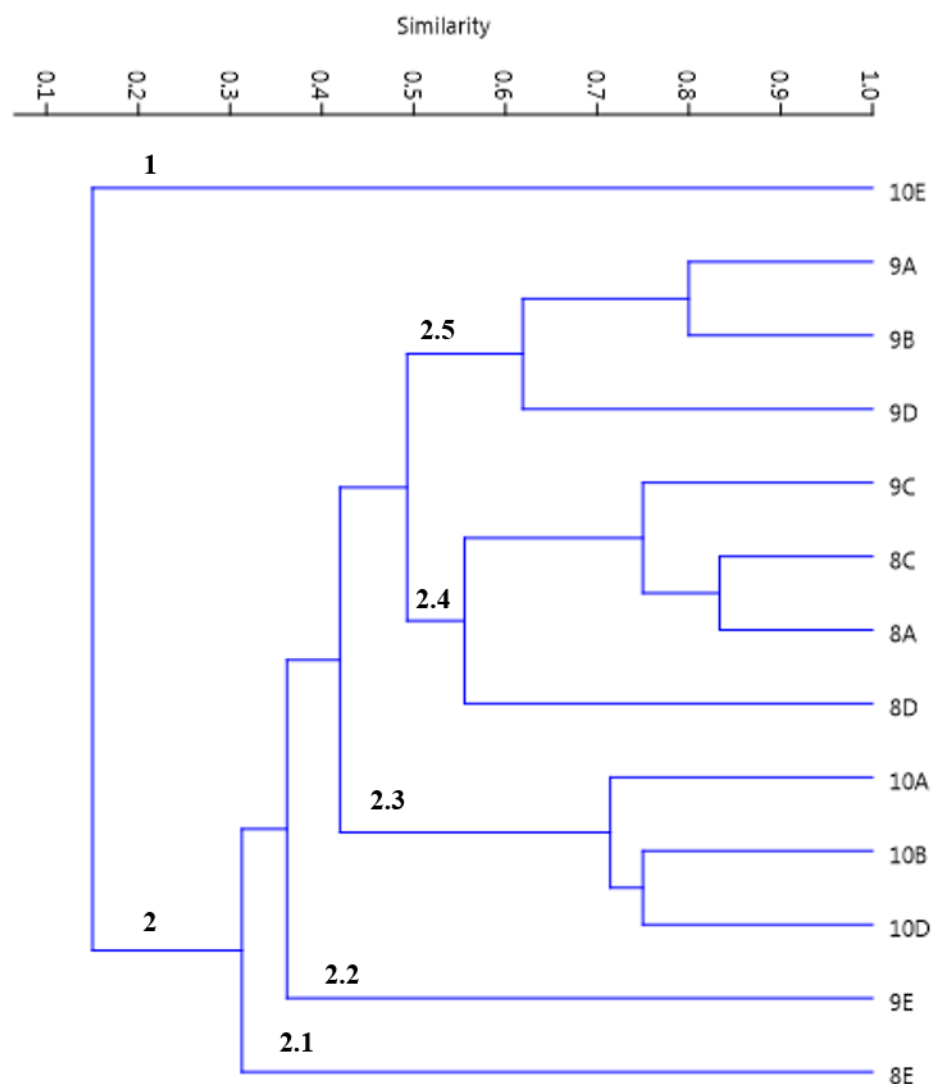


Figura 5.13. Dendrograma de similaridade em RISA das amostras de solo dos pontos 8, 9 e 10 e em diferentes épocas de coleta – imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6.

O cluster 2.3 se divide em 2 subgrupos. Um com a amostra 10A e outro grupamento com as amostras 10B e 10D, com coeficiente de similaridade de 0,75. O grupo 2.4 divide-se em dois subgrupos: um contendo a amostra 8D e outro grupamento contendo a amostra 8C, 8A e 9C com coeficiente de similaridade de 0,83. O grupo 2.5 divide-se em dois subgrupos: um contendo a amostra 9D e outro grupamento contendo as amostras 9A e 9B (coeficiente de similaridade de 0,8).

Analisando as amostras dos pontos para cada época de coleta, ou seja, no mesmo tempo de coleta. Observa-se que as amostras coletadas em abril (8A, 9A e

10A) apresentam coeficiente mínimo de similaridade 0,45. As amostras coletadas em janeiro de 2016 (9B e 10B) tem também correlação mínima de 0,45. Das amostras coletadas em agosto de 2016 o ponto 10 (10C) apesar do DNA ter sido extraído, não foi amplificado no gel de agarose. Os demais pontos 8C e 9C obtiveram uma correlação mínima de 0,75. As amostras coletadas em outubro de 2016 (8D, 9D e 10D) no fim da injeção de CO<sub>2</sub> possuem coeficiente mínimo de similaridade de 0,45. As amostras coletadas em janeiro de 2017 (8E, 9E e 10E) estão separadas entre os dois grupos principais. As amostras 8E e 9E que estão no mesmo grupo principal e possuem coeficiente mínimo de similaridade igual a 0,28.

A Figura 5.14 exibe um dendrograma de similaridade das amostras do ensaio em microcosmos com solo insaturado.

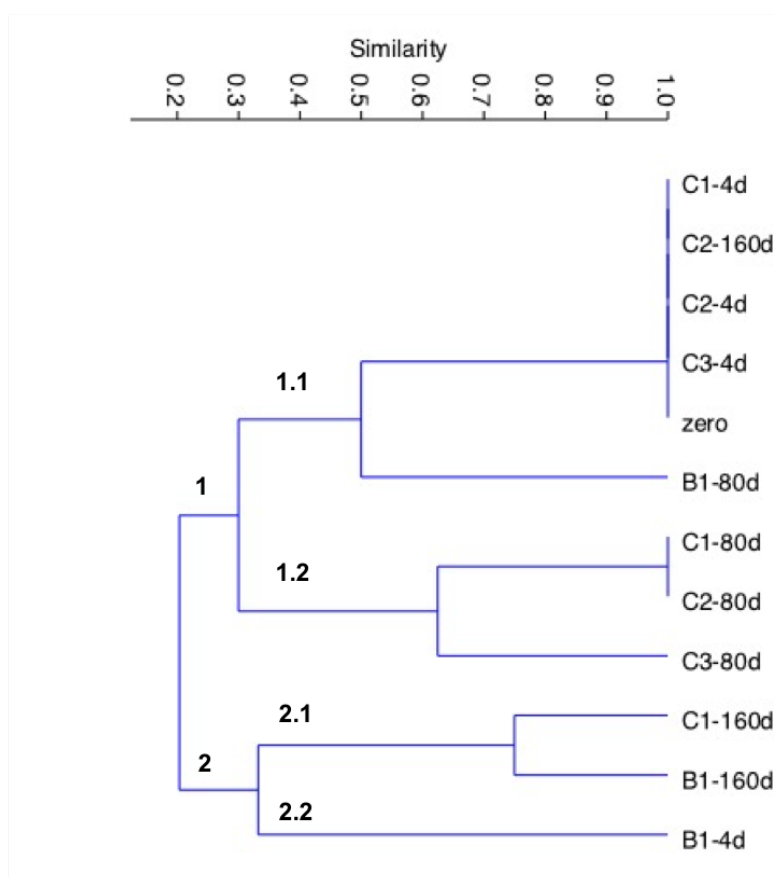


Figura 5.14. Dendrograma de similaridade das amostras em RISA de solo insaturado dos ensaios de microcosmos – imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6.

A partir da Figura 5.14 observa-se a formação de dois grupos principais (1 e 2). O grupo 1 divide-se em 2 grupamentos (1.1 e 1.2). O grupamento 1.1 contém as amostras das colunas do quarto dia de ensaio (C1 - 4d, C2 - 4d e C3 - 4d), a amostra de solo antes da injeção de CO<sub>2</sub> (ZERO) e a amostra da coluna C2 em 160 dias de incubação (C2 -160d), com coeficiente de similaridade igual a 1. Também contém a amostra B1- 80d com o coeficiente mínimo de similaridade igual a 0,5. As amostras C1 - 4d, C2 - 4d e C3 - 4d são triplicatas biológicas (coeficiente de similaridade igual a 1).

O grupamento 1.2 possui as amostras coletadas em 80 dias de incubação C1 - 80d e C2 - 80 d (com coeficiente de similaridade 1), e a C3 - 80d com coeficiente mínimo de similaridade de 0,64. Essas amostras possuem boa similaridade podendo ser considerada triplicatas biológicas.

O grupo 2 tem 2 grupamentos (2.1 e 2.2). O grupamento 2.1 é composto pelas amostras das colunas C1 - 160d e B1 - 160d, com coeficiente de similaridade de 0,75 e a amostra B1- 4d, com coeficiente mínimo de similaridade igual a 0,34.

É possível observar que as colunas C1 - 160d e C2 - 160d estão em grupos distintos com similaridade mínima abaixo de 0,2. A amostra da coluna C3 - 160d não foi amplificada no gel de agarose. As colunas sem injeção de CO<sub>2</sub> (B1 - 4d, B1 - 80d e B1 - 160d) possuem baixa similaridade entre si. Este resultado pode estar associado tanto a questão de baixos nutrientes ou a interferência do CO<sub>2</sub>.

A Figura 5.15 exibe o dendrograma de similaridade do ensaio em microcosmos em solo saturado.

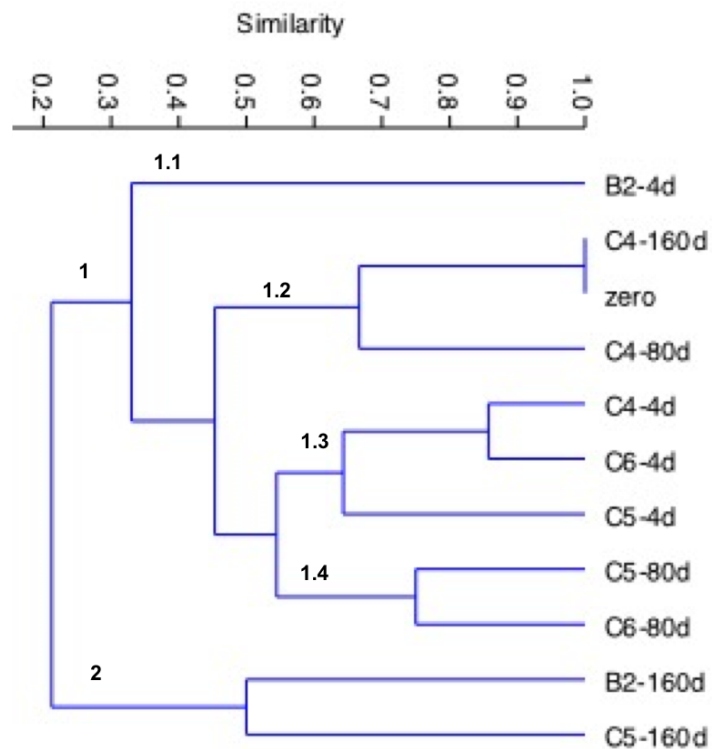


Figura 5.15. Dendrograma de similaridade das amostras de solo saturado dos ensaios de microcosmos – imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6.

A partir da Figura 5.15 pode-se observar a formação de dois grupos principais (1 e 2). O grupo 1 é formado por quatro grupamentos (1.1, 1.2, 1.3 e 1.4). O grupo 1.1 contém a amostra B2 - 4d. O grupo 1.2 subdivide-se em um grupamento com as amostras C4 - 160d e ZERO com coeficiente de significância de 1, e outro com a amostra C4 - 80d. O grupo 1.3 possui 2 grupamentos com as amostras C4 - 4d e C6 - 4d com boa similaridade (0,85) e outro com a amostra C5 - 4d. O grupo 1.4 possui as amostras C5 - 80d e C6 - 80d com coeficiente de similaridade igual a 0,75. O grupo 2 tem as amostras B2 - 160d e C5 - 160d com coeficiente de similaridade de 0,5.

Neste ensaio, assim como o realizado com solo insaturado as amostras das colunas dos quatro dias de ensaio C4 - 4d, C5 - 4d e C6 - 4d tiveram uma boa similaridade podendo ser considerada uma triplicata biológica. Em relação as amostras referentes aos 80 dias de incubação C5 - 80d e C6 - 80d podem ser classificados como duplicata biológica, já a amostra da coluna C4 - 80d não tem boa similaridade (0,45) com as colunas C5 e C6. Em relação aos ensaios de 160 dias de

incubação a coluna C4 – 160d tem pouca similaridade com a coluna C5 – 160d (coeficiente de similaridade abaixo de 0,3), a amostra da coluna C6 – 160d não foi amplificada.

As baixas similaridades apresentadas neste ensaio indicam que a água é um parâmetro que afeta diretamente as características do meio e da comunidade microbiológica, tornando-o mais difícil o controle e as observações do ensaio quando comparados aos ensaios com solo insaturado.

#### **5.4. Análise Multivariada de dados**

A Figura 5.16 exibe o gráfico da Análise de Componentes Principais (PCA) das análises físico-químicas (pH, teor de umidade, matéria orgânica, rpotencial edox) e microbiológicas (UFC e RISA) das amostras dos ensaios em microcosmos com solo saturado e solo insaturado.

A partir da análise multivariada (PCA) verifica-se que os seis eixos foram transformados em 2 componentes principais que explicam 72% da variância total. Apesar disto, observa-se uma alta dispersividade das amostras.



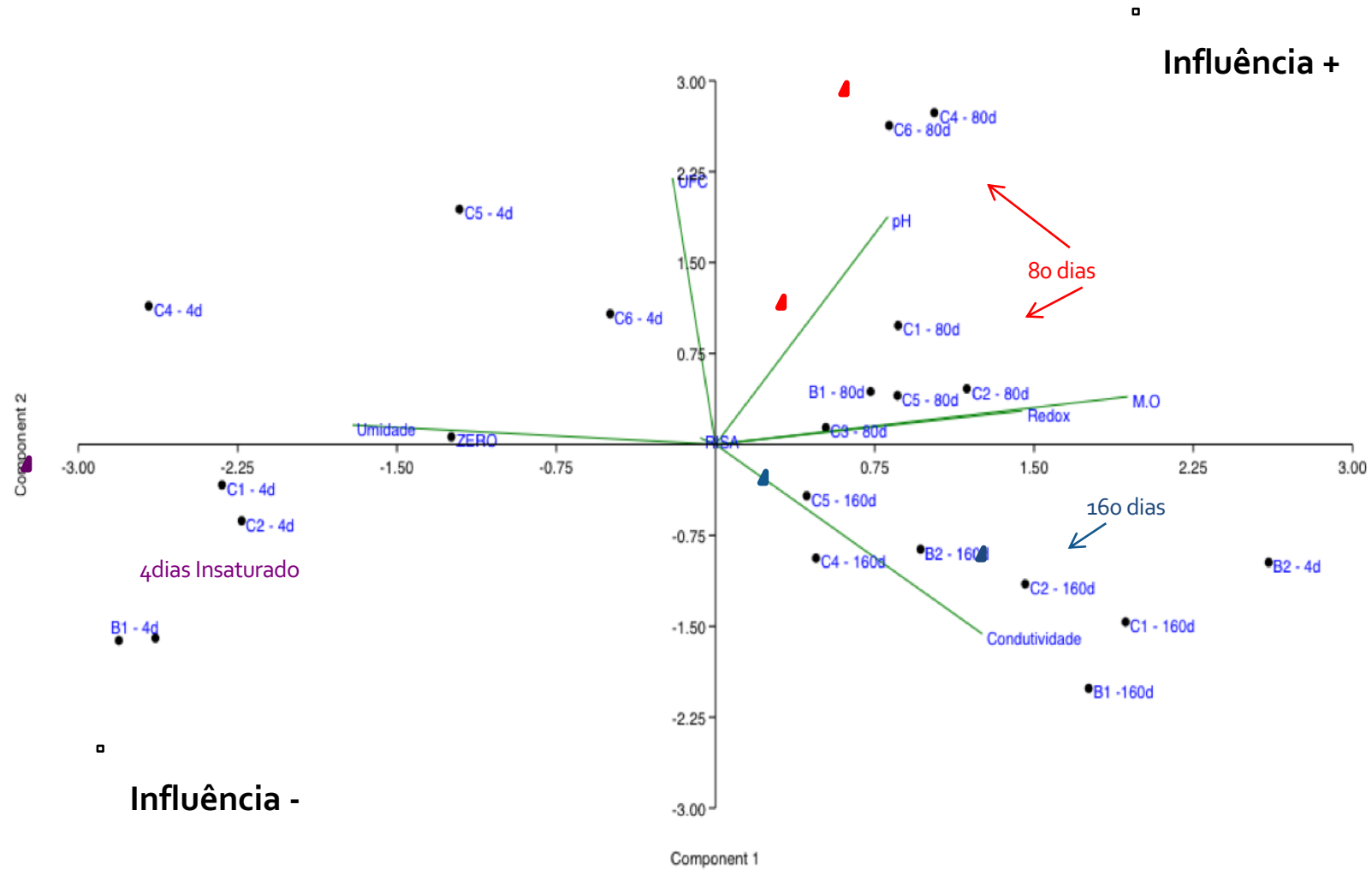


Figura 5.16. PCA dos parâmetros físico químicos e microbiológicos do solo saturado e insaturado. - Imagem obtida utilizando o programa Past v. 3.6.

A análise por RISA não apresentou muita influência sobre as amostras quando correlacionadas com os demais parâmetros, ficando no centro dos eixos dos componentes principais. No primeiro quadrante positivo, encontram-se agrupadas as amostras do ensaio em microcosmos saturados e insaturados que sofrem maior influência dos parâmetros físico e químicos de pH, matéria orgânica, redox e das UFC. As colunas C4 – 80d e C6 – 80d que tem amostras com solo saturado tiveram maior variância quando comparadas às demais amostras e apresentam maior influência da UFC. Neste quadrante o teor de umidade e a condutividade não apresentam grande efeito para estas amostras. As amostras do ensaio aos 160 dias de incubação dos ensaios em microcosmos com solo saturado e insaturado estão agrupadas no segundo quadrante onde a influência maior é da condutividade, com baixa influência da UFC, pH e umidade.

As amostras do ensaio insaturado do quarto dia encontram-se agrupadas no terceiro quadrante onde não há a influência das propriedades físico químicas e nem microbiológicas. A amostra da coluna sem percolação de CO<sub>2</sub> aos quatro dias de ensaio (B1 – 4 d) apresentou maior dispersividade quando comparada com as amostras das colunas com percolação de CO<sub>2</sub> da mesma data de análise (C1- 4d e C2- 4d). A amostra retirada antes do ensaio apresenta apenas influência do teor de umidade. As amostras das colunas do ensaio com solo saturado onde o CO<sub>2</sub> foi percolado encontram-se no quarto quadrante com uma alta dispersividade entre elas apresentando a influência das UFC e do teor de umidade. Comportamento que era esperado, visto ser um ensaio com água onde há a atuação direta no teor de umidade e no crescimento microbiológico. A amostra da coluna do ensaio saturado onde não houve percolação de CO<sub>2</sub> (B2 – 4d) apresentou grande variância ficando separada das demais amostras do ensaio.

Analisando os dados, de um modo geral o que se observa a partir do PCA que as propriedades do solo tanto saturado quanto insaturado variaram ao longo do tempo, seguindo suas características próprias, mas sem influência do CO<sub>2</sub>. Em relação ao período utilizado no ensaio, observa-se que aos 160 dias de incubação já não se tem muitos efeitos das propriedades físico, químicas e microbiológicas.

Como esperado, a água muda o crescimento microbiológico e o teor de umidade do solo, mas outras alterações não puderam ser observadas no ensaio com solo saturado.

Portanto, a partir do tratamento estatístico nos dados pela análise multivariada de componentes principais não foi observado o efeito da percolação do CO<sub>2</sub> nas comunidades microbianas e nos parâmetros físicos e químicos do solo. A exceção das amostras do quarto dia de ensaio não há diferenças entre os resultados obtidos das colunas com ou sem percolação de CO<sub>2</sub>.

## 6. CONCLUSÕES

A partir do estudo realizado neste trabalho constata-se que a hipótese levantada sobre a utilização de colunas como microcosmos para avaliação da injeção controlada de CO<sub>2</sub> não foi observada a partir dos resultados de mudanças nos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos estudados.

Quanto às colunas e seus componentes projetados para o sistema de microcosmos, pode-se constatar que as dimensões, materiais e dispositivos como o dispersor de vazão e o difusor de gás, foram adequados aos ensaios em microcosmos com fluxo ascendente, permitindo a retirada de amostra e controle adequado dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos. Além disso, pela utilização do PVC como material, foi viável a coleta de maneira indeformada por cravamento, o que preserva as características do solo. Portanto, o modelo experimental dos ensaios em microcosmos foi adequado aos experimentos realizados com solo insaturado e saturado.

Destaca-se ainda que a saturação em uma operação com injeção em fluxo ascendente e contínuo é complexa, pois a água precisa se manter no solo e não pode alterar a vazão e o deslocamento do gás no meio. O procedimento para manter o solo encharcado adotado não afetou o sistema contínuo, no entanto, seria interessante estudar-se um maior controle deste processo.

Em relação as análises das propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo *in situ*, as dificuldades de coleta encontradas, associadas às épocas e acesso ao local fizeram com que a avaliação dessas propriedades fosse inferior ao proposto no início do trabalho. Quanto às análises realizadas, não foi observada uma boa correlação entre as características avaliadas. Isto está relacionado com o fato do

controle em campo ser inferior ao realizado em microcosmos, pois há muitas variáveis a serem controladas que afetam diretamente as propriedades escolhidas para a caracterização do solo.

As variações nas comunidades microbianas observadas utilizando a RISA, cujos resultados indicaram uma boa similaridade entre as colunas consideradas triplicatas biológicas e pode-se observar as mudanças ocorridas nas comunidades principalmente ao longo do tempo. A contagem de unidade formadoras de colônias, apesar de ser uma técnica imprecisa para solos, também indicou essas mudanças na quantidade de colônias ocorridas com o tempo.

A utilização dos métodos estatísticos auxiliou na interpretação dos diversos dados obtidos no estudo. A análise multivariada por componentes principais aplicada aos parâmetros escolhidos apontou conclusões acerca da utilização dos sistemas de microcosmos, mostrando que as propriedades do solo não sofreram influência da injeção do CO<sub>2</sub>, no entanto, sofreram alterações em seu valor ao longo do tempo de maneira similar. Foi possível perceber que aos 160 dias de incubação já não há quase influência nas comunidades microbianas e mudança nos parâmetros estudados. Também foi possível concluir que os parâmetros físicos e químicos escolhidos são pouco sensíveis para comprovar que o CO<sub>2</sub> interfere ou não nas características do solo para este tipo de ensaio.

As conclusões obtidas neste trabalho servem como base para futuros estudos, pois não descartaram o uso de microcosmos, mas indicam que os parâmetros escolhidos não apresentam resultados suficientes, uma vez que nestas condições de ensaio não comprovaram a eficácia do experimento em microcosmos para a detecção de CO<sub>2</sub>.

## 7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Apesar da hipótese levantada sobre a utilização de microcosmos para a injeção controlada de CO<sub>2</sub> não ter sido comprovada a partir dos resultados das mudanças nos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos estudados, a literatura reforça que os ensaios em microcosmos são importantes e devem ser estudados para diversas finalidades, dentre elas o biomonitoramento aliado às técnicas de MMV. Para isto, sugere-se o desenvolvimento de outros trabalhos, tais como:

- Utilização das mesmas condições de ensaio, mas com períodos de monitoramento diferentes, visto que em 160 dias já não se observa mais a influência dos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos nas amostras.
- Utilização de técnicas mais robustas e precisas para o monitoramento biológico tais como o sequenciamento genômico para a determinação das comunidades microbianas.
- Implementação de um sistema de amostragem em diferentes alturas em colunas, não somente na superfície.
- Estudo mais detalhado e implementação de métodos mais efetivos no monitoramento da saturação do sistema.
- Controle e alteração de parâmetros tais como temperatura e vazão.
- Publicações de artigos científicos que sirvam como base de estudo na área de biomonitoramento de vazamento de CO<sub>2</sub> a partir da utilização de colunas de microcosmos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINETTO, D., FLECK, N. G., RIZZARDI, M. A., BALBINOT JUNIOR, A. A.. Potencial de emissão de metano em lavouras de arroz irrigado. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1073-1081, 2002.

AMERICAN PUBLISH HEALTH ASSOCIATION - APHAa. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Part 9000. NT 9215. American Water Works Association. Water Environment Federation. 20th Ed. 1998.

AMERICAN PUBLISH HEALTH ASSOCIATION - APHAb. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. NT 2580. American Water Works Association. Water Environment Federation. 20th Ed. 1998.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard Test Method for pH of Soils**. ASTM D4972-13. West Conshohocken, PA, USA. 2013.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard Test Methods for Moisture, Ash, and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils**. ASTM D2974-14. West Conshohocken, PA, USA. 2014.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM. **Standard Test Methods for Laboratory Determination of Water (moisture) Content of Soil and Rock by Mass**. D2216-10. West Conshohocken, PA, USA. 2010.

ARAÚJO, A. S. F., MONTEIRO R. T. R. Indicadores Biológicos de Qualidade do Solo. **Biosci. J.**, Uberlândia; 2007. v. 23, n. 3, p. 66-75.

ARAUJO, L. B. **Estudo de emissões de gases em colunas de solo simulando camadas de cobertura oxidativa de aterro sanitário**. Recife. 2014. Dissertação (Mestre em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia. Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

ABNT. **NBR 10223** Águas Minerais e de Mesa – Determinação da Condutividade, 1988.

BASSO, J. B. **Migração de K<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup> e Cl<sup>-</sup> em solos do subgrupo Itararé no Estado de São Paulo**: ensaios sorcivos, percolação em colunas e simulações geoquímicas. 2010. 189 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 2010.

BERTUOL, F.; BRESSANI, L. A.; BICA, A. V. D. Desenvolvimento de um amostrador para solos de baixa consistência. In: **V Seminário de Engenharia Geotécnica do Rio Grande do Sul**, 2009, Pelotas. Anais do V Seminário de Engenharia Geotécnica do Rio Grande do Sul, 2009.

BORNEMAN J, TRIPLETT E. W. Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. **Appl Environ Microbiol**. V. 63, n.7, p. 2647-2653. 1997.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. Elementos da natureza e propriedades dos solos. 3.ed. Porto Alegre: **Bookman**, 2013. 704p.

BRASIL. Saiba o que é o Acordo de Paris, ratificado pelo governo nesta segunda-feira. Disponível em: <<http://www2.planalto.gov.br/acompanhe-planalto/noticias/2016/09/saiba-o-que-e-o-acordo-de-paris-ratificado-pelo-governo-nesta-segunda-feira>>. Acesso em 15 de setembro de 2016.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil. 2 ed. Brasília. 2014. Disponível e: <[http://www.mct.gov.br/upd\\_blob/0235/235580.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0235/235580.pdf)>. Acesso em: 20 maio 2016.



BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Efeito estufa e aquecimento global. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/comunicacao/item/195-efeito-estufa-e-aquecimento-global>>. Acesso em: 18 maio 2015.

BROMLY, M.; HINZ, C.; AYLMOORE, L. A. G. Relation of dispersivity to properties of homogeneous saturated repacked soil columns. **European journal of soil science**, v. 58, n. 1, p. 293-301, 2007.

CAPUTO, H. P. **Mecânica do solo e suas aplicações**: Fundamentos. 6ª. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1988. 234p.

CAMARGO, F. A. O.; SANTOS, G. A.; ZONTA, E. Alterações eletroquímicas em solos inundados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p.171-180, jan/mar. 1999.

CASTILHOS, R. M. V., DICK, D. P., CASTILHOS, D. D., MORSELLI, T. B. A. G., DA COSTA, P. F. P., CASAGRANDE, W. B., DA ROSA, C. M. Conteúdo e características de substâncias húmicas em vermicompostos. In: **Reunião Sulbrasileira de Ciência do Solo**, 5. (Anais...) Florianópolis: 2004, SBCS.

CHAER, G. M., GAIAD, S., DOS SANTOS, A. B., GROCHOSKI, R.. Caracterização Microbiológica do Solo. Embrapa. 2014. Disponível em: < <https://bit.ly/2I1c7Xt> >. Acesso em 19 de março de 2015.

CENTRO DE EXCELÊNCIA E PESQUISA SOBRE ARMAZENAMENTO DE CARBONO- CEPAC. 2009. Disponível em: <[http://www.pucrs.br/cepac/download/CEPAC\\_FOLHETO.pdf](http://www.pucrs.br/cepac/download/CEPAC_FOLHETO.pdf)>. Acesso em 22 de março de 2015.

COELHO, M. R., FIDALGO, E. C., DOS SANTOS, H. G., BREFIN, M. L. M. S., PÉREZ, D. V. **Solos**: tipos, suas funções no ambiente, como se formam e sua relação com o crescimento das plantas. 2013. Disponível em: < <https://bit.ly/2JZcAv8> >. Acesso em 18 de abril de 2016.

COMISSÃO EUROPEIA. **Garantir Uma Utilização Segura da Captura e Armazenamento de Dióxido de Carbono na Europa**. 2009. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/clima/publications/docs/factsheet\\_ccs\\_pt.pdf](http://ec.europa.eu/clima/publications/docs/factsheet_ccs_pt.pdf)>. Acesso em 22 de março de 2015.

COSTA, J. B. **Caracterização e Constituição do Solo**. 7<sup>a</sup> ed. Lisboa: Editora da Fundação Calouste Gulbenkian. 2004.

CRAVEIRO, K. D. E, D. **Well Logging Analysis**: Análise de diagrfias em poços na bacia de Rio Grande do Norte. Lisboa. 2013. 79p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Geológica de Minas). Instituto Superior Técnico, Portugal.

DARKSKY. Disponível em: <https://darksky.net/details/-30.0819,-51.0262/2016-9-2/si12/en>. Acesso em: 02/03/2017.

DE ARAÚJO, Ademir Sérgio Ferreira; MONTEIRO, Regina Teresa Rosim. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, 2007.

ESTEVES, V. P. P.; MORGADO, C. R. V. Captura e Sequestro Geológico de Carbono- Tecnologias e Perspectivas para Utilização no Brasil. In: **XXX Encontro Nacional de Engenharia de Produção (ENEGEP)**. 2010. São Carlos Disponível em: <[http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2010\\_TN\\_STO\\_121\\_785\\_16424.pdf](http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2010_TN_STO_121_785_16424.pdf)>. Acesso em 27 de março de 2015.

FERNANDO, A. F. B. **Fe (III) como acceptor de elétrons na biodegradação de gasolina-etanol em solo tropical residual**. 2009. 143 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

FETTER C. W. **Contaminant hydrogeology**. Nova Iorque: Macmillan Publishing Company, 1992. 484p.

FUNDAÇÃO BRASILEIRA PARA O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL – FBDS. 1º Seminário Brasileiro sobre CSS- Carbon Dioxide Capture and Storage: Um debate sobre os desafios dessa nova tecnologia. 2009. Disponível em: <<http://www.fbds.org.br/fbds/IMG/pdf/doc-506.pdf>>. Acesso em 19 de março de 2015.

GOTELLI, N. J., AARON M. E. **Princípios de Estatística em Ecologia**. Porto Alegre: ARTMED, 2011.

GROTZINGER, J., JORDAN, T. **Para entender a terra**. 6ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 768p.

HAMMER, HARPER, D. A. T., RYAN, P.D. **PAST**: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4:9. 2001.

HELGASON, B. L., KONSCHUH, H. J., BEDHARD-HAUGHN, A., VANDENBYGAART, A. J., VANDENBYGAART, A. J. Microbial distribution in an eroded landscape: buried A horizons support abundant and unique communities. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 196, p. 94-102, 2014.

HOFFMAN, Fernando Leite. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001.

INPE. Clima monitoramento Brasil – CPTEC. Disponível em: <<https://www.cptec.inpe.br>> > Acesso em: 02/03/2017.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE- IPCC. **IPCC Special Report on Carbon Dioxide Capture and Storage**. Prepared by Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, New York. 2005.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE- IPCC. **Climate Change 2014 Mitigation of Climate Change**. Prepared by Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, New York.

2014.

KETZER J. M., IGLESIAS R.S., EINLOFT S. Reducing Greenhouse Gas Emissions with CO<sub>2</sub> Capture and Geological Storage. In: Chen W-Y, Suzuki T, Lackner M, editors. **Handbook of Climate Change Mitigation and Adaptation** [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2015. p. 1–40.

KIEHL, J.C. Nitrogênio: Dinâmica e disponibilidade no solo. In: **Curso de atualização em fertilidade do solo**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.139-157.

KIGHTLEY, D.; NEDWELL, D. B.; COOPER, M. Capacity for methane oxidation in landfill cover soils measured in laboratory-scale soil microcosms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 2, p. 592-601, 1995.

KRAUSE, Philipe Barroso. **Estudo de Alternativa de Transporte de CO<sub>2</sub> em Dutos**. Rio de Janeiro. 2011. 106p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

LEWIS, J.; SJÖSTROM, J. Optimizing the experimental design of soil columns in saturated and unsaturated transport experiments. **Journal of contaminant hydrology**, v. 115, n. 1, p. 1-13, 2010.

LICKS, L. A. S. **Avaliação do processo de captura de dióxido de Carbono por absorção química visando a aplicação em Termelétricas a carvão no Brasil**. Porto Alegre. 2008. 96p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., BENDER, K. S., BUCKLEY, D. H., STAHL, D. **Microbiologia de Brock**, 14th edição. ArtMed, 01/01/2016. [MINHA BIBLIOTECA].

MARTINS, M. A. **Microbiologia do Solo**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-UENF. 2014. Disponível em: <[www.uenf.br/Uenf/Downloads/LSOL\\_345\\_1113400965.pdf](http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/LSOL_345_1113400965.pdf)>. Acesso em 22 de

março de 2015.

MELO, C. L. **Técnicas de Monitoramento para Armazenamento Geológico de CO<sub>2</sub>**. I Curso Básico- Compreendendo a Captura e o Armazenamento de Carbono. 2012. Disponível em: <[http://www.pucrs.br/cepac/download/1ccac/16\\_Monitoramento\\_CO2\\_Superficie\\_-\\_Clarissa\\_Melo.pdf](http://www.pucrs.br/cepac/download/1ccac/16_Monitoramento_CO2_Superficie_-_Clarissa_Melo.pdf)>. Acesso em 25 de março de 2016.

MELO, C. L.; MOREIRA, A. C. de C. A.; GOUDINHO, F. S.; BRESSAN, L. W.; CONSTANT, M. J.; OLIVA, A.; CHANG, H. K.; NAKAEMA, W. M.; VINTER, D. P.; KETZER, J. M. M.; do ROSÁRIO, F.; MUSSE, A. P. S. CO<sub>2</sub>MOVE Project: The New Brazilian Field Lab Fully Dedicated to CO<sub>2</sub> MMV Experiments. **Energy Procedia**. 2017; n. 114 p. 3699 – 3715.

MEURER, E.J; ANGHINONI, I. Fundamentos da Química do Solo. 5ª ed. Porto Alegre: Evangraf. 2012.

MICHAEL, J.; GOLAB, A.; SHULAKOVA, V.; ENNIS-KING, J.; ALLINSON, G.; SHARMA, S.; AIKEN, T. Geological storage of CO<sub>2</sub> in saline aquifers — A review of the experience from existing storage operations. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v. 4, p. 659 -667, 2010.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 398 p.

MONDELLI, G. **Investigação Geoambiental em Áreas de Disposição de Resíduos Sólidos Urbanos Utilizando a Tecnologia do Piezocone**. São Paulo. 2004. 391p. Dissertação (Mestre em Engenharia). Escola Politécnica. Universidade São Paulo – USP.

MOREIRA A. C. C. A.; ROSÁRIO F. MELO C. L.; BRESSAN L. W.; LANDULFO E.;

NAKAEMA. W. M.; OLIVA A.; KIANG C. H.; PEDROTTI E. L.; LAZZARIN H. S. C Implantação do primeiro laboratório de campo no Brasil para condução de experimentos de liberação controlada de CO<sub>2</sub> e avaliação de técnicas de MMV. In: **2º Congresso Brasileiro de CO<sub>2</sub> na Indústria de Petróleo, Gás e Biocombustíveis: 2013**, Rio de Janeiro. Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis - IBP (Anais ...). Rio de Janeiro: Abril, 2013, p. 1-10.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª. Ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

MONTGOMERY, D. C., RUNGER, G. C. **Estatística Aplicada e Probabilidade para Engenheiros**, 6ª edição. LTC, 09/2016. [Minha Biblioteca].

MUKAKA, M.M. Statistics Corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. **Malawai Medical Journal**. 2012.

NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY- NETL. Best Practices for: Monitoring, Verification Accounting of CO<sub>2</sub> Stored in Deep Geologic Formations. DOE/NTEL-311/081508. 2009.

NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY- NETL. **Permanence and safety of CCS**. 2016. Disponível em: <  
<https://www.netl.doe.gov/research/coal/carbon-storage/carbon-storage-faqs/how-is-a-co2-storage-site-monitored>>. Acesso em 14 de setembro de 2016.

NATIONAL GEOGRAPHIC SOCIETY. Greenhouse Effect. Disponível em: <  
<http://nationalgeographic.org/encyclopedia/greenhouse-effect/>>. Acesso em 16 de setembro de 2016.

NOBLE, R. R. P., STALKER, L., WAKELIN, S. A., PEJCIC, B., LEYBOURNE, M. I., HORTLE, A. L., MICHAEL, K. Biological monitoring for carbon capture and storage: A review and potential future developments. **Greenhouse Gas Control**, v. 10, p.520-535, 2012.

NUNAN N.; WU K.; YOUNG I. M., CRAWFORD, J. W., RITZ, K. Spatial distribution of bacterial communities and their relationships with the micro-architecture of soil. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 44, n. 2, p. 203-215, 2003.

OLIVEIRA, F. E. **Estatística e Probabilidade**: Exercícios Resolvidos e Propostos, 3ª edição. LTC, 05/2017. [Minha Biblioteca].

ÖSTERREICHER-CUNHA, P., MOLINARO, B. S., FEIJÓ, I. V. A., VARGAS JUNIOR, E. A. (GUIMARÃES, J. R. D. Experimental evaluation of CO<sub>2</sub> percolation effects on subsurface soil microbiota. **International Journal of Greenhouse Gas Control**, v.32, p. 135-146, 2015.

PAIXÃO, M. S. G. **Análise da acurácia das estimativas de posicionamento do nível freático e dos teores de umidade do solo com o emprego dos métodos de sísmica de refração rasa e georadar a partir de um estudo no campus da USP, São Paulo/SP**. São Paulo. 2005. 117p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Geofísica). Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas. Universidade São Paulo – USP.

PARAGUASSU, M. M. **Proposta de Metodologia Qualitativa para Avaliação de Riscos no Armazenamento Geológico de CO<sub>2</sub>**: Um Estudo de Caso Ilustrativo do Campo Fazenda Mamoeiro na Bacia do Recôncavo. Salvador. 2012. 181p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial). Universidade Federal da Bahia.

PARKER, M. E., MEYER, J. P., MEADOWS, S. R. Carbon Dioxide Enhanced Oil Recovery Injection Operations Technologies (Poster Presentation). **Energy Procedia**, v. 1, 2009, p. 3141 – 3148.

PIERCE, L., SJÖGERSTEN, S., Effects of below ground CO<sub>2</sub> emissions on plant and microbial communities. **Plant Soil** 325, 197–205, 2009.

QUANTACHROME, **Instruments. Multipycnometer**: Operating Manual P/N 05034,

2012.

RACHOR, I., GEBERT, J., GRÖNGRÖFT, A., PFEIFFER, E. M. Assessment of the methane oxidation capacity of compacted soils intended for use as landfill cover materials. **Waste management**, v. 31, n. 5, p. 833-842, 2011.

RIBEIRO, D. P.; MARTINEZ, M. A.; MATOS, A. T.; RUIZ, H. A.; PERREIRAS, M. S. N.; CECON, P. R. Relação da velocidade de escoamento da solução e do comprimento da coluna de solo com os parâmetros de transporte de potássio em um latossolo e um neossolo. **R. Bras. Ci. Solo**, Viçosa; 2011 n.35, p.1907-1916.

ROH C., VILLATTE, F., KIM, B., SCHMID, R. D. Comparative study of methods for extraction and purification of environmental DNA from soil and sludge samples. **Appl Biochem Biotechnol**. v.134, n. 2, p. 97-112, 2006.

RÜTTERS, H., MÖLLER, I., MAY, F., FLORNES, K., HLADIK, V., ARVANITIS, A., GÜLEC, N., BAKILER, C., DUDU, A., KUCHARIC, L., JUHOJUNTTI, N., SHOGENOVA, A., GEORGIEV, G. State-of-art of monitoring methods to evaluate CO<sub>2</sub> storage site performance. In: **CGS Europe report**. n. D3.3, 109 p. 2013.

SALVATIERRA, C. M. **Microbiologia: Aspectos Morfológicos, Bioquímicos e Metodológicos**. Érica, 06/2014. [MINHA BIBLIOTECA].

SARDINHA, M. **Captura de CO<sub>2</sub> na Central Termoelétrica a Carvão do Pego no Contexto Energético Português**. Lisboa. 2010. 128 p. Tese (Mestrado em Engenharia da Energia e do Ambiente). Universidade de Lisboa, Portugal.

SILVA, J. **Cor, Porosidade e Textura determinam tipo de uso dos solos**. 2009. Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2009/11/cor-porosidade-e-textura-determinam-tipo-de-uso-dos-solos>>. Acesso em 06 de julho de 2015.

SIQUEIRA, J. O., MOREIRA, F. M. de S., GRISI, B. M., HUNGRIA, M., ARAUJO, R.



S. *Microrganismos e Processos Biológicos do Solo: Perspectiva Ambiental*. **Embrapa**. Brasília. 1994. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/199962/microrganismos-e-processos-biologicos-do-solo-perspectiva-ambiental>>. Acesso em 22 de março de 2015.

TARKOWSKI, R.; KRÓLIK, W.; ULIASZ-MISIAK, B.; BARABASZ, W. **Biomonitoring as a tool to detect CO<sub>2</sub> leakage from underground storage**. The 8th International Conference on Greenhouse Gas Control Technologies, Polônia ; 2006. p. 19–22.

TARKOWSKI, R., W. KRÓLIK, B. ULIASZ-MISIAK, AND W. BARABASZ. Indicative microorganisms as a tool for testing the underground storage of carbon dioxide, in M. Grobe, J. C. Pashin, and R. L. Dodge, eds., **Carbon dioxide sequestration in geological media—State of the science: AAPG Studies in Geology**. 2009, n.59, p. 637–642.

TONIN, Fabio. **Amostragem de Solo**. Faculdade Sudoeste Paulista. 2013. Disponível em: <<https://engenhariacivilfsp.files.wordpress.com/2013/04/aula-5-e-6-amostragem-de-solo.pdf>>. Acesso em 14 de abril de 2016.

WANG, S., MA, J., XUE, L., ZHU, X., LIU, D., MA, J., HUANG, C., YU, H., JIANG, S. Simulation experiment research of the impact of CO<sub>2</sub> leakage from geological storage on soil microbes. **Energy Procedia**, v.63, p. 3220-3224, 2014.

WILSHUSEN, J. H.; HETTIARATCHI, J. P. A.; STEIN, V. B. Long-term behavior of passively aerated compost methanotrophic biofilter columns. **Waste Management**, v. 24, n. 7, p. 643-653, 2004.

## APÊNDICES

## APÊNDICE A: ACOMPANHAMENTO DO ENSAIO DE UFC PARA OS PONTOS 8, 9 E 10

Tabela A.1. Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) dos pontos 8, 9 e 10 de diferentes profundidades do solo em abril de 2015 em diferentes períodos de incubação.

Ponto	Profundidade (m)	UFC (UFC.mL <sup>-1</sup> )			
		24h	48h	72h	144h
8	0 - 1,15m (superfície)	4,24E+05	4,48E+05	4,66E+05	4,84E+05
	3 - 4,15m (intermediária)	1,20E+03	4,59E+04	2,20E+05	2,60E+05
	4,5 - 5,65m (junto à rocha mãe)	1,83E+03	2,05E+05	6,87E+05	7,93E+05
9	0 - 1,15m (superfície)	8,72E+03	4,48E+04	9,54E+04	1,37E+05
	3 - 4,15m (intermediária)	2,17E+02	1,82E+04	3,45E+04	6,45E+04
	4,5 - 5,65m (junto à rocha mãe)	0,00E+00	2,60E+04	5,10E+04	8,15E+04
10	0 - 1,15m (superfície)	*	7,93E+03	2,75E+04	5,29E+04
	3 - 4,15m (intermediária)	0,00E+00	3,12E+04	5,30E+04	9,35E+04
	4,5 - 5,65m (junto à rocha mãe)	0,00E+00	2,88E+04	4,89E+04	6,52E+04

\* Não analisado

## APÊNDICE B: RESUMO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS PONTOS 8, 9 E 10

Tabela B.1. Resumo da Análise da variância do parâmetro pH para os pontos 8, 9 e 10.

Causas	SQ	GL	QM	F
Tratamento	0,371	2	0,185	17,257*
Tempo	0,807	3	0,269	25,032*
Tratamento x Tempo	0,601	6	0,100	9,326*
Resíduo	0,236	22	0,011	
TOTAL	2,016	33		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm – Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro B.1. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro pH exibindo os cruzamentos de dados realizados em diferentes amostras e os diferentes períodos de coleta.

	8A	9A	10A	8C	9C	10C	8D	9D	10D	8E	9E	10E
8A	<b>0</b>	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1
9A		<b>0</b>	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1
10A			<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	0
8C				<b>0</b>	0	0	0	0	0	1	0	0
9C					<b>0</b>	0	0	0	0	1	0	0
10C						<b>0</b>	0	0	0	1	0	0
8D							<b>0</b>	0	0	0	1	1
9D								<b>0</b>	0	1	0	0
10D									<b>0</b>	1	1	0
8E										<b>0</b>	1	1
9E											<b>0</b>	1
10E												<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela B.2. Resumo da Análise da variância do parâmetro condutividade para os pontos 8, 9 e 10.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	0,134	2	0,067	52,189*
Tempo	0,629	3	0,210	163,159*
Tratamento x Tempo	0,041	6	0,007	5,293*
Resíduo	0,027	21	0,001	
<b>TOTAL</b>	<b>0,831</b>	<b>32</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR);  
 Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro B.2. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro Condutividade exibindo os cruzamentos de dados realizados em diferentes amostras e os diferentes períodos de coleta.

	8A	9A	8C	9C	10C	8D	9D	10D	8E	9E	10E
8A	<b>0</b>	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1
9A		<b>0</b>	0	0	1	1	0	1	1	0	1
8C			<b>0</b>	0	1	1	0	1	1	0	1
9C				<b>0</b>	0	1	0	1	1	0	1
10C					<b>0</b>	0	1	0	0	1	0
8D						<b>0</b>	1	0	1	1	0
9D							<b>0</b>	1	1	0	1
10D								<b>0</b>	1	1	0
8E									<b>0</b>	1	1
9E										<b>0</b>	1
10E											<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela B.3. Resumo da Análise da variância do parâmetro Redox para os pontos 8, 9 e 10.

Causas	SQ	GL	QM	F
Tratamento	5094,942	2	2547,471	11,514*
Tempo	2217,906	3	739,302	3,342*
Tratamento x Tempo	4844,725	6	807,454	3,65*
Resíduo	4424,965	20	221,248	
<b>TOTAL</b>	<b>16582,538</b>	<b>31</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR);  
 Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro B.3. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro Redox exibindo os cruzamentos de dados realizados em diferentes amostras e os diferentes períodos de coleta.

	8A	9A	8C	9C	10C	8D	9D	10D	8E	9E	10E
8A	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9A		<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8C			<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	1	1
9C				<b>0</b>	0	0	0	0	1	0	0
10C					<b>0</b>	0	0	0	0	0	0
8D						<b>0</b>	0	0	0	1	1
9D							<b>0</b>	0	0	0	0
10D								<b>0</b>	0	0	0
8E									<b>0</b>	1	1
9E										<b>0</b>	1
10E											<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela B.4. Resumo da Análise da variância do parâmetro Teor de Umidade (H) para os pontos 8, 9 e 10.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	212,802	2	106,401	159,036*
Tempo	131,951	2	65,976	98,613*
Tratamento x Tempo	74,100	4	18,525	27,689*
Resíduo	10,036	15	0,669	
<b>TOTAL</b>	<b>428,89</b>	<b>23</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro B.4. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro Teor de Umidade (H) exibindo os cruzamentos de dados realizados em diferentes amostras e os diferentes períodos de coleta.

	10A	8C	9C	10C	8D	9D	10D	8E	9E	10E
10A	<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8C		<b>0</b>	1	1	0	1	1	1	0	0
9C			<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1
10C				<b>0</b>	1	0	1	1	1	0
8D					<b>0</b>	1	1	1	0	1
9D						<b>0</b>	1	1	1	1
10D							<b>0</b>	0	1	1
8E								<b>0</b>	1	1
9E									<b>0</b>	1
10E										<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela B.5. Resumo da Análise da variância do parâmetro Teor de Cinzas (TC) e de Matéria Orgânica\* para os pontos 8, 9 e 10.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	0,521	2	0,261	2,003**
Tempo	0,581	2	0,291	2,234**
Tratamento x Tempo	0,098	4	0,024	0,188**
Resíduo	1,952	15	0,130	
<b>TOTAL</b>	<b>3,152</b>	<b>23</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\*Conforme equação 4.3 a Matéria Orgânica é obtida pela diferença de Teor de cinzas, portanto, a análise estatística é a mesma.

\*\* Amostra não apresentou diferenças significativas de 5%.



## APÊNDICE C: RESUMO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS EM MICROCOSMOS COM SOLO INSATURADO

Tabela C.1. Resumo da Análise da variância do parâmetro pH para os ensaios em microcosmos com solo insaturado.

Causas	SQ	GL	QM	F
Tratamento	0,359	3	0,12	11,355*
Tempo	8,831	3	2,944	279,459*
Tratamento x Tempo	0,337	9	0,037	3,556*
Resíduo	0,295	28	0,011	
<b>TOTAL</b>	<b>9,823</b>	<b>43</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro C.1. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro pH exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo insaturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B1-4d	C1-4d	C2-4d	C3-4d	B1-80d	C1-80d	C2-80d	C3-80d	B1-160d	C1-160d	C2-160d	C3-160d
ZERO	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
B1-4d		0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0
C1-4d			0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
C2-4d				0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
C3-4d					0	1	1	1	1	0	1	1	1
B1-80d						0	0	0	0	1	0	0	0
C1-80d							0	0	0	1	1	1	1
C2-80d								0	0	1	1	1	1
C3-80d									0	1	0	0	0
B1-160d										0	0	0	0
C1-160d											0	0	0
C2-160d												0	0
C3-160d													0

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela C.2. Resumo da Análise da variância do parâmetro Condutividade para os ensaios em microcosmos com solo insaturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	0,047	3	0,016	8,467*
Tempo	0,922	3	0,307	167,808*
Tratamento x Tempo	0,055	9	0,006	3,321*
Resíduo	0,051	28	0,002	
<b>TOTAL</b>	<b>1,075</b>	<b>43</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro C.2. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro Condutividade exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo insaturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B1-4d	C1-4d	C2-4d	C3-4d	B1-80d	C1-80d	C2-80d	C3-80d	B1-160d	C1-160d	C2-160d	C3-160d
ZERO	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
B1-4d		<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
C1-4d			<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
C2-4d				<b>0</b>	0	0	0	0	0	1	1	1	1
C3-4d					<b>0</b>	0	0	0	0	1	1	1	1
B1-80d						<b>0</b>	0	0	0	1	1	1	1
C1-80d							<b>0</b>	0	0	1	1	1	1
C2-80d								<b>0</b>	0	1	1	1	1
C3-80d									<b>0</b>	1	1	1	1
B1-160d										<b>0</b>	1	1	1
C1-160d											<b>0</b>	0	0
C2-160d												<b>0</b>	0
C3-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela C.3. Resumo da Análise da variância do parâmetro Redox para os ensaios em microcosmos com solo insaturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	1029,190	3	343,063	4,406*
Tempo	113064,274	3	37688,091	484,032*
Tratamento x Tempo	1508,330	9	167,592	2,152*
Resíduo	2180,158	28	77,863	
<b>TOTAL</b>	<b>117781,952</b>	<b>43</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro C.3. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro Redox exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo insaturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B1-4d	C1-4d	C2-4d	C3-4d	B1-80d	C1-80d	C2-80d	C3-80d	B1-160d	C1-160d	C2-160d	C3-160d
ZERO	<b>0</b>	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
B1-4d		<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
C1-4d			<b>0</b>	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C2-4d				<b>0</b>	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C3-4d					<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1	1
B1-80d						<b>0</b>	0	0	0	1	1	0	0
C1-80d							<b>0</b>	0	0	1	1	0	0
C2-80d								<b>0</b>	0	1	1	0	0
C3-80d									<b>0</b>	1	1	0	0
B1-160d										<b>0</b>	0	1	0
C1-160d											<b>0</b>	0	0
C2-160d												<b>0</b>	0
C3-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela C.4. Resumo da Análise da variância do parâmetro Teor de Umidade para os ensaios em microcosmos com solo insaturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	54,665	3	18,222	38,753*
Tempo	387,628	3	129,209	274,797*
Tratamento x Tempo	40,819	9	4,535	9,646*
Resíduo	10,814	23	0,470	
<b>TOTAL</b>	<b>493,925</b>	<b>38</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro C.4. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro Teor de Umidade exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo insaturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B1-4d	C1-4d	C2-4d	C3-4d	B1-80d	C1-80d	C2-80d	C3-80d	B1-160d	C1-160d	C2-160d	C3-160d
ZERO	<b>0</b>	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
B1-4d		<b>0</b>	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C1-4d			<b>0</b>	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C2-4d				<b>0</b>	1	1	1	1	1	0	1	1	1
C3-4d					<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1	1
B1-80d						<b>0</b>	0	1	0	1	0	1	0
C1-80d							<b>0</b>	0	0	1	0	0	0
C2-80d								<b>0</b>	1	1	0	0	0
C3-80d									<b>0</b>	1	0	1	0
B1-160d										<b>0</b>	1	1	1
C1-160d											<b>0</b>	0	0
C2-160d												<b>0</b>	0
C3-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela C.5. Resumo da Análise da variância para o teor de matéria orgânica e matéria mineral (como teor de cinzas) para os ensaios em microcosmos com solo insaturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	0,178	3	0,059	1,723*
Tempo	44,511	3	14,837	431,623*
Tratamento x Tempo	0,223	9	0,025	0,721*
Resíduo	0,825	24	0,034	
<b>TOTAL</b>	<b>45,737</b>	<b>39</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro C.5. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro para o teor de matéria orgânica e matéria mineral (como teor de cinzas) exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo insaturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B1-4d	C1-4d	C2-4d	C3-4d	B1-80d	C1-80d	C2-80d	C3-80d	B1-160d	C1-160d	C2-160d	C3-160d
ZERO	<b>0</b>	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
B1-4d		<b>0</b>	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C1-4d			<b>0</b>	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C2-4d				<b>0</b>	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C3-4d					<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1	1
B1-80d						<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0
C1-80d							<b>0</b>	0	0	0	0	0	0
C2-80d								<b>0</b>	0	0	0	0	0
C3-80d									<b>0</b>	0	0	0	0
B1-160d										<b>0</b>	0	0	0
C1-160d											<b>0</b>	0	0
C2-160d												<b>0</b>	0
C3-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

## APÊNDICE D: RESUMO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS EM MICROCOSMOS COM SOLO SATURADO

Tabela D.1. Resumo da Análise da variância do parâmetro pH para os ensaios em microcosmos com solo saturado.

Causas	SQ	GL	QM	F
Tratamento	0,164	3	0,055	5,748*
Tempo	2,874	3	0,958	100,699*
Tratamento x Tempo	0,228	9	0,025	2,667*
Resíduo	0,266	28	0,010	
<b>TOTAL</b>	<b>3,532</b>	<b>43</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro D.1. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro pH exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo saturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B2-4d	C4-4d	C5-4d	C6-4d	B2-80d	C4-80d	C5-80d	C6-80d	B2-160d	C4-160d	C5-160d	C6-160d
ZERO	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1
B2-4d		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C4-4d			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C5-4d				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C6-4d					0	0	0	0	0	0	0	0	0
B2-80d						0	0	0	0	0	0	0	0
C4-80d							0	0	0	1	1	0	1
C5-80d								0	0	1	1	0	1
C6-80d									0	0	0	0	0
B2-160d										0	0	0	0
C4-160d											0	0	0
C5-160d												0	0
C6-160d													0

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais .

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela D.2. Resumo da Análise da variância do parâmetro condutividade para os ensaios em microcosmos com solo saturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	0,050	3	0,017	6,931*
Tempo	0,473	3	0,158	65,570*
Tratamento x Tempo	0,325	9	0,036	15,024*
Resíduo	0,0673	28	0,002	
<b>TOTAL</b>	<b>0,915</b>	<b>43</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro D.2. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro condutividade exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo saturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B2-4d	C4-4d	C5-4d	C6-4d	B2-80d	C4-80d	C5-80d	C6-80d	B2-160d	C4-160d	C5-160d	C6-160d
ZERO	<b>0</b>	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
B2-4d		<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0
C4-4d			<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
C5-4d				<b>0</b>	0	0	0	0	0	1	1	1	1
C6-4d					<b>0</b>	0	0	0	0	1	1	1	1
B2-80d						<b>0</b>	0	0	0	1	1	1	1
C4-80d							<b>0</b>	0	0	1	1	1	1
C5-80d								<b>0</b>	0	1	1	0	1
C6-80d									<b>0</b>	1	1	1	1
B2-160d										<b>0</b>	0	0	0
C4-160d											<b>0</b>	0	0
C5-160d												<b>0</b>	1
C6-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela D.3. Resumo da Análise da variância do parâmetro redox para os ensaios em microcosmos com solo saturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	1554,963	3	518,321	4,447*
Tempo	30465,758	3	10155,253	87,126*
Tratamento x Tempo	5317,281	9	590,809	5,069*
Resíduo	3263,628	28	116,558	
<b>TOTAL</b>	<b>40601,630</b>	<b>43</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro D.3. Matriz binária do teste Tukey do parâmetro redox exibindo os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo saturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B2-4d	C4-4d	C5-4d	C6-4d	B2-80d	C4-80d	C5-80d	C6-80d	B2-160d	C4-160d	C5-160d	C6-160d
ZERO	<b>0</b>	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
B2-4d		<b>0</b>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
C4-4d			<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C5-4d				<b>0</b>	0	1	1	1	1	1	0	0	0
C6-4d					<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	1
B2-80d						<b>0</b>	0	0	0	0	0	1	1
C4-80d							<b>0</b>	0	0	0	1	1	1
C5-80d								<b>0</b>	0	0	0	1	1
C6-80d									<b>0</b>	0	0	1	1
B2-160d										<b>0</b>	0	1	1
C4-160d											<b>0</b>	0	0
C5-160d												<b>0</b>	0
C6-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.



Tabela D.4. Resumo da Análise da variância o teor de umidade para os ensaios em microcosmos com solo saturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	162,750	3	54,250	65,534*
Tempo	65,826	3	21,942	26,506*
Tratamento x Tempo	600,175	9	66,686	80,558*
Resíduo	20,695	25	0,828	
<b>TOTAL</b>	<b>849,446</b>	<b>40</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR); Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\* Amostra com diferenças significativas de 5%.

Quadro D.4. Matriz binária do teste Tukey do teor de umidade os cruzamentos de dados realizados nas amostras do ensaio em microcosmos com solo saturado e os diferentes períodos de coleta.

	ZERO	B2-4d	C4-4d	C5-4d	C6-4d	B2-80d	C4-80d	C5-80d	C6-80d	B2-160d	C4-160d	C5-160d	C6-160d
ZERO	<b>0</b>	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
B2-4d		<b>0</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C4-4d			<b>0</b>	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C5-4d				<b>0</b>	0	1	1	1	1	1	1	1	1
C6-4d					<b>0</b>	1	1	1	1	0	0	1	1
B2-80d						<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0
C4-80d							<b>0</b>	0	0	0	0	0	0
C5-80d								<b>0</b>	0	0	0	0	0
C6-80d									<b>0</b>	1	0	0	0
B2-160d										<b>0</b>	0	0	0
C4-160d											<b>0</b>	0	0
C5-160d												<b>0</b>	0
C6-160d													<b>0</b>

0 - significa sem diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

1 - significa com diferenças significativas de 5% entre as combinações amostrais.

Tabela D.5. Resumo da Análise da variância para o teor de matéria orgânica e matéria mineral (como teor de cinzas) para os ensaios em microcosmos com solo saturado.

<b>Causas</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
Tratamento	2,505	3	0,835	0,706**
Tempo	27,523	3	9,174	7,760**
Tratamento x Tempo	8,458	9	0,940	0,795**
Resíduo	26,010	22	1,182	
<b>TOTAL</b>	<b>64,496</b>	<b>37</b>		

SQ – Soma dos Quadrados; GL – Graus de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Teste F (QM/QMR);

Qm - Média dos Quadrados; QMR – Média dos Quadrados do Resíduo.

\*\*Amostra não apresentou diferenças significativas de 5%.



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Pró-Reitoria de Graduação  
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar  
Porto Alegre - RS - Brasil  
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564  
E-mail: [prograd@pucrs.br](mailto:prograd@pucrs.br)  
Site: [www.pucrs.br](http://www.pucrs.br)