

10

Pirólise Associada à Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa Aplicada a Estudos de Caracterização Química da Matéria Orgânica do Solo

Flávia Aparecida de Alcântara

Resumo - Dentre as inúmeras técnicas que vêm sendo utilizadas em estudos sobre a dinâmica e a composição química da matéria orgânica do solo (MOS), tem se destacado, além das técnicas espectroscópicas, como a Ressonância Magnética Nuclear de (RMN) de ^{13}C , uma técnica termogravimétrica de grande potencial, a Pirólise associada à Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (Pi-CG/EM). Esta técnica consiste basicamente na quebra dos polímeros orgânicos em seus componentes menores, mediante degradação térmica em atmosfera inerte (pirólise), com posterior separação dos produtos dessa quebra, ou fragmentos, com base no peso molecular (cromatografia gasosa) e sua detecção e identificação (espectrometria de massa). A Pi-CG/EM pode ser empregada em material vegetal (p. ex. serapilheira, resíduos de plantas), em solo intacto ou nas substâncias húmicas extraídas do solo. Diferentemente da RMN de ^{13}C , que caracteriza estruturalmente a MOS, isto é, permite a obtenção do que seria a estrutura da MOS em termos dos grupos de carbono presentes, a Pi-CG/EM permite que se obtenha o que podemos chamar de “impressão digital” da MOS. Isto significa que, com sua aplicação, é possível alcançar um elevado grau de detalhamento dessa estrutura de carbono observada na RMN. As duas técnicas, que têm sido muitas vezes utilizadas como complementares,

têm em comum a possibilidade de semi-quantificação: no caso da RMN de ^{13}C , (semi) quantifica-se a contribuição de cada um dos grandes grupos de carbono; enquanto que no caso da Pi-CG/EM, a contribuição de cada pequeno composto orgânico que forma as macromoléculas, que por sua vez, formam esses grandes grupos de carbono. Com a Pi-CG/EM, pode-se elucidar quais são os principais compostos constituintes, por exemplo, das ligninas ou dos polisacarídeos presentes no material analisado. Na interpretação dos resultados Pi-CG/EM, duas diferentes abordagens podem ser utilizadas, sendo uma apenas qualitativa e outra, qualitativa/quantitativa. Na primeira, obtém-se a impressão digital do material vegetal ou da MOS e podem-se utilizar os resultados para detectar alterações qualitativas em sua composição, em função de manejos distintos ou de diferentes origens. Já na segunda, os resultados semi-quantitativos podem ser utilizados para avaliar alterações quantitativas na composição química da MOS, ou seja, em sua qualidade. Alguns desafios, como a complexidade dos pirolisados e a identificação das macromoléculas que lhes deram origem, ainda precisam ser superados. No entanto, o alto grau de refinamento dos resultados e a facilidade de operação, bem como o custo relativamente baixo dos equipamentos, tornam a Pi-CG/EM uma técnica bastante promissora em estudos de MOS. Para o futuro, as perspectivas são de maior desenvolvimento desta técnica, bem como dos procedimentos matemáticos e estatísticos de tratamento dos resultados semi-quantitativos.

Pyrolysis Associated to Gas Chromatography and Mass Spectrometry Applied to Chemical Characterization of Soil Organic Matter

Abstract - Pyrolysis associated to Gas Chromatography and Mass Spectrometry (Py-GC/MS), as well as spectroscopy techniques, for instance the Nuclear Magnetic Resonance (NMR) of ^{13}C , has showed to be a powerful tool in studies on soil organic matter (SOM) dynamics and chemical composition. The technique consists basically in the break-up of organic polymers (large molecules) into small fragments, under inert atmosphere (pyrolysis), with further separation of these fragments according to their molecular weight (gas chromatography), and their detection and identification (mass spectrometry). It can be applied to vegetal material; whole soils or chemically extracted humic substances. While ^{13}C NMR gives the SOM structure in terms of carbon types, Py-GC/MS is used for “fingerprinting” SOM and offers detailed insights in the carbon structure detected by NMR. These two techniques, that provide complementary information, have in common the possibility of semi-quantification: in ^{13}C NMR, the contribution of each carbon type to the SOM structure is semi-quantified; in Py-GC/MS, the contribution of each organic compound that constitutes the macromolecules present in the carbon groups detected by NMR is semi-quantified. Therefore, the application of Py-GC/MS allows elucidating the main compounds that constitute macromolecules such as lignin and polysaccharides. For data interpretation, two different approaches can be used: the qualitative and the qualitative/quantitative approaches. With the first, the fingerprint of SOM is used to detect qualitative alterations in its composition, as a function of distinct soil management practices or SOM origins. With the second, the semi-quantitative results can be used to evaluate quantitative alterations in SOM chemical composition, that is, quantitative alterations in its quality. Some challenges still have to be overcome, for instance the high complexity of the

pyrolysates and the difficulties in the identification of their real origin (e.g. if the pyrolysate is a result of the break-up of a lignin or a protein). Nevertheless, the high level of screening and the technical facility, as well as the relatively low costs of the equipment, make Py-GC/MS a promising tool for SOM studies. For the future, the perspectives are the best as possible: the further development of the technique, and the establishment of the most adequate mathematical and statistical procedures for treating the semi-quantitative results.

Introdução

A técnica da pirólise, tal como apresentada neste capítulo, envolve a quebra de grandes moléculas em pequenos fragmentos, que são separados por cromatografia gasosa e identificados por espectrometria de massa. Enquanto a Ressonância Magnética Nuclear de (RMN) de ^{13}C revela a estrutura geral da matéria orgânica do solo (MOS), a Pirólise associada à Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (Pi-CG/EM ou P-CG-EM) permite o reconhecimento de características individuais desta estrutura (Fabbri et al., 1998), mediante a separação e identificação de compostos específicos, que constituem as macromoléculas ou polímeros orgânicos, como ligninas e polisacarídeos que, por sua vez, são os “blocos de construção” da MOS. Portanto, as duas técnicas, RMN de ^{13}C e Pi-CG/EM, podem ser utilizadas em conjunto, a fim de que uma complemente os resultados da outra.

Como principais vantagens da Pi-CG/EM podem-se destacar o refinamento das informações sobre a caracterização química da MOS obtidas com os espectros (Zhang et al., 1999), sendo até mesmo possível detectar a contribuição de estruturas microbianas para a formação da matéria orgânica. Além disso, esta técnica possibilita que se faça uma varredura rápida do material, necessitando para tal, apenas miligramas de amostra (Stankiewicz et al., 1996). Em relação a RMN de ^{13}C , além do maior grau de detalhamento, a Pi-CG/EM apresenta ainda a vantagem do menor custo de aquisição e manutenção dos equipamentos. Por outro lado, um aspecto limitante da aplicação da Pi-CG/EM em estudos de MOS é que os produtos da pirólise obtidos com a quebra das estruturas macromoleculares do material orgânico apresentam um alto grau de complexidade, o que causa uma certa dificuldade na interpretação dos resultados (Saiz-Jimenez, 1994). Além dos compostos que constituem as macromoléculas, também podem aparecer como produtos da pirólise alguns produtos de oxidação, como por exemplo ácido acético e CH_4 , e ainda, “artefatos” produzidos por rearranjos, isto é, compostos que originalmente não fazem parte do material analisado, mas são formados durante o processo. Não obstante, estes obstáculos não têm impedido que a Pi-CG/EM seja empregada com sucesso na avaliação de alterações qualitativas na MOS proveniente de solos submetidos a diferentes sistemas de manejo ou sob diferentes coberturas vegetais (p. ex. Leeuw et al., 1986; Stuczynsk et al., 1997; Masciandaro et al., 1998; Nierop et al., 2001b). No Brasil, ainda são encontrados na literatura poucos trabalhos utilizando a Pi-CG/EM na caracterização química de resíduos vegetais ou MOS; alguns

foram realizados dentro do país (Canellas et al., 2000, 2002) e outros fora, mas por equipes envolvendo pesquisadores brasileiros e com material de solo ou planta proveniente do Brasil (Franchini et al., 2002; Alcântara et al., 2004a,b).

Neste capítulo, serão abordados basicamente os princípios da técnica de Pi-CG/EM; sua aplicabilidade aos estudos de MOS, levando em consideração resíduos vegetais e substâncias húmicas extraídas do solo; e o tipo de abordagem utilizada para apresentação dos resultados e alcance dos objetivos.

Definição, Princípios e Breve Histórico

A pirólise é uma técnica termogradativa, que pode ser definida como a degradação térmica de um material em atmosfera inerte, ou de maneira ainda mais simples, como, a quebra de grandes moléculas em fragmentos, usando energia térmica e na ausência de oxigênio. Os fragmentos da pirólise são separados por cromatografia gasosa e posteriormente identificados por espectrometria de massa. Portanto, nesta técnica o pirolisador é acoplado ao cromatógrafo à gás e ao espectrômetro de massa, sendo que a essa associação convencionou-se chamar Pirólise associada à Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (Pi-CG/EM ou P-CG/EM).

O primeiro passo na Pi-CG/EM é a pirólise propriamente dita, quando ocorrerá uma transferência rápida de calor para a amostra, provocando sua fragmentação. Segundo Blacdwel et al. (1989), podem ser utilizados fornos pirolisadores ou filamentos. Nos fornos, a quantidade de amostra requerida é maior e a taxa de transferência de calor, menor. Quanto aos filamentos, que requerem pequenas quantidades de amostra, existem aqueles que são aquecidos por uma resistência até a temperatura de pirólise, e aqueles chamados ferromagnéticos, para os quais o calor é induzido por meio de uma bobina de radiofrequência. No primeiro caso, a amostra é acondicionada numa cubeta de quartzo, que é posicionada junto ao filamento. No segundo caso, a amostra é prensada no filamento ferromagnético, o qual é então colocado, com a amostra, dentro do pirolisador. O filamento pode ser de Fe, Co ou Ni e a temperatura a ser atingida é determinada pelo tipo de metal, sendo aumentada até atingir o “Ponto Curie” do mesmo. A partir desse ponto, a energia magnética não será mais absorvida de forma efetiva e não haverá

mais aumento de temperatura. Após a quebra das moléculas, os fragmentos (produtos da pirólise) são separados pela cromatografia gasosa, com base em seu peso molecular, em resposta à passagem do gás carreador. O resultado é um cromatograma com picos correspondentes a cada fragmento. O próximo passo é a identificação de cada pico pela espectrometria de massa, mediante a relação massa:carga (m/z) dos íons que os compõem (Schulten & Schnitzer, 1992; Schnitzer & Schulten, 1995). A identificação de cada composto é feita por meio do emparelhamento dos espectros com dados de programas de computador específicos, que funcionam como “bibliotecas de espectros”. A comparação com dados da literatura pode ser utilizada adicionalmente aos programas. A partir da identificação dos compostos pode-se optar por duas abordagens: (1) qualitativa e (2) qualitativa/quantitativa. Na primeira, os produtos da pirólise são identificados e obtém-se uma “impressão digital” da MOS, que pode ser usada para avaliar alterações na qualidade da matéria orgânica provenientes, por exemplo, de mudanças na cobertura vegetal do solo. Na segunda, além da comparação qualitativa, consegue-se comparar amostras, ou de maneira mais ampla, comparar situações de laboratório ou campo, quantitativamente. Isto é, a última possibilita avaliar alterações quantitativas nas características químicas da MOS. Exemplos de ambas as abordagens serão vistos na próxima seção.

É importante salientar que uma macromolécula será sempre fragmentada de maneira própria, específica, e outra amostra do mesmo material, aquecida à mesma temperatura, se comportará exatamente da mesma maneira. Isto torna a análise dos produtos da pirólise reproduzível, quando se pretende estudar a macromolécula original (Wrampler, 1999). No entanto, é preciso considerar que a MOS é um material complexo, de natureza polimérica. Por causa dessa complexidade, e como deve ocorrer em qualquer análise aplicada aos estudos de MOS, é necessário que se tenha uma referência, uma situação que represente um padrão de comportamento e que atue como comparativo. Além disso, o sistema (os três aparelhos acoplados) deve ser calibrado, sempre antes de sua utilização, com um material orgânico “puro”, como por exemplo turfa. Amostras desse material devem ser processadas sempre antes do início da análise de amostras experimentais.

No que diz respeito as amostras, vários procedimentos têm sido utilizados para extrair a MOS previamente a sua caracterização química por Pi-CG/EM. A extração alcalina com NaOH ou $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ tem sido empregada em muitos

trabalhos para separar o material orgânico (p.ex. Nierop & Buurman, 1998; Clapp & Hayes, 1999; Velthorst et al., 1999; Alcântara et al., 2004).

Os primeiros relatos de utilização da Pi-CG/EM, segundo Saiz-Jimenez (1994), vêm do trabalho de Simmonds et al. (1969), que a empregaram em amostras da superfície do solo do deserto da Califórnia, com o objetivo de detectar moléculas orgânicas que indicassem a presença de atividade biológica, a fim de utilizar a técnica posteriormente em Marte. De acordo com a revisão realizada por Wrangler (1999), tanto a Pirólise associada apenas à cromatografia gasosa (Pi-CG) quanto a Pi-CG/EM têm sido cada vez mais utilizadas por uma extensa gama de áreas da Ciência e da Tecnologia. Os autores citam o emprego dessas técnicas em materiais utilizados nas artes plásticas, como pigmentos, vernizes e tintas; em fragmentos de tintas e outros materiais detectados pela medicina legal em acidentes e crimes; na análise de polímeros sintéticos, como os plásticos e borrachas; em materiais petroquímicos; em amostras de água, solo e ar visando à investigação de contaminantes ambientais; na análise de amostras biológicas, como por exemplo para diferenciar microrganismos a partir da distinção de marcadores químicos; e na tecnologia de alimentos, para identificação de gorduras e óleos de origem animal e vegetal. Nas Ciências Agrárias, o autor cita a importância que a técnica tem assumido na química do solo. Neste contexto, além da investigação sobre a natureza química da MOS, a Pi-GC/EM pode ser usada em combinação com a análise isotópica de ^{13}C , obtendo-se, ao mesmo tempo, a estrutura química e a composição isotópica da MOS. Nesse tipo de estudo (p.ex. Gleixner e Schmidt, 1998; Gleixner et al., 2002), acopla-se um forno para combustão e um espectrômetro de massa para razão isotópica ao equipamento de Pi-CG/EM.

Aplicações da pirólise aos estudos de caracterização química da MOS

Abordagem qualitativa

O principal objetivo dos trabalhos que utilizam esta abordagem é a identificação dos compostos presentes no material analisado, o qual pode se tratar de partes de plantas, solo intacto ou substâncias húmicas. Independentemente do tipo de material, a pirólise gera um grande número de produtos, em sua maioria, originados da quebra de estruturas bem definidas,

como polissacarídeos, ligninas, proteínas, compostos aromáticos e ácidos graxos, além dos produtos de oxidação e artefatos.

Após a identificação dos picos pela espectrometria de massas, atribui-se aos produtos da pirólise sua possível fonte. A título de ilustração, são apresentados na Tabela 1, alguns dos compostos identificados após a Pi-CG/EM de amostras de material vegetal (serapilheira) e substâncias húmicas extraídas do solo (Latossolo Vermelho Amarelo Ácrico). Nesses dados, extraídos de Alcântara et al. (2004a), foram observados principalmente produtos da quebra de proteínas, polissacarídeos e ligninas. Alguns produtos da pirólise podem ser derivados de diferentes estruturas, como por exemplo o 2-metilfenol (pico nº 19), que pode ter se originado da degradação térmica de polifenóis, de ligninas, ou ainda de proteínas.

Tabela 1. Lista de produtos da pirólise de serapilheira e ácidos húmicos.

Pico (nº)	Composto	Possível fonte ⁽¹⁾	Massas ⁽²⁾
1	2-metilfurano	Ps	53+82
3	Benzeno	Pp	51+78
4	Piridina	Pr	52+79
5	Pirrol	Pr	53+67
6	Tolueno	Pp	65+91
8	Metilpiridina	Pr	66+93
9	2-furaldeído	Ps	67+95
17	Fenol	Pp/Lg/Pr	66+94
19	2-metilfenol	Pp/Lg/Pr	79+108

⁽¹⁾ Legenda: Ps = polissacarídeos, Pp = polifenóis, Pr = proteínas, Lg = ligninas.

⁽²⁾ Massas específicas utilizadas na integração.

Fonte: Adaptado de Alcântara et al. (2004b).

Saiz-Jimenez & Leeuw (1986a) utilizaram a Pi-CG/EM para caracterizar quimicamente as frações da MOS extraídas de um Typic Xerochrept sob vegetação de pradaria. Os autores compararam os produtos da pirólise dos ácidos húmicos, dos ácidos fúlvicos e da humina, provenientes do fracionamento, com resultados prévios da pirólise de ligninas, polissacarídeos e proteínas. Na fração ácidos fúlvicos, os principais produtos encontrados foram polissacarídeos, além de carboidratos e polifenóis. Quanto aos ácidos húmicos e as huminas, estes mostraram ser uma mistura complexa de vários biopolímeros, como polissacarídeos, lignina parcialmente degradada,

peptídeos e lipídeos. No que diz respeito especificamente à lignina e seu potencial como biomarcador para estudos sobre adição de materiais de planta ao solo, Saiz-Jimenez & Leeuw (1986b) demonstraram que vários produtos da pirólise, resultantes da quebra dessas ligninas, são comuns tanto a madeiras com diferentes graus de resistência à decomposição, quanto à lignina de gramíneas. Isto significa que esses produtos podem ser utilizados como biomarcadores na relação vegetação-MOS.

A estrutura química dos ácidos húmicos também foi detalhada nos trabalhos de Saiz-Jimenez & Leeuw (1987a,b). O principal objetivo desses trabalhos foi contribuir para o entendimento da natureza química dos componentes de planta presentes nos ácidos húmicos, mediante a identificação daqueles produtos da pirólise, provenientes de constituintes de planta, que permanecem intactos mesmo após hidrólise ácida. Os resultados sugerem que a lignina não é um contribuinte que represente bem a parte mais resistente dos ácidos húmicos, pois foi observado que, após a hidrólise, grande parte dos pirolisados se constituía de macromoléculas alifáticas, como por exemplo alcanos. Portanto, biopolímeros altamente alifáticos encontrados em cutículas de plantas, bem como suberinas, são provavelmente parte significativa e resistente dos ácidos húmicos.

No Brasil, Canellas et al. (2000), aplicaram a Pi-CG/EM para avaliar a estrutura dos ácidos húmicos extraídos de composto de resíduos urbanos e de lodo de estação de tratamento de esgoto. A presença de compostos derivados de ligninas, de fenóis e de furanos nos ácidos húmicos estudados evidenciou que o processo de formação das substâncias húmicas no solo é válido também para sua evolução em materiais orgânicos de origem urbana. Foi possível, ainda, verificar que os ácidos húmicos nos dois materiais se encontravam em estágio inicial de evolução, o que foi inferido mediante a presença, em grande proporção, de ácidos graxos esterificados. Outro resultado interessante foi a detecção de fragmentos de ftalatos de dioctila na estrutura dos ácidos húmicos, indicando a possível contaminação do material orgânico por resíduos plásticos.

Além dos aspectos relacionados ao desvencilhamento da estrutura de materiais orgânicos já presentes ou adicionados ao solo, a abordagem qualitativa da Pi-CG/EM também pode funcionar como um indicativo poderoso de alterações na MOS, promovidas por mudanças no uso da terra ou no sistema de manejo. Um bom exemplo desta aplicação é o trabalho de Nierop et al. (2001b). Os autores utilizaram a Pi-CG/EM em amostras de solo

(Fluentic Eutrudept) de diferentes profundidades (1-4, 4-10 e 10-20 cm) da camada arável, coletadas em uma seqüência com mais de 70 anos de histórico, a saber: pastagem permanente solo manejado organicamente solo manejado convencionalmente. Nas duas áreas sob manejo, utilizava-se uma rotação de 3-4 anos com culturas (batata, beterraba, milho, hortaliças folhosas) e 2-3 anos com gramíneas. Na época da amostragem, ambas se encontravam na fase das gramíneas. Sob manejo, em relação à pastagem permanente, a MOS se mostrou composta de material vegetal fortemente humificado e material proteináceo microbiologicamente alterado, o que pode indicar rápida decomposição de material de planta recentemente adicionado, ou ainda, pouca proteção pelos agregados do solo. Por outro lado, o solo sob pastagem permanente, em relação ao manejo, apresentou MOS pouco decomposta, ainda reconhecível como derivada de gramíneas. Entre os manejos, foram encontradas diferenças principalmente nos primeiros quatro centímetros. Como a aração distribui uniformemente a MOS na camada arável, tais diferenças se devem, possivelmente, ao período mais longo de permanência das gramíneas ou à aplicação de doses mais altas de adubos orgânicos (estercos) na área cultivada organicamente, em relação a convencional, na última rotação.

A Pi-CG/EM tem também sido utilizada para detectar a estrutura do chamado "N desconhecido" do solo, que não pode ser detectado pelos métodos químicos tradicionais, nem por outros métodos espectroscópicos. Schulten et al. (1997), aplicando a técnica em amostras previamente hidrolizadas de Haplaquoll e Haplaquod, encontraram compostos heterocíclicos, como as piridinas, e compostos derivados de benzeno, os quais foram considerados produtos do N desconhecido. Bergen et al. (1998), utilizaram a Pi-CG/EM em amostras de serapilheira e dos horizontes húmico e mineral de um Aquic Paleudalf em uma área de carvalhos, também para detectar o N desconhecido. De acordo com os autores, compostos nitrogenados presentes na serapilheira e no horizonte húmico podem ter se originado da quebra de aminoácidos ou de açúcares aminados. Por sua vez, os pirolizados contendo nitrogênio, detectados no horizonte mineral, revelam evidências de terem se originado de macromoléculas não claramente relacionadas a biomoléculas conhecidas.

Em grande parte dos estudos que utilizam a abordagem qualitativa da Pi-CG/EM, a RMN de ^{13}C tem também sido empregada (p.ex. Golchin et al., 1995; Zhang et al., 1999; Nierop et al., 1999; Veeken et al., 2000; Wattel-Koekkoek et al., 2001).

Zhang et al. (1999) utilizaram as duas técnicas em conjunto para caracterizar ácidos húmicos e fúlvicos isolados de dois solos da China, objetivando medir a aromaticidade dessas frações da MOS. Segundo os autores, não só a aromaticidade das frações foi demonstrada, como a combinação da Pi-CG/EM com a RMN de ^{13}C se mostrou uma ferramenta de grande potencial para a caracterização estrutural das substâncias húmicas. Wattel-Koekkoek et al. (2001) também utilizaram Pi-CG/EM e RMN de ^{13}C como técnicas complementares, com o objetivo de caracterizar a MOS associada a caulinita e esmectita em solos tropicais, onde estes argilominerais desempenham um importante papel na estabilização da fração orgânica. Primeiramente, separou-se a fração de tamanho argila, a qual foi então submetida a extração seqüencial com NaOH e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, de forma a concentrar as substâncias húmicas. Os resultados encontrados de que a MOS associada a caulinita é enriquecida em produtos da quebra de polissacarídeos, enquanto a MOS associada a esmectita é rica em compostos aromáticos, são um forte indício de que diferentes argilominerais apresentam diferentes mecanismos de complexação da MOS. Tais resultados só foram possíveis mediante a utilização combinada da semi-quantificação das contribuições relativas de cada grupo de carbono detectado pela RMN e da análise qualitativa dos produtos da pirólise.

A combinação da RMN de ^{13}C com a abordagem qualitativa dos resultados da Pi-CG/EM também tem sido empregada para avaliar transformações nas frações orgânicas de resíduos de origem urbana ou biosólidos, submetidos à compostagem, materiais estes com possível efeito fertilizante e condicionador de solo (p. ex. González-Vila et al., 1999; Veeken et al., 2000).

Abordagem Qualitativa/Quantitativa

Os trabalhos que utilizam esta abordagem objetivam não só identificar os compostos presentes no material orgânico analisado, como também quantificá-los de forma a traçar comparações entre materiais provenientes, por exemplo, de áreas sob diferentes manejos ou coberturas vegetais. Tais comparações quantitativas podem ser úteis para se avaliar alterações na qualidade da MOS ao longo do tempo ou em função do manejo ou uso da área, por meio da detecção de aumentos ou decréscimos nas contribuições de algumas macromoléculas.

A designação “abordagem qualitativa/quantitativa” é utilizada aqui a título de simplificação, pois, assim como no caso da RMN de ^{13}C , o termo semi-quantificação é mais apropriado para se referir ao tipo de tratamento matemático a que são submetidos os resultados da pirólise. Isto ocorre porque nesse tratamento considera-se a abundância relativa de cada pico (ou composto identificado), mediante a integração de sua área correspondente no cromatograma. Existem diferentes caminhos que podem ser seguidos para se chegar às áreas relativas de cada pico, como por exemplo considerar a área total do cromatograma como 100% ou 1, considerar a soma de picos selecionados (de interesse) como 100% ou 1, ou ainda, considerar a área do pico mais intenso como 100% ou 1. Os valores obtidos podem ser então submetidos à análise estatística, que pode ser mais ou menos detalhada, dependendo do enfoque do trabalho: se fortemente baseado em comparações (diferentes situações de manejo, períodos de tempo, etc.) ou, se voltado a simples caracterização de possíveis alterações. A seguir são apresentados trabalhos que exemplificam aplicações da abordagem qualitativa/quantitativa aplicada a análise de diferentes materiais e realizada com diferentes enfoques.

Em material vegetal, a Pi-CG/EM com abordagem qualitativa/quantitativa pode ser bastante útil na elucidação de alterações durante o processo de decomposição e formação da MOS. Franchini et al. (2002) aplicaram para avaliar transformações na composição química de diversas plantas de cobertura utilizadas frequentemente em rotação de culturas no sul do Brasil, entre elas a aveia preta e a mucuna, durante a decomposição. Amostras originais dos resíduos e amostras submetidas a um período de 80 dias de incubação foram pirolizadas e a semi-quantificação foi obtida mediante a proporção relativa da área de cada pico e a área total do cromatograma. A abordagem permitiu detectar um decréscimo na porcentagem relativa de polisacarídeos para todas as espécies, em maior ou menor grau, com a incubação; enquanto ocorria aumento na porcentagem relativa de ligninas.

Masciandaro et al. (1998), utilizaram a Pi-CG/em para avaliar os efeitos de diferentes práticas de uso do solo (sob condições naturais, em pousio por três anos após cultivo intensivo e cultivado intensivamente) sobre a dinâmica da MOS. Foram elaborados índices a partir da abundância relativa de sete picos, selecionados em relação a sua soma total, a saber: índice de mineralização e índice de humificação. Calculou-se ainda um índice de similaridade, parâmetro numérico que permite comparar pares de pirogramas. O grau de

humificação da MOS praticamente não foi afetado pelo uso do solo, enquanto a taxa de mineralização foi consideravelmente mais alta nas áreas cultivadas intensivamente do que naquelas sob condições nativas. Ao mesmo tempo, o pousio após cultivo intensivo apresentou a tendência de recuperar a atividade microbiológica e a fertilidade do solo. Nas mesmas áreas, Masciandaro & Ceccanti (1999) utilizaram os índices de mineralização, humificação e similaridade, juntamente com a atividade das enzimas ligadas aos ciclos de C, N e P (urease, fosfatase, proteases, -glucosidase), para subsidiar a comparação entre o complexo húmico-enzimático, que apresenta importantes propriedades funcionais e atua como indicador da qualidade do solo. Corroborando com os resultados do trabalho anterior, o pousio tende a recuperar solos que, apesar de submetidos ao cultivo intensivo, tenham preservado uma matriz húmica estável e enzimaticamente ainda ativa.

Grande parte dos trabalhos que adotam a abordagem qualitativa/quantitativa, utiliza também a RMN de ^{13}C como técnica complementar (Almendros et al., 1996; Fabbri et al., 1998; Beyer et al., 2001; Nierop et al., 2001a; Canellas et al., 2002; Alcântara et al., 2004b). Uma comparação entre as duas técnicas foi realizada por Fabbri et al. (1998) na caracterização estrutural de huminas e ácidos húmicos extraídos de ambientes terrestres (solo agrícola) e marinhos (sedimentos). Foram encontradas correlações lineares positivas entre a quantidade relativa de compostos alifáticos determinados pela Pi-CG/EM e a porcentagem de compostos do tipo alquila semi-quantificados a partir dos espectros de RMN. De forma geral, o uso integrado das duas técnicas apresentou grande potencial para auxiliar no entendimento da estrutura das huminas, pois os resultados de ambas, além de se complementarem, apontaram para o fato de que as huminas são estruturalmente diferentes de seus ácidos húmicos correspondentes.

Nierop et al. (2001a) utilizaram Pi-CG/EM e RMN de ^{13}C , além da hidrólise ácida de polisacarídeos, para investigar diferenças na composição química da MOS em perfis de solo de uma sucessão de vegetação primária na Holanda, característica de estágios pré-podzolização. Além de material de solo, as técnicas foram aplicadas em serapilheira coletada sobre e sob (raízes) o solo, a fim de traçar o processo de formação da MOS nesses solos. Um aspecto interessante observado esteve relacionado às tendências de aumento nos conteúdos de alquilas com a humificação, acompanhado do decréscimo no conteúdo de O-alquilas, conforme revelado pela RMN de ^{13}C , corroborado pelo aumento na contribuição de compostos alifáticos no solo, revelado pela

Pi-CG/EM. A combinação das duas técnicas também foi utilizada com sucesso por Beyer et al. (2001) para elucidar a formação de podzóis na Antártica, com ênfase na composição química da MOS.

As técnicas Pi-CG/EM e RMN de ^{13}C , quando utilizadas em conjunto, podem ainda ser ferramentas bastante úteis na avaliação de alterações nas frações da MOS após tratamento de solos agrícolas com resíduos orgânicos, com potencial de uso como fertilizantes ou condicionadores de solo. Canellas et al. (2002) utilizaram ambas para verificar a ocorrência de modificações estruturais nos ácidos húmicos advindas da adição de composto de lixo urbano e lodo de estação de tratamento de esgoto a dois solos (Argissolo Vermelho Amarelo e Latossolo Vermelho Amarelo) incubados em laboratório por 24 semanas. Para a semi-quantificação dos produtos da pirólise, foi considerada abundância relativa de 100% para os pirogramas dos ácidos húmicos extraídos dos materiais de solo sem tratamento. Alterações nos ácidos húmicos em ambos os solos foram detectadas tanto por Pi-CG/EM quanto por RMN de ^{13}C . Com a pirólise foi possível observar modificações qualitativas significativas, provenientes da fragmentação térmica dos ácidos húmicos, com incorporação de estruturas novas, principalmente de lipídeos e de compostos derivados de carboidratos (furanos).

A fim de se extrair o maior número de informações possível e, ao mesmo tempo, informações mais detalhadas dos pirogramas, a análise multivariada (análise de fatores ou de componentes principais) tem sido utilizada em alguns trabalhos (p.ex. Boon et al., 1986; Alcântara et al., 2004b). Os principais objetivos deste tipo de procedimento estatístico são (1) reduzir o número de variáveis envolvidas e (2) detectar a estrutura existente nas relações entre as variáveis. Quando empregada nos dados provenientes da pirólise de materiais orgânicos, esta forma de análise dos dados permite identificar grupos, entre as amostras de planta ou MOS estudadas, que apresentem composição química semelhante. Portanto, sua utilização possibilita que se elucidem alterações na MOS, em função, por exemplo, de mudanças no uso do solo. Tais alterações seriam modificações na qualidade da MOS, ocorridas devido a aumentos ou decréscimos na presença de determinadas macromoléculas.

Neste sentido, um dos primeiros trabalhos encontrados na literatura é o de Boon et al. (1986), realizado na Holanda. Nele, foi caracterizado um perfil de turfa de origem ombrotrófica, utilizando-se a análise multivariada no

tratamento dos dados da pirólise. Em solos (cultivados e sob pastagem), Bonmati et al. (1998), utilizaram a Pi-CG/EM em amostras submetidas a extração com pirofosfato de sódio, selecionando 18 picos de maior ocorrência, intensidade e importância, calculando sua abundância em relação a soma total de suas áreas e aplicando análise multivariada. Como primeiro passo do tratamento estatístico, os autores, mediante coeficientes de correlação e distância euclidiana, avaliaram as diferenças entre os pirogramas obtidos. Posteriormente, foram utilizadas a análise de componentes principais e a regressão multivariada (seleção de variáveis do tipo “stepwise”). Com este procedimento foi possível reduzir de 18 para 12 o número de picos responsáveis pelas diferenças entre os pirogramas.

Dorado et al. (2003) aplicaram a Pi-CG/EM em ácidos húmicos extraídos de solo (Calcic Haploxeralf) em uma área sob experimento de longa duração, desenhado para avaliar os efeitos das práticas utilizadas na agricultura orgânica sobre o solo, envolvendo a aplicação de resíduos orgânicos de diferentes origens e adição ou não de fertilizantes nitrogenados sintéticos. A análise multivariada dos dados permitiu averiguar que os fertilizantes orgânicos causaram grandes impactos na composição dos ácidos húmicos, principalmente nas parcelas onde não se aplicava nitrogênio de origem mineral. Seu efeito pôde ser identificado, por exemplo, por um aumento na ocorrência de metoxifenóis e ácidos graxos.

No trabalho de Alcântara et al. (2004b), a análise de fatores foi uma ferramenta extremamente útil para detectar alterações na qualidade da MOS após a retirada da vegetação nativa (cerrado campo sujo) e plantio de espécies ciliares, realizado na tentativa de recuperar a forma e a função de uma área de margem de represa hidroelétrica em Minas Gerais. Amostras de serapilheira e solo (Latosolo Vermelho Amarelo Ácrico) foram coletadas em uma área mantida sob vegetação nativa e outra plantada há oito anos com as espécies ciliares. Das amostras de solo, as substâncias húmicas foram extraídas com solução combinada de NaOH e $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Tanto serapilheira quanto substâncias húmicas foram submetidas a RMN de ^{13}C e Pi-CG/EM, sendo que as duas técnicas mostraram uma excelente complementaridade nos resultados obtidos. A análise de fatores foi utilizada a fim de detectar estrutura nos dados da pirólise e de reduzir o número de variáveis (no caso, as variáveis eram os 90 picos selecionados, presentes em todos os pirogramas de serapilheira e de substâncias húmicas). Primeiramente, este procedimento mostrou que a nítida separação entre as amostras de serapilheira e

substâncias húmicas se devia, principalmente, à forte presença de lignina nas primeiras. Para permitir maior detalhamento do comportamento das substâncias húmicas, fez-se uma nova análise de fatores, desta vez excetuando-se as amostras de serapilheira. Foi possível detectar três grupos principais: (1) solo superficial da mata ciliar (0-5 cm), (2) solo subsuperficial do cerrado (10-20 cm), e (3) todas as amostras intermediárias entre (1) e (2) das duas áreas. A análise de fatores mostrou que as diferenças existentes entre (1) e (2) foram causadas, principalmente, pela maior presença de derivados da quebra de ligninas (responsáveis pela separação de (1)) e da quebra de polisacarídeos (responsáveis pela separação de (2)). Por serem as ligninas e os polisacarídeos os principais grupos de macromoléculas que discriminaram as áreas em estudo, nova análise de fatores foi realizada para cada um desses grupos, separadamente para amostras de serapilheira e de substâncias húmicas. Para tal, a contribuição de cada composto atribuído à pirólise de ligninas (ou polisacarídeos) para a área total dos picos de ligninas (ou polisacarídeos) foi calculada. Este procedimento se trata da desagregação dos grupos e pode contribuir grandemente para uma melhor interpretação dos resultados semi-quantitativos. A Fig. 1 apresenta os resultados para as amostras de serapilheira, quando foi separado o grupo dos compostos provenientes da quebra das ligninas. Os dois primeiros fatores extraídos explicaram 62% da variação entre as amostras e as diferenças entre cerrado e mata ciliar se deveram principalmente a forte presença do composto 4-vinilfenol (pico n°. 27), cuja presença, de acordo com Saiz-Jimenez & Leeuw (1986b), é um forte indicativo de ligninas de gramíneas. Além disso, foi possível detectar a forte influência dos compostos siringol (pico n°. 32), vanilina (pico n°. 35) e 4-vinilsiringol (pico n°. 39) na serapilheira da mata. Apesar das diferenças encontradas na composição química das serapilheiras das duas áreas, a análise de fatores realizada para os compostos derivados das ligninas dos polisacarídeos, isoladamente, não foi capaz de detectar diferenças consistentes entre as substâncias húmicas extraídas do solo sob as duas coberturas vegetais. Provavelmente, tal fato se deve a mistura de carbono derivado da mata com carbono remanescente do cerrado no perfil do solo, dificultando a detecção de diferenças mais sutis; bem como a contribuição heterogênea do carbono da mata ciliar, que é adicionado preferencialmente sobre a superfície do solo pela deposição da serapilheira, enquanto o carbono do cerrado é adicionado preferencialmente na camada do solo onde se concentra o sistema radicular, pela morte/decomposição das raízes das gramíneas. Em trabalho anterior (Alcântara et al., 2004a) havia

sido constatado, mediante análise isotópica de ^{13}C , que na profundidade de 0-5 cm de solo aproximadamente 50% do carbono remanescente da vegetação de cerrado já havia sido substituído por carbono derivado da vegetação ciliar.

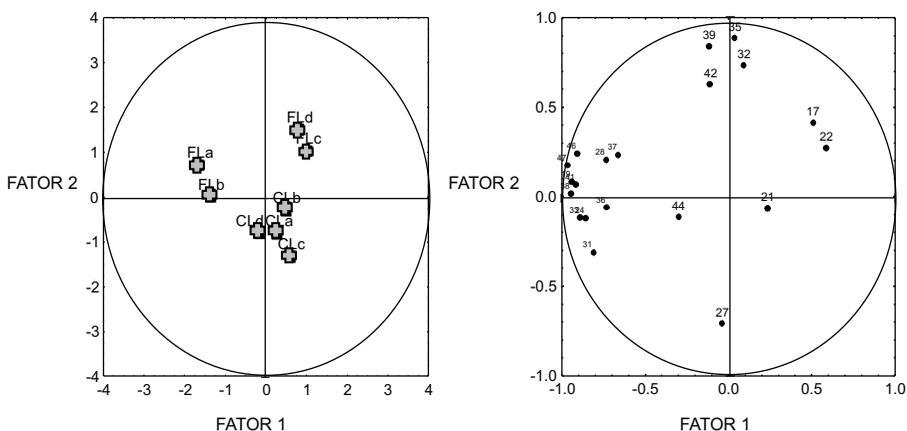


Fig. 1. Fatores 1 e 2 no espaço F1-F2 para oito amostras de serapilheira, utilizando 20 picos da pirólise de ligninas e três fatores(a); e coeficientes no espaço F1-F2 para os 20 picos da pirólise de ligninas, considerando oito amostras de serapilheira e três fatores(b). Legenda: F = mata ciliar e C = cerrado; a, b, c, d = blocos experimentais.

Desafios e Perspectivas

Apesar dos bons resultados que têm sido alcançados com a utilização da Pi-CG/EM na caracterização química da MOS, alguns desafios ainda precisam ser vencidos de modo a tornar a interpretação dos resultados mais fácil e, ao mesmo tempo, mais precisa. Se faz necessária uma maior ênfase na pesquisa sobre a identificação dos produtos e de suas possíveis origens, a fim de subsidiar a atribuição de fontes aos compostos obtidos com a pirólise dos materiais orgânicos. Além disso, é preciso ampliar as bibliotecas de identificação, tanto em número, quanto em informação. Um grande desafio da Pi-CG/EM é a formação de compostos mediante rearranjos durante a pirólise, o que leva a formação de artefatos. Uma alternativa para este problema é a realização da pirólise na presença do tetrametilamônio (Fabbri et al., 1996; Saiz-Jimenez, 1995).

Devido ao fato de que a complexidade dos produtos obtidos com a Pi-CG/EM dificulta a interpretação, a abordagem qualitativa/quantitativa, além dos desafios apontados acima, precisa vencer o desafio da qualidade da semi-quantificação. Para tal, as análises multivariadas têm se mostrado uma excelente alternativa, permitindo reduzir o número de picos de real importância para um dado conjunto de amostras, possibilitando assim, que se faça uma comparação “quantitativa” de amostras, a fim de detectar alterações na composição química da MOS em função do manejo do solo ou da cobertura vegetal. No entanto, ainda se faz necessária mais pesquisa sobre os melhores tratamentos matemáticos e estatísticos para os dados semi-quantitativos.

Apesar das dificuldades ainda por vencer, o alto grau de refinamento das informações obtidas; a facilidade de execução das análises; e o baixo custo dos equipamentos, quando comparados por exemplo a equipamentos de RMN, são vantagens bastante atrativas. Muito provavelmente, com o maior desenvolvimento da técnica e da interpretação dos resultados, essas vantagens farão com que a Pi-CG/EM seja uma ferramenta cada vez mais utilizada em estudos de caracterização química da MOS.

Referências

ALCÂNTARA, F. A. de; BUURMAN, P.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.; ROSCOE, R. Conversion of grassy cerrado into riparian forest and its impact on soil organic matter dynamics in an Oxisol from Southeast Brazil. **Geoderma**, Amsterdam, v. 123, p. 305-317, 2004a.

ALCÂNTARA, F. A. de; BUURMAN, P.; CURI, N.; FURTINI NETO, A. E.; LAGEN, B. van; MEIJER, E. Changes in soil organic matter composition after introduction of riparian vegetation on shores of hydroelectric reservoirs (Southeast Brazil). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, p. 1497-1508, 2004b.

ALMENDROS, G.; GUADALIX, M. E.; GONZÁLEZ-VILA, F. J.; MARTIN, F. Preservation of aliphatic macromolecules in soil humins. **Organic Geochemistry**, Elmsford, v. 24, p. 651-659, 1996.

BERGEN, P. F. van; FLANNERY, M. B.; POULTON, P. R.; EVERSLED, R. P. Organic geochemical studies of soils from Rothamsted Experimental Station: III. Nitrogen-containing organic matter in soil from Geescroft Wilderness. In: STANKIEVICZ, A., BERGEN, P.F. van. **Nitrogen-containing macromolecules in the bio- and geosphere**. Washington: American Chemical Society, 1998. 259 p.

BEYER, L.; WHITE, D. M.; BÖLTER, M. Soil organic matter composition, transformation, and microbial colonisation of Gelic Podzols in the coastal region of East Antarctica. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v. 39, p. 543-563, 2001.

BLACDWELL, J. M.; HAIDER, K.; LARTER, S. R. Thermal degradation relevant structural studies of humic substances. In: HAYES, M. H. B. (Ed.). **Humic substances**. II: in search of structure. New York: J. Wiley, 1989. p. 181-222.

BONMATI, M.; CECCANTI, B.; NANNIPIERI, P. Protease extraction from soil by sodium pyrophosphate and chemical characterization of the extracts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, p. 2113-2125, 1998.

BOON, J. J.; DUPONT, L.; LEEUW, J. W. de. Characterization of a peat bog profile by curie-point pyrolysis-mass spectrometry combined with multivariate analysis and by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. In: FUCHSMAN, C. H. (Ed.). **Peat and water**. Amsterdam: Elsevier, 1986. 565 p.

CANELLAS, L. P.; MORAES, A. A.; RUMJANEK, V. M.; GARCIA, M. R.; GURIDI, G. A.; SANTOS, G. A.; VELLOSO, A. C. X.; BRAZ-FILHO, R. Structural features of humic acids isolated from soils amended with urban organic residues: an elemental composition, ¹³C NMR and Py-GC/MS analysis. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 26, p. 333-341, 2002.

CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A.; MORAES, A. A.; RUMJANEK, V. M. Avaliação de características dos ácidos húmicos de resíduos de origem urbana: II. Métodos termogravimétricos (pirólise acoplada à cromatografia gasosa/espectrometria de massa). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, p. 751-757, 2000.

CLAPP, C. E.; HAYES, M. H. B. Characterisation of humic substances isolated from clay- and silt-sized fractions of a corn residue-amended agricultural soil. **Soil Science**, Baltimore, v. 164, p. 899-913, 1999.

DORADO, J.; GONZALEZ-VILA, F. J.; ZANCADA, M. C.; ALMENDROS, G.; LÓPEZ-FANDO, C. Pyrolytic descriptors responsive to changes in humic acid characteristics after long-term sustainable management of dryland farming systems in Central Spain. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Amsterdam, v. 68/69, p. 299-314, 2003.

FABBRI, D.; CHIAVARI, G.; GALLETTI, G. C. Characterization of soil humin by pyrolysis(/methylation)-gas chromatography/mass spectrometry: structural relationships with humic acids. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Amsterdam, v. 37, p. 161-172, 1996.

FABBRI, D.; MONGARDI, M.; MONTANARI, L.; GALLETTI, G. C.; CHIAVARI, G.; SCOTTI, R. Comparison between CP/MAS ¹³C-NMR and pyrolysis-GC/MS in the structural characterization of humins and humic acids of soil and sediments. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 362, p. 299-306, 1998.

FRANCHINI, J. C.; GONZALEZ-VILA, F. J.; RODRIGUEZ, J. Decomposition of plant residues used in no-tillage systems as revealed by flash pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Amsterdam, v. 62, p. 35-43, 2002.

GLEIXNER, G.; POIRIER, N.; BOL, R.; BALESSENT, J. Molecular dynamics of organic matter in a cultivated soil. **Organic Geochemistry**, Elmsford, v. 33, p. 357-366, 2002.

GLEIXNER, G.; SCHMIDT, H. L. On-line determination of group specific isotope ratios in model compounds and aquatic humic substances by coupling pyrolysis to GC-C-IRMS. In: STANKIEWICZ, B. A.; BERGEN, P. F. van (Ed.). **Nitrogen-containing macromolecules in the bio and geosphere**. Washington, D.C: ACS, 1998. p. 34-36. (ACS Symposium Series, 707).

GOLCHIN, A.; OADES, J. M.; SKJEMSTAD, J. O.; CLARKE, P. Structural and dynamic properties of soil organic matter as reflected by ^{13}C natural abundance, pyrolysis mass spectrometry and solid-state ^{13}C NMR spectroscopy in density fractions of an Oxisol under forest and pasture.

Australian Journal of Soil Research, Victoria, v. 33, p. 59-76, 1995.

GONZÁLEZ-VILA, F. J.; ALMENDROS, G.; MADRID, F. Molecular alterations of organic fractions from urban waste in the course of composting and their further transformation in amended soil. **The Science of the Total Environment**, v. 236, p. 215-229, 1999.

LEEuw, J. W.; LEER, E. W. B.; SINNINGHE DAMSLÉ, J. Screening of anthropogenic compounds in polluted sediments and soil by flash evaporation/pyrolysis GC/MS. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 58, p. 1852-1857, 1986.

MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B. Assessing soil quality in different agroecosystems through biochemical and chemico-structural properties of humic substances. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 51, p. 129-137, 1999.

MASCIANDARO, G.; CECCANTI, B.; GALLARDO-LANCHO, J. F. Organic matter properties in cultivated versus set-aside arable soils. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 67, p. 267-274, 1998.

NIEROP, K. G. J.; BUURMAN, P. Composition of soil organic matter and its water soluble fraction under young vegetation on drift sand, central Netherlands. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 49, p. 605-615, 1998.

NIEROP, K. G. J.; BUURMAN, P.; LEEuw, J. W. de. Effect of vegetation on chemical composition of H horizons in incipient podzols as characterised by ^{13}C NMR and Pyrolysis GC/MS. **Geoderma**, Amsterdam, v. 90, p. 111-129, 1999.

NIEROP, K. G. J.; LAGEN, B. van; BUURMAN, P. Composition of plant tissues and soil organic matter in the first stages of a vegetation succession. **Geoderma**, Amsterdam, v. 100, p. 1-24, 2001a.

NIEROP, K. G. J.; PULLEMAN, M. M.; MARINISSEN, J. C. Y. Management induced organic matter differentiation in grassland and arable soil: a study using pyrolysis techniques. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 755-764, 2001b.

SAIZ-JIMENEZ, C. Application of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to soil chemistry. In: WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 15., 1994, Acapulco. **Transactions...** Viena: ISSS, 1994. p. 65-84.

SAIZ-JIMENEZ, C. Reactivity of the aliphatic humic moiety in analytical pyrolysis. **Organic Geochemistry**, Elmsford, v. 23, p. 955-961, 1995.

SAIZ-JIMENEZ, C.; LEEUW, J. W. de. Chemical characterization of soil organic matter fractions by analytical pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Amsterdam, v. 9, p. 99-119, 1986a.

SAIZ-JIMENEZ, C.; LEEUW, J. W. de. Lignin pyrolysis products: their structures and their significance as biomarkers. **Organic Geochemistry**, Elmsford, v. 10, p. 99-119, 1986b.

SAIZ-JIMENEZ, C.; LEEUW, J. W. de. Nature of plant components identified in soil humic acids. **The Science of Total Environment**, v. 62, p. 115-119, 1987a.

SAIZ-JIMENEZ, C.; LEEUW, J. W. de. Chemical structure of a soil humic acid as revealed by analytical pyrolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Amsterdam, v. 11, p. 367-376, 1987b.

SCHNITZER, M.; SCHULTEN, H. R. Analysis of organic matter soil extracts and whole soils by Pyrolysis-Mass Spectrometry. **Advances in Agronomy**, New York, v. 55, p. 169-217, 1995.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. Structural studies on soil humic acids by Curie-Point pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. **Soil Science**, Baltimore, v. 153, p. 205-224, 1992.

SCHULTEN, H. R.; SORGE-LEWIN, C.; SCHNITZER, M. Structure of "unknown" soil nitrogen investigated by analytical pyrolysis. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 24, p. 249-254, 1997.

SIMMONDS, P. G.; SCHULMAM, G. P.; STEMBRIDGE, R. Organic analysis by pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry: a candidate experiment for the biological exploration of Mars. **Journal of Chromatographic Science**, Niles, v. 7, p. 36-41, 1969.

STANKIEWICZ, B. A.; BEGEN, P. van; DUNCAN, I. J.; CARTER, J. F.; BRIGGS, D. E. G.; EVERSLED, R. P. Recognition of chitin and proteins in invertebrate cuticles using analytical Pyrolysis/Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Chichester, v. 10, p. 1747-1757, 1996.

STUCZYNSKI, T. I.; MCCARTY, G. W.; REEVES, J. B. Use of pyrolysis GC/MS for assessing changes in soil organic matter quality. *Soil Science*, Baltimore, v. 162, p. 97-105, 1997.

VEEKEN, A.; NIEROP, K.; WILDE, V. de; HAMELERS, B. Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 33-41, 2000.

VELTHORST, E.; NAKKEN-BRAMEIJER, N.; MULDER, J. Fractionation of soil organic matter. **International Journal of Environmental and Analytical Chemistry**, London, v. 73, p. 237-251, 1999.

WATTEL-KOEKKOEK, E.; GENUCHTEN, P. P. L. van; BUURMAN, P.; LAGEN, B. van. Amount and composition of clay-associated soil organic matter in a range of kaolinitic and smectitic soils. **Geoderma**, Amsterdam, v. 99, p. 27-49, 2001.

WRAMPLER, T. P. Introduction to pyrolysis-capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 842, p. 207-220, 1999.

ZHANG, J.; ZHAI, J.; ZHAO, F.; TAO, Z. Study of soil humic substances by cross-polarization magic angle spinning ^{13}C nuclear magnetic resonance and pyrolysis-capillary gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 378, p. 177-182, 1999.



Agropecuária Oeste

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Este livro contém informações valiosas sobre a dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas, enfatizando técnicas modernas de análise e de simulação de sistemas. Procura contribuir para a geração de conhecimentos visando à manutenção de produtividades elevadas, ao mesmo tempo em que se preservam os recursos naturais. Neste sentido, a *Embrapa Agropecuária Oeste*, juntamente com seus parceiros nesta importante publicação, espera que este material contribua para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas tropicais e subtropicais.

O texto está dividido em duas partes. Na primeira, é abordada a dinâmica da matéria orgânica do solo, com ênfase à utilização de modelagem matemática e simulação de sistemas. A segunda parte apresenta uma revisão sobre procedimentos metodológicos, e alguns métodos auxiliares, fundamentais ao entendimento da dinâmica da matéria orgânica do solo e à correta parametrização dos simuladores.