

# Utilización de Pirólisis con Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas (Py-GC/MS) para el estudio de la composición química de la materia orgánica de un suelo mediterráneo sometido a diferentes temperaturas

J. Campo<sup>a\*</sup>, K.G.J. Nierop<sup>b</sup>, E. Cammeraat<sup>c</sup>, V. Andreu<sup>a</sup>, J.L Rubio<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigaciones sobre Desertificación – CIDE (CSIC, Universitat de València, Generalitat Valenciana), Camí de la Marjal, s/n, Albal, 46470 Valencia, Spain.

<sup>b</sup> Department of Earth Sciences – Organic Geochemistry, Utrecht University, 3508 TA Utrecht, The Netherlands.

<sup>c</sup> IBED-Earth Science, Universiteit Amsterdam, Nieuwe Achtergacht 166, Amsterdam 1018 WV, Netherlands.

[\\*julian.campo@uv.es](mailto:julian.campo@uv.es)

## INTRODUCCIÓN

Los incendios forestales se pueden considerar como una de las principales alteraciones de los suelos y la vegetación de la cuenca del Mediterráneo (Rubio et al., 1996; Andreu et al., 2001). Uno de los principales efectos de los incendios forestales en las propiedades del suelo es la alteración de la materia orgánica (SOM), afectando tanto a su contenido como a su composición (González-Pérez, 2004; Knicker, 2007). El estudio de los cambios en la composición de la SOM ha avanzado sustancialmente gracias a la utilización de técnicas tales como la resonancia magnética nuclear (NMR), la pirólisis con cromatografía de gases y espectrometría de masas (Py-GC/MS), la hidrólisis y metilación asistida térmicamente (THM), etc. (González-Vila et al., 2001; Nierop et al., 2001).

La Py-GC/MS es un enfoque alternativo que consiste en la degradación térmica de las moléculas orgánicas en fragmentos pequeños que son analizados por GC/MS, suministrando información relacionada con su estructura, la cual puede ser utilizada para el estudio de las alteraciones térmicas de la materia orgánica. Los productos de pirólisis de suelos sin quemar incluyen una amplia variedad de moléculas derivadas de carbohidratos, lignina, lípidos y proteínas. Por el contrario, en suelos afectados por incendios forestales, la mayoría de los productos de pirólisis presentes en los suelos no quemados están ausentes y el dominio del material del tipo carbonoso refractario quemado “no-pirolisable” es evidente (González-Pérez et al., 2004).

## OBJETIVOS

(a) Explorar las posibles diferencias en la caracterización química de la SOM en los macro y microagregados de un suelo mediterráneo bajo planta y otro desnudo, y (b) investigar los efectos del impacto de diferentes temperaturas en los compuestos derivados de la materia orgánica procedente de estas fracciones en dichos suelos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio, toma de muestras y pre-tratamiento

Para este estudio se seleccionó un suelo de bosque mediterráneo de la sierra de La Calderona (Valencia, España: 39°45'N, 0°43'W) de una ladera a 575 m snm, orientada al SSE, con 22° de pendiente y que fue quemada por última vez en 1978. El suelo es un Leptosol réndzico (FAO, 2006), con una profundidad variable y máxima de 40 cm, desarrollado sobre calizas jurásicas. La precipitación media anual de 400 mm y un período seco, en el que habitualmente se producen incendios forestales, que va de abril a septiembre con una temperatura máxima diaria media de 34° C. La temperatura media anual es de 17.2° C. La vegetación está dominada por *Pinus halepensis*, *Quercus ilex* y matorrales en diferentes estados de degradación (*Quercus coccifera*, *Rosmarinus officinalis*). Las muestras de suelo fueron tomadas: bajo planta (*Quercus coccifera* considerada la especie más dominante en la zona) y entre plantas (suelo desnudo). Se tomaron tres sub-muestras independientes de los primeros 5 cm superficiales del suelo en el verano de 2008 en un área aproximada de 20 m<sup>2</sup> (las plantas

estaban separadas al menos 80 cm), y tanto la hojarasca ( $\pm 3$  cm) como los fragmentos de roca  $>1$  cm fueron excluidos. Dichas sub-muestras se mezclaron, homogenizaron y transportaron en recipientes de plástico herméticamente cerrados, para luego secarlas a temperatura ambiente y pasarlas por un tamiz de 2 mm de diámetro.

Las muestras del suelo bajo planta y del suelo desnudo se calentaron en una mufla de calentamiento rápido (Carbolite®) a una velocidad de  $3^{\circ} \text{C min}^{-1}$ , con 2 minutos de calentamiento a la temperatura seleccionada. Se aplicaron cuatro temperaturas de acuerdo con umbrales conocidos de cambios significativos que pueden ocurrir en el suelo: (a)  $25^{\circ} \text{C}$ : control (temperatura ambiente), (b)  $220^{\circ} \text{C}$ : aumento de la hidrofobicidad (Doerr et al., 2000), (c)  $380^{\circ} \text{C}$ : combustión de la materia orgánica y re-agregación de partículas (Six et al., 2004) y (d)  $500^{\circ} \text{C}$ : pérdida de grupos -OH de las arcillas (Giovannini, 1994). Una vez calentadas, las muestras fueron separadas por tamizado en macroagregados ( $\text{Ø} > 0,25$  mm) y microagregados ( $\text{Ø} < 0,25$  mm).

### **Aislamiento de la materia orgánica**

Para concentrar la materia orgánica del suelo se utilizó una modificación del método de Nierop et al. (2001). La muestra de suelo se agita dos veces durante 5 min en NaOH de 0,1 M (10 g de suelo: 50 ml de solución de NaOH), después de lo cual se centrifuga a  $\sim 2000$  g durante 10 minutos y se decanta. La arena residual se lava con agua, por lo menos diez veces, hasta que el agua es incolora. Todos los extractos de cada muestra se combinan y acidifican hasta alcanzar un pH de 1.5-2.5 con una solución 10:4 M de HF:HCl. Luego se desalinizan por diálisis en agua destilada y se liofilizan para producir un polvo de materia orgánica.

### **Pirólisis con cromatografía de gases y espectrometría de masas (Py-GC/MS)**

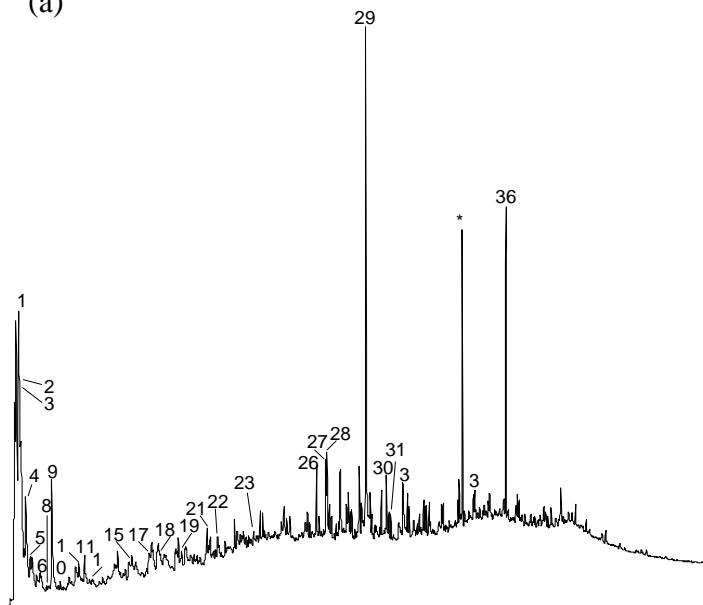
Los análisis se realizaron según el procedimiento analítico de Nierop y Verstraten (2003). La materia orgánica liofilizada fue pirolizada utilizando un Piroizador Curie-Point de Horizon Instruments conectado a un cromatógrafo de gases 2000 system de Thermo-Quest Trace. Cada muestra se depositó en un hilo ferromagnético y se calentó a  $600^{\circ} \text{C}$  durante 5 s. Los productos de la pirólisis se separaron en una columna de sílice fundido (J & W, 30 m, 0,32 mm de diámetro interno) recubierta con una DB-5 (0,25 mm de espesor) utilizando helio como gas portador. El horno se mantuvo inicialmente a  $40^{\circ} \text{C}$  durante 1 minuto y luego se calentó a una velocidad de  $7^{\circ} \text{C min}^{-1}$  hasta alcanzar los  $320^{\circ} \text{C}$ , temperatura a la que se mantuvo durante 15 min. La columna fue acoplada a un espectrómetro de masas Trace Finnigan (rango de masa  $m/z$  45-600, energía de ionización de 70 eV, tiempo de ciclo de 1 s). Los compuestos individuales fueron identificados por interpretación de sus espectros de masas usando las librerías NIST y Wiley o por comparación con datos publicados.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los 36 productos de pirólisis identificados en los pirogramas para caracterizar la SOM de los suelos control representaron la mayor parte de los picos encontrados en la corriente total de iones de cada muestra (Fig. 1). En general se puede decir que la materia orgánica extraída con NaOH presentaba una composición similar en los macro y microagregados de las muestras control, tanto en el suelo bajo planta como en el suelo desnudo. Los pirogramas obtenidos se caracterizaron por la presencia de polifenoles y otros productos aromáticos de la pirólisis (bencenos y fenoles), así como productos derivados de los lípidos (ácidos alcanóicos, alcanoles, n-alcanos y n-alquenos). También se observaron productos derivados de los polisacáridos (ácidos, furanos, furanos reducidos, anhidro-azúcares, proteínas y lignina). Algunos de los productos encontrados en estas muestras control, junto con la presencia de

marcadores de carbón negro, confirmaron el impacto en el pasado de incendios forestales en la zona de estudio.

(a)



Origen	Número
Polisacárido	2, 3, 4, 6, 12, 14, 16, 25
Polifenol/Carbón negro	5, 9, 10,
Proteína	7, 9, 13, 15, 18
Proteína/Carbón negro	8, 11
Polifenol/Lignina	15, 17, 18
Polifenol	19
Lignina	17, 20, 22, 23, 24,
Lípido	21, 26, 27, 29, 31-36
Contaminante	*

(b)

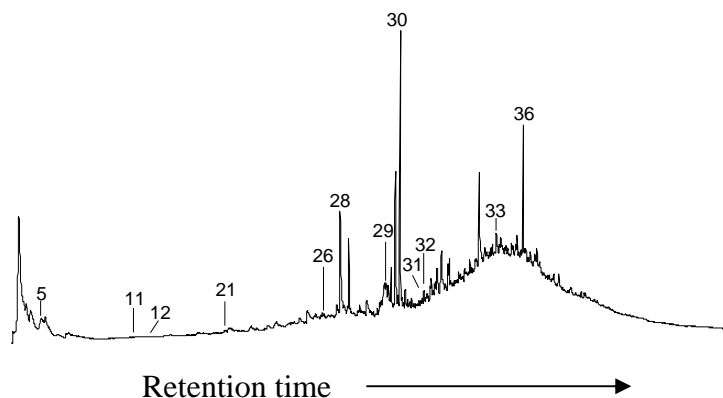


Fig 1. Pirogramas de la SOM extraída de macroagregados de suelo bajo *Q. coccifera* (a) 25°C (b) 500°C.

La composición de la materia orgánica extraída de los suelos calentados a 220° C, fue bastante similar a la obtenida de los suelos no calentados. Los cambios en la caracterización de la SOM se iniciaron a 380° C cuando se observó una disminución en el número de compuestos, y una reducción de la intensidad de la mayoría de las señales cuando se comparaban con las obtenidas de las muestras control. Productos derivados de los polisacáridos y la lignina y algunos procedentes de los polifenoles, no se detectaron en los pirogramas sugiriendo que la materia orgánica lábil fue probablemente destruida por las altas temperaturas.

Los pirogramas de la materia orgánica extraída de los suelos calentados a 500° C fueron muy diferentes de los obtenidos en los tratamientos con temperaturas más bajas no detectándose la mayoría de los compuestos observados en estos. La proporción cada vez menor de material pirolizado podría deberse en parte al enriquecimiento selectivo de componentes aromáticos resistentes al calor. Como consecuencia de esto, en los pirogramas de las muestras de ambos ambientes y fracciones calentadas a 500° C, la mayoría de los productos de polisacáridos, lignina, polifenoles, proteínas y lípidos no fueron observados.

## CONCLUSIONES

La materia orgánica extraída de las dos fracciones de agregados de los suelos control, bajo planta y desnudos, presentaba composiciones similares. En ambas fracciones de agregados de los suelos control, los componentes dominantes de la SOM comprenden una gran variedad de polifenoles y polisacáridos con algunas cantidades de compuestos derivados de la variedad de plantas existentes en la zona, tales como lignina y alcanoles oxidados.

La capacidad de este suelo Mediterráneo para almacenar SOM puede estar relacionada con una baja tasa de descomposición del material vegetal, generalmente la principal fuente de SOM. Además, el bajo grado de oxidación observada en la lignina y los n-alcenos (n-2-alcenos ausentes) sugieren que estos componentes vegetales, que puedan estar presentes en las muestras de los suelos bajo planta y desnudos, estaban bien conservadas lo que indica una reducida degradación de la SOM en ambos ambientes.

Se encontraron indicios del impacto de incendios forestales en la zona de estudio al analizar los pirogramas de los suelos control (benceno, tolueno, otros metilbencenos y piridina). Sin embargo, no se detectaron hidrocarburos aromáticos policíclicos que pudieran confirmar este hecho. La disminución de la proporción de materiales pirolizados detectada a 500° C podría deberse en parte al enriquecimiento selectivo de componentes aromáticos resistentes al calor o a la presencia de material carbonoso refractario quemado “no pirolizable”.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Andreu, V., Imeson, A.C., Rubio, J.L., 2001. Temporal changes in soil aggregates and water erosion after wildfire in a Mediterranean pine forest. *Catena*, 44: 69–84.
- FAO, 2006. World Reference Base for Soil Resources, 2006. World Soil Resources Reports, 103. FAO, Rome.
- Giovannini, G., 1994. The effect of fire on soil quality. In: M. Sala and J.L. Rubio (Editors), *Soil erosion and degradation as a consequence of forest fires*. Geofoma Ediciones, Logroño, pp. 15-29.
- González-Pérez, J.A., González-Vila, F.J., Almendros, G., Knicker, H., 2004. The effect of fire on soil organic matter—a review. *Environment International*, 30: 855–870.
- González-Vila, F.J., Tinoco, P., Almendros, G., Martín, F., 2001. Pyrolysis–GC–MS analysis of the formation and degradation stages of charred residues from lignocellulosic biomass. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 1128–1131.
- Doerr, S.H., Shakesby, R.A., Walsh, R.P.D., 2000. Soil water repellency, its characteristics, causes and hydro-geomorphological consequences. *Earth-Science Reviews* 51, 33– 65.
- Jackson, M.L., 1958. *Soil Chemical Analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Knicker, H., 2007. How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon? A review. *Biogeochemistry*, 85: 91–118.
- Nierop, K.G.J., Verstraten, J.M., 2003. Organic matter formation in sandy subsurface horizons of Dutch coastal dunes in relation to soil acidification. *Organic Geochemistry*, 34: 499–513
- Nierop, K.G.J., van Lagen, B., Buurman, P., 2001. Composition of plant tissues and soil organic matter in the first stages of a vegetation succession. *Geoderma*, 100: 1-24.
- Rubio, J.L., Forteza, J., Andreu, V., Cerni, R., 1996. Effects of forest fires on runoff and soil erosion. In: I. Pla Sentis, R. López Falcon, D. Lobo Lujan (Editors), *Soil Erosion Processes on Steep Lands: Evaluation and Modelling*, Cidiat, Merida, pp. 41-53.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K., 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics (Review). *Soil & Tillage Research*, 79 (1): 7-31.