

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА»

ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

На правах рукописи

ФАРХОДОВ ЮЛИАН РОБЕРТОВИЧ

**МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СОСТАВ ЛАБИЛЬНОГО И СТАБИЛЬНОГО
ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ТИПИЧНЫХ ЧЕРНОЗЕМОВ
РАЗНОГО ВИДА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

СПЕЦИАЛЬНОСТЬ 1.5.19. (03.02.13) – Почвоведение (биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Научные руководители:

доктор биологических наук

Куликова Наталья Александровна,

доктор сельскохозяйственных наук

Холодов Владимир Алексеевич

Москва

2022

Оглавление	
Введение	4
Глава 1. Обзор литературы.....	9
1.1. Почвенное органическое вещество и его основные функции в агроценозах	9
1.2. Пулы почвенного органического вещества и подходы для их оценок	12
1.2.1. Биологическое фракционирование	13
1.2.2. Химическое фракционирование почвенного органического вещества.....	14
1.2.3. Денсиметрическое фракционирование.....	16
1.2.4. Термическое фракционирование.....	18
1.3. Основные современные методы исследования молекулярного состава почвенного органического вещества.....	21
1.3.1. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса	21
1.3.2. Масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье	24
1.3.3. Аналитический пиролиз.....	26
Глава 2. Объекты и методы исследования.....	35
2.1. Отбор и характеристика почвенных образцов	35
2.2. Выделение и характеристика денсиметрических фракций почв	40
2.3. Определение содержания и изотопного состава углерода и азота в почве и в денсиметрических фракциях.....	42
2.4. Оценка молекулярного состава органического вещества черноземов и их денсиметрических фракций двухстадийным пиролизом	43
2.4.1. Выбор условий проведения пиролитических экспериментов.....	43
2.4.2. Проведение двухстадийного пиролиза	44
2.5. Оценка ЖК состава почвы	45
2.5.1. Выбор условий проведения термохимического пиролиза почвы	45
2.5.2. Оценка ЖК состава почв.....	45
2.6. Статистическая обработка данных.....	46
Глава 3. Результаты и обсуждение	47
3.1. Молекулярный состав органического вещества типичных черноземов различного вида использования*	47

3.1.1. Методические аспекты оценки молекулярного состава почвенного органического вещества методом аналитического пиролиза	47
3.1.2. Молекулярный состав термолабильного органического вещества типичных черноземов различного вида использования	58
3.1.3. Молекулярный состав термостабильного органического вещества типичных черноземов различного вида использования	64
3.1.4. Жирнокислотный состав типичных черноземов различного вида использования	72
3.2. Денсиметрические фракции типичных черноземов различного вида использования.....	83
3.2.1. Адаптация метода денсиметрического фракционирования для изучения пулов почвенного органического вещества	83
3.2.2. Общая характеристика органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов	86
3.2.3. Характеристика органического вещества денсиметрических фракций черноземов различного вида использования.....	91
3.3. Молекулярный состав органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов различного вида использования.....	96
3.3.1. Молекулярный состав термолабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов	96
3.3.2. Молекулярный состав термостабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов	104
3.3.3. Молекулярный состав термолабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования.	112
3.3.4. Молекулярный состав термостабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования	122
Выводы	130
Список литературы.....	132
Приложение	170

Введение

Почвы являются самым большим резервуаром углерода в наземных экосистемах и оказывают влияние на глобальный цикл этого элемента. С одной стороны, процессы секвестрации углерода способствуют снижению его содержания в атмосфере, с другой – разложению почвенного органического вещества (ПОВ), что приводит к его эмиссии (Lal, 2004, 2008). Оценка выраженности этих процессов – серьезный вызов для современного почвоведения.

Устойчивость ПОВ определяется как его строением на молекулярном уровне, так и его принадлежностью к конкретному пулу – определенной группе ПОВ однородной по каким-либо свойствам. В связи с этим, в настоящее время активно развиваются направления почвоведения, связанные с изучением молекулярной структуры различных пулов ПОВ, особенно в зависимости от вида землепользования. Актуальность подобных оценок имеет как научную, так и практическую значимость. Данные о показателях молекулярного строения пулов ПОВ востребованы как для моделирования устойчивости органического вещества, так и для изучения локальных и глобальных циклов углерода (Холодов, 2020).

Одним из самых распространенных методов изучения пулов ПОВ является денсиметрическое фракционирование, которое позволяет выделять пулы лабильного и стабильного ПОВ и, кроме того, исследовать основной процесс физической стабилизации ПОВ, адсорбированного на минеральной матрице почвы (Golchin et al., 1994; Six et al., 2002). Важное преимущество этого подхода – возможность получения препаратов фракции ПОВ, пригодных для дальнейшего исследования их качественного и количественного состава.

Аналитический пиролиз является одним из признанных методов химического анализа, который эффективно используется для характеристики молекулярного состава ПОВ. Данный подход позволяет оценивать содержание различных компонентов ПОВ: углеводов, белков, липидов,

лигнина, дубильных веществ, азотсодержащих компонентов небелкового происхождения и высококонденсированных молекул ПОВ. В рамках аналитического пиролиза можно выделить два наиболее перспективных метода для изучения строения ПОВ: двухстадийный пиролиз и термохимоллиз. Двухстадийный пиролиз позволяет изучать состав термических фракций, которые в дальнейшем могут быть использованы для оценки стабильности ПОВ. Термохимоллиз проводится в присутствии дериватирующего агента, способствующего избежать глубокой деструкции ПОВ, что дает возможность более детально исследовать структуру ПОВ. Главным преимуществом аналитического пиролиза считается простая пробоподготовка и большой объем накопленных знаний о принадлежности пиролизатов к тем или иным компонентам ПОВ (Хмельницкий и др., 1980; Moldoveanu, 2019).

Известно, что черноземы являются одними из самых плодородных почв мира. В России, на черноземах расположены основные центры растениеводства. Однако активное использование этих почв в сельском хозяйстве может оказывать негативное влияние на процессы трансформации и накопления ПОВ. Так как процессы трансформации и накопления ПОВ непосредственно влияют на плодородие черноземов и на их способность выполнять биосферные функции, поэтому изучение состава ПОВ в условиях различного вида землепользования является актуальной задачей современного почвоведения (Афанасьева, 1966; Щербаков, Васенев, 2000; Смагин, 2011).

Цель работы: оценить влияние вида использования типичных черноземов на особенности молекулярного состава лабильного и стабильного органического вещества.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- сформировать представительную выборку черноземов и их фракций, отвечающую поставленной цели;
- адаптировать и оптимизировать для почвенного органического вещества черноземов и их фракций подходы к анализу их молекулярного состава методами аналитического пиролиза;
- провести сравнительный анализ молекулярного состава термостабильного и термолабильного органического вещества черноземов и их денсиметрических фракций;
- выявить зависимость особенностей молекулярного состава органического вещества черноземов от вида их использования.

Научная новизна

Впервые изучен молекулярный состав термостабильной и термолабильной фракций ПОВ типичных черноземов методом двухстадийного пиролиза. Выявлены новые маркеры трансформации ПОВ (левоглюкозенон, фурфурол, метоксифенолы, фенолы, алканы, алкилбензолы, бензонитрил, индолы). Установлено, что восстановление запасов ПОВ в черноземе происходит за счет фиксации компонентов лигнина на минеральной матрице.

Научная и практическая значимость

Предложены и апробированы методические подходы к изучению органического вещества черноземов пиролитическими методами, которые могут быть использованы в практической деятельности при оценке почв земель сельскохозяйственного назначения с различной историей использования участков.

Основные положения, выносимые на защиту

Условия проведения двухстадийного пиролиза, позволяющие надежно разделять ПОВ черноземов на термолабильную и термостабильную фракции.

Особенности молекулярного состава термолабильного и термостабильного ПОВ черноземов зависят от вида использования.

Особенности молекулярного состава термолабильного и термостабильного ПОВ черноземов различных денсиметрических фракций определяются локализацией во фракции и видом использования почв.

Личный вклад автора. Выбор направления исследования, подбор и обобщение литературных источников, пробоподготовка, лабораторный анализ проб, обработка, обобщение, интерпретация полученных данных, подготовка публикаций и сообщений. В работе [1] вклад автора составил 0,3 печатных листа (п.л.) из 0,8 п.л., в работе [2] 0,12 п.л. из 0,89 п.л., в работе [3] 0,2 п.л. из 1,6 п.л., в работе [4] 0,15 п.л. из 0,60 п.л., в работе [5] 0,13 п.л. из 1,00 п.л.

Публикации:

1. **Farkhodov Y. R.**, Yaroslavtseva N. V., Kholodov V. A. Methodological Aspects of the Determination of Fatty Acids in Soil by Thermochemolysis // Eurasian Soil Science. – 2021. – V. 54. – № 8. – P. 1176-1182. – [DOI: 10.1134/S1064229321080068](https://doi.org/10.1134/S1064229321080068). IF Scopus - 1,575, количество печатных листов (п.л.) – 0,8, личный вклад – 0,3 п.л.

2. **Фарходов Ю. Р.**, Ярославцева Н. В., Яшин М. А., Хохлов С. Ф., Ильин Б. С., Лазарев В. И., Холодов В. А. Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного землепользования // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2020. – Т. 103. – С. 85–107. – [DOI: 10.19047/0136-1694-2020-103-85-107](https://doi.org/10.19047/0136-1694-2020-103-85-107). ИФ по РИНЦ (2021) - 0,886, 0,81 п.л., 0,12 п.л.

3. Kholodov V. A., **Farkhodov Y. R.**, Yaroslavtseva N. V., Aydiev A. Y., Lazarev V. I., Ilyin B. S., Ivanov A. L., Kulikova N. A. Thermolabile and Thermostable Organic Matter of Chernozems under Different Land Uses // Eurasian Soil Science. – 2020. – V. 53. – № 8. – P. 1066-1078. – DOI: [10.1134/S1064229320080086](https://doi.org/10.1134/S1064229320080086). IF Scopus -1,575, 1,6 п.л., 0,2 п.л.

4. Холодов В. А., **Фарходов Ю. Р.**, Жеребкер А. Я., Ярославцева Н. В. Оценка возможности применения аналитического двухстадийного пиролиза

с хроматомасс-спектрометрией для изучения гуминовых веществ *in situ*. // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2018. – Т. 94. – С. 3–18. – DOI: [10.19047/0136-1694-2018-94-3-18](https://doi.org/10.19047/0136-1694-2018-94-3-18). ИФ по РИНЦ (2021) - 0,886, 0,6 п.л., 0,15 п.л.

5. Kholodov V. A., Yaroslavtseva N. V., **Farkhodov Y. R.**, Belobrov V. P., Yudin S. A., Aydiev A. Y., Lazarev V. I., Frid A. S. Changes in the Ratio of Aggregate Fractions in Humus Horizons of Chernozems in Response to the Type of Their Use // *Eurasian Soil Science*. – 2019. – V. 52. – № 2. – P. 162-170. –DOI: 10.1134/S1064229319020066. IF Scopus -1,575, 1,0 п.л., 0,125 п.л.

Апробация работы

Основные положения работы были доложены и обсуждены на заседании кафедры общего земледелия и агроэкологии факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова, на заседании отдела биологии и биохимии почв Почвенного института им. В.В. Докучаева, а также на конференциях: Международной конференции СНГ МГО по гуминовым инновационным технологиям (Москва, 2017, 2019, 2021), VIII Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, 2018), Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы современного почвоведения» (Казань, 2018), Открытой конференции молодых ученых Почвенного института им. В.В. Докучаева «Почвоведение: Горизонты будущего» (2017, 2018, 2020, 2021, Москва), Международной научной конференции XXV Докучаевские молодежные чтения (Санкт-Петербург, 2022).

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Почвенное органическое вещество и его основные функции в агроценозах

Почвенное органическое вещество (ПОВ) — это совокупность всех органических соединений, присутствующих в почвах, за исключением живых организмов (Орлов et al., 1996; Орлов, 2005). ПОВ включает как свежепоступившее, так и преобразованное органическое вещество (ОВ) — гумус, под которым понимают совокупность всех органических соединений в почвенном профиле, утративших связь с элементами структурной организации клеток и тканей (Орлов и др., 1996). Гумус состоит из неспецифических, специфических гумусовых веществ и промежуточных продуктов гумификации. К неспецифическому ПОВ относятся липиды, белки, углеводы, аминсахара, лигнин, танины, органические кислоты. Из этих компонентов, прошедших глубокую физико-химическую трансформацию, формируются специфические компоненты ПОВ, к которым относятся прогуминовые вещества, гумусовые кислоты, и негидролизуемый остаток (гумин) (Орлов, 1990; Орлов, 2005).

Содержание ПОВ во многом определяет плодородие почвы (Семенов, Когут, 2015). Показано, что при увеличении содержания углерода в почве растет первичная продукция, при этом после достижения определенного порога по содержанию углерода, прирост урожайности прекращается (Zvonuua et al., 2008). Минерализация ПОВ также может привести к увеличению первичной продукции. Разложение компонентов ПОВ ведет к высвобождению элементов питания, в первую очередь азота, увеличению концентрации CO₂ в приземном слое воздуха, сопровождающейся увеличением фотосинтетической ассимиляции углерода, что в итоге приводит к росту биомассы растений (Ainsworth, Long, 2005).

Рассматривая более детально роль ПОВ в агроценозах, исследователи выделяют у него несколько основных функций: питание растений, регулирование физических, химических и биологических свойств почвы, которые обеспечивают устойчивость в системе почва–растения–микроорганизмы (Семенов, Когут, 2015).

ПОВ является важным природным источником и резервуаром макро- и микроэлементов, необходимых для роста и развития растений, почвенных животных и микроорганизмов. ПОВ содержит до 99% азота, 15–80 % фосфора, 50–70 % серы от всего содержания этих элементов в почве, а также другие макро- и микроэлементы, которые в результате минерализации ПОВ становятся доступными для питания растений (Allison, 1973).

ПОВ оказывает сильное влияние на физические свойства почвы. Наличие достаточного количества ПОВ способствует оптимизации плотности почвы, тем самым улучшая ее водный и воздушный режим (Шейн, 2005). Некоторые составляющие ПОВ, такие как гумусовые вещества, эксудаты корней, полисахаридные метаболиты микроорганизмов, гликопротеиды микоризных грибов, формируют и определяют устойчивость почвенных агрегатов (Morel et al., 1991; Милановский, 1993; Wright, Uradhyaya, 1998; Tang et al., 2011). Также ПОВ во многом определяет цвет и отражательную способность почвы (Розанова, 2000), тем самым регулируя ее температурный режим. Показано, что значение яркости цвета почвы по Манселлу почти линейно зависит от содержания ПОВ, а значения альбедо экспоненциально падает при увеличении содержания ПОВ от 0,5 % до 2% (Schulze et al., 1993; Murphy, 2014).

ПОВ играет важную роль в определении ее химических свойств, особенно емкости катионного обмена (ЕКО) и буферности; оно активно взаимодействует с катионами и анионами почвенного раствора. Показано, что увеличение содержания ПОВ при неизменном составе и содержании илистой фракции приводит к достоверному повышению ЕКО (McGrath et al.,

1988; Oades, 1989; Chan et al., 1992). ПОВ, за счет присутствия в его структуре разнообразных функциональных групп (-NH₂, -OH, -COOH, -COOR, -CONH₂, -NHR), обладающих различными константами кислотности, играет роль буфера в широком диапазоне pH, а также связывает ионы H⁺ и Al³⁺, являющиеся источниками кислотности (Thomas, 1975; Соколова и др., 2012). Помимо этого, разнообразие функциональных групп в составе ПОВ позволяет задерживать опасные радионуклиды и ионы тяжелых металлов, не позволяя им попадать в грунтовые воды и в сельхозпродукцию (Водяницкий, 2008). При этом нужно понимать, что образование металлоорганических соединений носит конкурентный характер и в случае, когда молекула ПОВ связывается с компонентами минеральной матрицы почвы, возможность получения устойчивых металлоорганических комплексов падает, что может приводить к мобилизации ионов металлов (Минкина, 2006; Тулина, 2010).

Кроме того, ПОВ содержит в себе ферменты и другие биологически активные соединения (Семенов, Когут, 2015; Гарбуз и др., 2016). Особенности ферментативной активности почвы определяют скорость и направление трансформации ПОВ, микробиологическую активность, доступность элементов питания и в итоге плодородие почвы (Tabatabai, 1994). При изучении активности почвенных гидролитических ферментов в образцах гумусового горизонта всех основных типов почв Европейского союза показано, что их активность зависит от содержания углерода в почве, меньше от величины pH и не зависит от климата и вида использования почвы (Hendriksen et al., 2016). В другой работе показано, что освоение ненарушенных оксисолей бразильских саванн, сопровождаемое уменьшением содержания ПОВ, приводит к снижению микробиологической и ферментативной активности почв (Vinhai-Freitas et al., 2017). При переходе от традиционной системы обработки почвы к нулевой, а также при применении минеральных удобрений, ферментативная активность поверхностного слоя почвы возрастает (Bandick, Dick, 1999; Celik et al., 2011;

Grandy et al. 2013; Zuber, Villamil, 2016). При изучении физиологической активности ПОВ чаще всего исследуют активность гуминовых веществ (ГВ) по отношению к растениям и микроорганизмам. Известно, что низкомолекулярные гуминовые кислоты (ГК) способны проникать в плазматическую мембрану клетки, влиять на усвояемость питательных веществ и оказывать стимулирующее воздействие на рост и развитие растительных клеток (Nardi et al., 2002; Аброськин и др., 2016). Также показано положительное влияние воздействия ГК по отношению к симбиотическим бактериям дождевых червей (*Aporrectodea caliginosa*), нитрифицирующим бактериям и ризосферным микроорганизмам (Vallini et al., 1993; Vallini et al., 1997; Тихонов, 2010).

Содержание почвенного углерода оценивают в 1550 Гт, что в 3,3 раза больше атмосферного и в 4,5 раза больше, чем в живом веществе (Lal, 2008). ПОВ почвы является как резервуаром, так и источником углерода. Доля глобальной эмиссии CO₂, вызванной сельскохозяйственным производством, оценивается в 10–23% (Lal, 2004). Однако почвы не только выделяют, но и секвестрируют углерод (поглощают с фиксацией). Показано, что потенциальная способность к секвестрации у пахотных земель одна из самых высоких, и если для всех пахотных почв изменить тип обработки с традиционной на способствующую накоплению углерода (например - прямой посев), то возможно добиться секвестрации на уровне 0,5-1 Гт С/год к 2050 г (Frank et al., 2019). Для построения прогностических моделей динамики углерода в почве, а также для оценки скорости его минерализации, применяют концепцию о теоретических (концептуальных) пулах ПОВ (Jenkinson, Rayner, 1977; Christensen, 1996; Six, Jastrow, 2017).

1.2. Пулы почвенного органического вещества и подходы для их оценок

Для моделирования круговорота углерода активно применяется концепция о пулах ПОВ в почве. Эта концепция предполагает существование

ПОВ с различающимися скоростями оборота углерода, поэтому формальным критерием для разделения пулов считают среднее время существования ПОВ (Six, Jastrow, 2017). В рамках концептуальной модели круговорота ПОВ выделяют несколько пулов: активный и пассивный, иногда промежуточный (медленный). Время оборота активного пула оценивают от 1 года до 10 лет, промежуточного – до 100 лет, а пассивного – больше 100 лет (Jenkinson, Rayner, 1977; von Lutzow et al., 2008).

К активному пулу относят незащищенные растительные, животные и микробные остатки, а также экссудаты корней. Эти компоненты активного пула состоят из легкоразлагаемых соединений: углеводов, белков, аминсахаров, органических кислот (Zou et al., 2005; Smith, Paul, 2017). Промежуточный или медленный пул, представлен частично разложившимися остатками опада, входящими в состав физически защищённого внутриагрегатного ПОВ. При этом считается, что чем меньше размер агрегата, тем более разложенное ПОВ в нем заключено (von Lutzow et al., 2008). К пассивному пулу относится наиболее гумифицированное, тесно связанное с минеральной матрицей ПОВ, а также углеподобные вещества (Motavalli et al., 1994; Wander, 2004). Важно заострить внимание на том, что на практике исследователи работают с фракциями, с помощью которых пытаются охарактеризовать пулы ПОВ как с точки зрения времени их существования, так и строения (Холодов, 2020).

1.2.1. Биологическое фракционирование

Биологическое фракционирование предназначено для оценки устойчивости различных пулов ПОВ к микробиологическому разложению и основано на изучении скорости выделения CO_2 в условиях инкубационного эксперимента.

Подход позволяет оценить константы скорости минерализации ПОВ, размер биологически активного пула, а также индекс биологической стабильности, который показывает во сколько раз количество устойчивого к

минерализации углерода больше к потенциально минерализуемому (Franzluebbers et al., 2000; Семенов, 2019). Преимуществом биологического фракционирования является то, что оно позволяет напрямую определить размер активного пула, а главным недостатком – невозможность препаративного выделения исследуемой фракции. К другим недостаткам можно отнести длительность анализа (недели), а также сложность в выборе регрессионной модели, описывающей кинетику процесса выделения CO₂, для разделения медленного и пассивного пулов (Motavalli et al., 1994). Обеспеченность активным пулом ПОВ в пахотных вариантах почв в несколько раз меньше, чем в естественных, однако, биологизация земледелия, минимизация обработки и нулевая обработка (прямой посев) почвы приводит к увеличению активного пула (Collins et al., 2000; Семенов et al., 2018). Отсутствие препаративно выделенных фракций ПОВ осложняет изучение их состава, поэтому для изучения строения ПОВ чаще всего используют химическое и физические виды фракционирования.

1.2.2. Химическое фракционирование почвенного органического вещества

Изучение пулов ПОВ на основе химического фракционирования основано на экстракции компонентов ПОВ разной растворимости. Такой подход, в отличие от методов фракционирования по устойчивости к микробному разложению, позволяет оценить не только размер пула, но и его состав, а также препаративно выделить интересующую фракцию.

Для изучения активного пула чаще всего выделяют фракции ОВ, экстрагируемые водой различной температуры и растворами 0,5 М К₂SO₄, 1 и 6 М HCl, 0,1 М NaOH (Когут, Булкина, 1987; Vijaysingh et al., 1988; Xu et al., 1997; Sollins et al., 1999; Gregorich et al., 2003; Fang et al., 2005; Холодов, 2020). Для характеристики медленного пула используют фракцию гуминовых веществ (ГВ), получаемых 0,1 М NaOH вытяжкой из почвы, предварительно декальцинированной соляной кислотой или пиродифосфатной вытяжкой (Garcia et al., 1993; Холодов, 2020), а также полученные из таких вытяжек

препараты ГК (Swift, 1996). К пассивному пулу относят гумин – нерастворимую ни в кислотах, ни в щелочах часть гумуса, которая остаётся после экстракции ГВ из почвы (Swift, 1996). В целом прослеживается связь содержания растворенного органического вещества (РОВ) и потенциально-минерализируемого ПОВ, которые характеризуют активный пул ПОВ (Marschner, Noble, 2000; Marschner, Kalbitz, 2003; McLauchlan, Hobbie, 2004). Кроме того, по результатам углеродного датирования, показаны различия химических фракций по их возрасту (Martel, Paul, 1974; Paul et al., 1997). В качестве главного недостатка химического фракционирования указывается на то, что фракции содержат в себе вещества разной степени деградации и биодоступности (Заварзина и др., 2021; Семенов, Когут, 2015). Так, фракция водорастворимого ПОВ может включать высоко конденсированные ароматические соединения (так называемый черный углерод), которые никак нельзя отнести к быстро разлагаемому веществу (Kim et al., 2004). При изучении способности водорастворимого ПОВ к минерализации показано, что его лабильная часть с периодом полураспада от 2 до 5 дней составляет 59–88% от общего углерода. Авторами установлено, что РОВ торфяных и подзолистых почв верхнего горизонта (0-20 см), по сравнению с РОВ чернозема, стабильно к разложению и период его полураспада достигает 8,5 лет (Kalbitz et al., 2003). Показано, что при извлечении ГК из почвы, в раствор переходят в том числе и вещества неспецифической природы: углеводы, аминокислоты, различные метаболиты микроорганизмов и грибов (Allard, 2006). Фракция гумина также содержит ПОВ на различных стадиях разложения, при этом она тесно связана с минеральной матрицей (Hayes et al., 2017). Однако состав экстракционных фракций является достаточно чувствительным показателем трансформации ПОВ в зависимости от вида использования почв (Lodygin, Abakumov, 2022). Во многих исследованиях показано, что в пахотных почвах, в условиях недостатка или отсутствия дополнительного внесения органических соединений с

удобрениями, происходит уменьшение содержания углерода в вытяжках и изменение их состава (Когут, 2012; Guimaraes et al., 2013). Снижение механической нагрузки на почву, например, при использовании прямого посева, позволяет уменьшить скорость минерализации ПОВ по сравнению с традиционной обработкой. Это, в частности, выражается в повышении содержания ГВ и уменьшении степени их ароматичности (Gonzalez Perez et al., 2004; Когут, 2012; dos Santos et al., 2018). Важно отметить, что применение только метода химического фракционирования ограничивает возможность для изучения физически защищенного ПОВ, содержание которого зависит от вида использования почвы (Six et al., 2000; Zotarelli et al., 2007). Кроме того, как уже отмечалось выше, возможность совместной экстракции недавно образованного и древнего ПОВ затрудняет интерпретацию результатов.

1.2.3. Денсиметрическое фракционирование

Фракционирование по плотности основано на разделении почвенных частиц в тяжелых жидкостях. Известно множество схем и протоколов денсиметрического фракционирования, выделяющих разнообразные фракции (Роерлау et al., 2018), однако, в целом, денсиметрическое фракционирование позволяет выделить в основном две фракции ПОВ: легкое ПОВ и тяжелое, связанное с минеральной частью; при плотности разделения от 1,6 до 2,2 г/см³ (Травникова et al., 2010; Cerli et al., 2012; Griepentrog, Schmidt, 2013). Фракцию легкого ПОВ часто подразделяют на свободное и окклюдированное (внутриагрегатное, иммобилизованное на минеральной матрице). Свободное ПОВ состоит из несвязанных или слабосвязанных с минеральной частью почвы остатков растительного опада и считается наименее устойчивой частью ПОВ (Golchin et al., 1994; Six et al., 2002; Роерлау et al., 2018). Фракция окклюдированного ПОВ состоит из мелкодисперсных остатков растительного опада, находящихся внутри почвенных агрегатов, которые защищают его от деструкции. Характерной

особенностью органических соединений этой фракции является высокое отношение C/N и низкое содержание тяжелых изотопов углерода и азота, показывающие слабую степень его разложенности по сравнению с ПОВ минеральных денсиметрических фракций (Golchin et al., 1994; Wagai et al., 2009).

Одним из самых устойчивых пулов ПОВ, со временем оборота больше ста лет, является ПОВ тяжелой фракции, преимущественно представленное органоминеральными комплексами (Wagai et al., 2009). Денсиметрические фракции ОВ органоминеральных комплексов также можно разделить по степени трансформированности с граничной плотностью 2 г/см³ (John et al., 2005; Sollins et al., 2006). Фракция окклюдированного органического вещества с плотностью 1,6 (1,8)-2,0 г/см³ представлена комплексами ПОВ средней степени разложенности с тонкодисперсными алюмосиликатами, преимущественно группы смектита (Sollins et al., 2006). Фракция с плотностью > 2,0 г/см³, ее еще называют фракцией минерального остатка или минеральной фракцией, может быть представлена комплексами сильно трансформированного (гумифицированного) ПОВ с первичными и вторичными минералами различной степени дисперсности (Sollins et al., 2006).

Таким образом, фракционирование в тяжелой жидкости позволяет выделить свободную легкую фракцию ПОВ почвы, которая соответствует активному пулу, окклюдированную легкую фракцию, которая соответствует медленному пулу, а также фракцию минерального остатка, которая представляет пассивный пул ПОВ. Преимуществом данного подхода является возможность препаративного выделения фракций, что позволяет изучить структуру, физические и химические свойства ПОВ, входящего в их состав. Также благодаря этому подходу удалось раскрыть и изучить механизм физической стабилизации ПОВ внутри агрегатов (Golchin et al., 1994; Wander, Yang, 2000; Six et al., 2002; John et al., 2005; Helfrich et al., 2006;

Wagai et al., 2009; Buurman, Roscoe, 2011; Cerli et al., 2012; Артемьева et al., 2021). Недостатки такого подхода связаны с высокой трудоемкостью анализа и некоторыми методическими аспектами выбора тяжелой жидкости (Фарходов и др., 2020).

Применение денсиметрического фракционирования для изучения ПОВ в условиях различного землепользования показало, что наиболее чувствительной к смене вида использования является свободная легкая фракция, в меньшей степени чувствительны содержания ПОВ фракции минерального остатка и окклюдированного легкого ПОВ (Bremer et al., 1994; Six et al., 2000; Leifeld, Kogel-Knabner, 2005; Zotarelli et al., 2007; Marin-Spiotta et al., 2009; Овсепян, 2020). Также отмечают, что содержание свободной легкой фракции контролируется не только количеством поступивших растительных остатков, но и другими факторами, например, качественным составом опада, способом обработки и климатическими условиями (Gregorich et al., 2006). Показано, что при переходе от пашни к залежи происходит обогащение углеродом фракции минерального остатка (Leifeld, Kogel-Knabner, 2005; Овсепян, 2020).

1.2.4. Термическое фракционирование

Термическое фракционирование ПОВ основано на выделении групп веществ, сходных по своей устойчивости к температурной деструкции. Этот способ обычно реализуется в рамках 3 основных методов: термогравиметрического анализа (ТГА), дифференциального термического анализа (ДТА), дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Отдельно рассматривают анализ выделяющихся газов, который чаще всего представлен аналитическим пиролизом. Термические исследования материалов могут проводиться в присутствии различных газов. Изучение ПОВ обычно проводят в инертной атмосфере, что позволяет изучать процессы, происходящие в пиролитической ячейке, и, как следствие, более точно оценивать качественный и количественный состав ПОВ (Plante et al.,

2009). Термический анализ чаще всего проводят в условиях градиента температуры, что позволяет выделить и изучить термические фракции (Volkov et al., 2020). В основном различают две фракции: термолабильное и термостабильное ПОВ. Размер и температурная граница двух фракций будет в основном зависеть от состава ПОВ, но также на положение границы будут влиять условия анализа. При термическом разложении ПОВ до 220°C преимущественно происходят процессы дегидратации, при 300–350°C – разрушение углеводов и других алифатических соединений, при 400–450°C разрушается лигнин и другие полифенолы. Дальнейшая потеря массы, скорее всего, связана с деструкцией высоко конденсированных молекул, например «черного углерода» (Escudey et al., 1999; Ranalli et al., 2001; Strezov et al., 2004; De la Rosa et al., 2008; Volkov et al., 2020). Отметим, что существование двух термических фракций обосновано величиной энергии связи между атомами, которые разрушаются при достаточной термической нагрузке. Например, связи C-O, C-N и C-C являются слабыми (350–412 кДж/моль), а сила двойной связи C=C оценивается в 620 кДж/моль (Энциклопедия полимеров, 1974).

Соответствие термических фракций концептуальным пулам ПОВ оценивают, сравнивая термические характеристики с показателями биологической стабильности ПОВ, а также изучая среднее время существования ПОВ термических фракций по данным изотопного анализа углерода. Исследования в рамках первого подхода, проведенные Грегоришем и Планте с соавторами, показали, что содержание биологически минерализуемой части ПОВ обратно пропорционально зависит от температуры, при которой пиролизируется 50% ПОВ и энергией его деструкции (Plante et al., 2011; Gregorich et al., 2015). Сиверт с соавторами в своем исследовании установили, что скорость выделения CO₂ при микробиологической дегградации соответствует потере ПОВ при термическом разложении, но только в определенных температурных

диапазонах: до 100°C и в области 260-320°C (Siewert et al., 2012). Соколов с соавторами не выявили связи индекса биологической стабильности с термической стабильностью ПОВ (Соколов, 2021). Пелтре с соавторами указал на то, что связь термостабильности ПОВ и стабильности к минерализации может зависеть от содержания ПОВ: чем меньше содержание ПОВ, тем ПОВ более термостабильное и наоборот. Данное наблюдение авторы связывают с влиянием минеральной матрицы почвы на процессы стабилизации ПОВ (Peltre et al., 2013).

Также нужно отметить, что противоречивость выводов некоторых исследователей может быть связана с тем, что показатели термической и биологической стабильности, используемые для корреляционного анализа, практически во всех исследованиях различаются, что затрудняет сопоставление результатов..

Изучая среднее время существования термических фракций, исследователи получают не менее противоречивые результаты. Дородников с соавторами и Планте вместе с соавторами выявили, что ПОВ с температурой деструкции выше 480 и 600°C соответственно намного древнее, чем менее термостабильное ПОВ (Dorodnikov et al., 2007; Plante et al., 2013). При изучении термостабильности различных денсиметрических фракций ПОВ в температурном диапазоне от 200 до 400°C разницы в возрасте термических фракций не выявлено (Schiedung et al., 2017). В аналогичном исследовании, где изучали влияние термической деструкции (от 200 до 300°C) ПОВ фракции минерального остатка на его возраст, показано, что с увеличением температуры обработки возраст ПОВ, оставшегося после термической деструкции, увеличивался. При этом авторы отмечают, что эти изменения незначительны и не могут свидетельствовать о том, что термическое фракционирование позволяет выделять более устойчивое к микробному разложению ПОВ. Также они указывают на то, что в процессе пиролиза происходит карбонизация ПОВ, в результате чего молодое ПОВ становится

термически стабильным. Наконец, важно учитывать наличие частиц «черного углерода» в составе образца, который также как продукты карбонизации будет менять средний возраст его ПОВ (Helfrich et al., 2010).

Несмотря на неоднозначность отнесения различных термических фракций к концептуальным пулам ПОВ по биодоступности, метод термического фракционирования остается надежным для оценки процессов трансформации ПОВ. Для этого используется индекс термической стабильности – отношение потери массы термостабильной части ПОВ к массе всех потерь ПОВ или отношение содержания ПОВ термостабильной фракции к термолабильной. Показано, что данный индекс хорошо зарекомендовал себя при оценке зрелости ПОВ в процессе его трансформации (Dell'Abate et al., 2000). Для черноземов разного вида землепользования установлено, что наиболее высоким содержанием термостабильного ПОВ обладают почвы пахотных вариантов, для ненарушенных почв характерна высокая доля ПОВ термолабильной фракции (Volkov et al., 2020). Внесение растительных остатков и навоза повышает индекс термической стабильности (Barreto et al., 2021). Таким образом, термическое фракционирование – наиболее перспективный подход изучения ПОВ с целью оценки его трансформации при различной антропогенной нагрузке, включая вовлечение почв в сельскохозяйственное использование.

1.3. Основные современные методы исследования молекулярного состава почвенного органического вещества

1.3.1. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – метод исследования структуры химических веществ, основанный на явлении ЯМР – резонансном поглощении или излучении электромагнитной энергии веществом, содержащим ядра с ненулевым спином во внешнем магнитном поле, на частоте ν (называемой частотой ЯМР), обусловленное переориентацией магнитных моментов ядер. Важным аспектом метода ЯМР

спектроскопии являются магнитные взаимодействия ядер атомов внутри молекулы, которые влияют на параметры резонанса, что, в конечном итоге, позволяет судить о строении и структуре вещества (Сликтер, 1981). Как отмечено, ЯМР можно наблюдать только для ядер с магнитным моментом. Для изучения структуры ПОВ в основном используют ЯМР на ядрах ^1H , который называют протонным магнитным резонансом (ПМР), и на ядрах ^{13}C . Наиболее распространённый изотоп углерода ^{12}C не обладает магнитным моментом, поэтому не дает резонанса (Wilson, 1981).

На результаты ЯМР спектроскопии могут повлиять такие факторы, как вид растворителя, присутствие воды в образце, агрегатное состояние, настройки прибора. Подробно об ограничениях использования метода ЯМР спектроскопии при изучении природного ОВ изложено в докторских диссертациях С.Н. Чукова и И.В. Перминовой (Чуков, 1998; Перминова, 2000). Наиболее информативным и применяемым для характеристики ПОВ среди этих двух разновидностей является ЯМР на ядрах ^{13}C . Этот метод позволяет оценить состав и содержание углерода в основных структурных фрагментах в составе ПОВ (таблица 1)

Таблица 1 – Диапазон сигналов типичных химических сдвигов характерных для ПОВ (Simpson, Preston, 2008)

Диапазон сигнала, ppm	Тип атомов углерода
0-45	Незамещенный алифатические атомы
45-65	Замещенные алифатические атомы аминов (45-46 ppm) и метоксильных групп (56 ppm)
65-95	Кислород-замещенные алифатические атомы, кольцевые атомы углерода углеводов и атомы углерода эфиров
95-110	Атомы ацетальных групп
110-145	Ароматические атомы
145-160	Атомы фенольных соединений
160-190	Атомы карбоксильных групп и их производных
190-220	Атомы карбонильных групп

В настоящее время для изучения ПОВ возможно применение как жидкофазного, так и твердофазного вариантов ЯМР. Последний позволяет изучать состав и структуру ПОВ непосредственно в денсиметрических фракциях и в почве (Kogelknaber, Ziegler, 1993; Danchenko et al., 2020; Старцев, 2020). Главными недостатками, с точки зрения рутинного применения спектроскопии ЯМР, является высокая стоимость анализа, обусловленная дороговизной обслуживания ЯМР-спектрометра, а также длительность анализа, которая может занимать десятки часов (Wilson, 2013). Поэтому этот метод остается недоступным для многих исследователей, хотя и характеризуется высокой степенью разрешения. По данным ^{13}C ЯМР спектроскопии ПОВ зонального ряда почв выявлено, что для черноземов, по сравнению с дерново-подзолистыми и серыми лесными почвами, характерна самая высокая доля углерода ароматических и наименьшая доля алифатических фрагментов (Холодов, 2011; Чуков, 2018).

Применение ЯМР спектроскопии для изучения влияния типа использования почвы на состав ПОВ не всегда позволяет выявить различия. В обзорной статье, основанной на данных ^{13}C ЯМР спектроскопии 311 образцов разных типов почв в условиях различного землепользования, показано, что состав ПОВ не зависит вида использования. Авторы связывают это с тем, что ПОВ преимущественно представлено пассивным пулом ПОВ, которое почти не меняется под воздействием внешних факторов (Mahieu et al., 1999). Поэтому более результативным подходом является изучение состава ПОВ выделенных денсиметрических фракций. Показано, что состав свободного ПОВ закономерно зависит от вида растительности (Golchin et al., 1994; Six et al., 2001; Helfrich et al., 2006), при этом наличие обработки значительно влияет на состав ПОВ фракции минерального остатка, увеличивая долю ароматических структур (Helfrich et al., 2006; Danchenko et al., 2020).

1.3.2. Масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье

Масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (ИЦР МС ПФ) – метод сверхвысокого разрешения, применяемый для определения масс молекул органических соединений с высокой точностью, чтобы далее определить состав молекул на основе точной массы. Метод основан на детектировании циклотронных частот всех ионов, поступающих в ячейку ИЦР (Marshall, Hendrickson, 2002).

Метод ИЦР МС ПФ показывает впечатляющие результаты для анализа высокомолекулярных органических соединений, позволяет получать новые знания о строении и составе пептидов, липидов, нефти, ГВ (Лебедев, 2015). При этом метод остается малодоступным, в связи с дороговизной прибора (European Network of Fourier-Transform Ion-Cyclotron-Resonance Mass Spectrometry Centers).

Изучение образцов методом ИЦР МС ПФ разделяют на 4 этапа: подготовка образца к анализу, ионизация, получение и обработка данных, визуализация и интерпретация. При этом каждый этап включает множество аспектов проведения анализа, влияющие на итоговый результат, которые надо учитывать при интерпретации и сравнении данных (Bahureksa et al., 2021).

К настоящему моменту в литературе представлено большое количество примеров успешного применения ИЦР МС ПФ для характеристики молекулярного состава ПОВ. В исследовании, где изучали состав ПОВ 120 образцов почв, принадлежавших к различным типам почв (Камбисоль (Калькарик), Рендзик Лептосоль, Камбисоли (Дистрик, Эутрик, Гиперэутрик), Умбрисоль, Умбрик Лептосоль, Гаплик Лювисоль, Гаплик Альбелювисоль, Флювисоль, Планосоль, Глейсоль) под пашней, лугом и лесом показано, что молекулярный состав по данным ИЦР МС ПФ для варианта пашня и луг не

различается, а для почв под лесом характеризуется высокой долей лигнинов и таннинов. (Guigue et al., 2016).

Другое исследование, где изучали состав РОВ почв разных вариантов севооборота (бессменная пшеница и пшеница после пара) позволило выявить различия в молекулярной структуре РОВ в зависимости от глубины отбора проб (Romero et al., 2018). В аналогичном исследовании, где изучали состав РОВ почвы под пашней, лугом и лесом на разных глубинах, состав РОВ также менялся с глубиной, что связывают с ослаблением влияния растительных остатков (Seifert et al., 2016).

При изучении влияния многолетнего выращивания яблонь и сосен на камбисолях Бразилии показано, что, по сравнению с необрабатываемым вариантом, продолжительное выращивание яблонь приводит к большей деградации и ароматизации РОВ, чем выращивание сосен (de Oliveira et al., 2015).

Изучение РОВ гранулометрических фракций песчаных почв (Гаплик Ареносоль) национального парка Донана (Испания) методом ИЦР МС ПФ показало, что фракция песка обогащена полифенольными соединениями, а фракция пыли – белковыми и липидными. В этом же исследовании выявлено, что под влиянием пожаров в составе РОВ в обеих фракциях растет содержание ароматических компонентов (Jimenez-Morillo et al., 2018). При изучении влияния пожара на состав РОВ торфяных почв выявлена аналогичная закономерность увеличения относительного содержания поликонденсированных ароматических соединений вследствие пожаров (Solihat et al., 2019). Исследование процессов стабилизации РОВ, а также взаимосвязи особенностей состава РОВ и его содержания в почве обнаружено, что при накоплении РОВ в его структуре преобладают компоненты лигнина и ненасыщенных жиров, а при деградации – увеличивается содержание насыщенных жиров (Jimenez-Gonzalez et al., 2020). Однако метод ИЦР МС ПФ является очень требовательным к

препаративному выделению фракции ПОВ для изучения, что ограничивает его применение для неэкстрагируемых фракций.

1.3.3. Аналитический пиролиз

1.3.3.1. Общая характеристика

Аналитический пиролиз является одним из широко применяемых методов химического анализа для характеристики ПОВ (Хмельницкий и др., 1980; Moldoveanu, 2019). В зависимости от используемой температуры ПОВ подвергается либо термодесорбции (высвобождение летучих соединений), либо пиролизу (разрыв ковалентных связей). При пиролизе химические связи разрушаются в том случае, если полученная при нагревании энергия превышает энергию химической связи. Продукты деструкции называют пиролизатами. На данный момент самыми распространенными видами пиролиза является пиролиз в точке Кюри, филаментный пиролиз и пиролиз в микропечи. Долгое время самыми распространенными пиролизерами были пиролизеры по точке Кюри. Этот вариант пиролизера нагревает держатель образца, выполненный из ферромагнитного сплава, высокочастотными токами до температуры точки Кюри. Недостатком пиролизера данного типа является сложность в регулировании температуры: она регулируется за счет материала держателя. Достоинством считается то, что температура пиролиза точная и всегда воспроизводимая, что улучшает воспроизводимость самого анализа.

В пиролизере филаментного типа нагревается проволока, на которую наносят образец. Недостатками этих пиролизеров является возможность использования образцов только маленького объема (размеры проволоки не позволяют наносить большое количество образца) и небольшая инерционность набора температуры, которая сказывается на воспроизводимости результатов анализа. Достоинством является

возможность регулирования температуры путем варьирования напряжения, подаваемого на проволоку.

Третий тип пиролизера отличается от двух предыдущих наличием нагревательной ячейки – микропечки. Отличительной особенностью для этого пиролизера является то, что образец вносится уже в разогретую пиролитическую ячейку и поэтому фактор набора температуры не влияет на результаты анализа, как в случае с пиролизерами филаментного типа. Также этот тип пиролизера показывает такие же воспроизводимые результаты, как пиролизер по точке Кюри. При этом есть возможность регулировать температуру в весьма широких пределах. Поэтому данный тип пиролизера является наиболее популярным в настоящий момент (Алексеева, 1985; Moldoveanu, 2019).

Из-за высокой сложности состава ПОВ продукты пиролиза часто предварительно разделяют с помощью газовой хроматографии (ГХ) до их идентификации. Основной недостаток этого подхода связан с низкой летучестью или с несоответствием полярностей колонки и некоторых продуктов пиролиза (Saizjimenez, 1994). Для преодоления этого затруднения, составляющие ПОВ дериватизируют, чтобы повысить их летучесть и, в зависимости от целей, используют колонки разной полярности (Dignac et al., 2005).

Существуют несколько видов аналитических комплексов, которые включают в себя пиролизер. Эти приборы могут отличаться видом детектирования и ионизации, наличием или отсутствием предварительного разделения пиролизатов, а также конструкции пиролитической установки. Преимущества и недостатки основных видов аналитического пиролиза для исследования ПОВ представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Преимущества и недостатки основных видов аналитического пиролиза для исследования ПОВ (Sobeih et al., 2008).

Вид пиролиза	Преимущества	Недостатки
Пиролиз с детектированием пламенно-ионизационным детектором (Пир-ПИД)	Возможен полуколичественный анализ продуктов пиролиза	Невозможно напрямую идентифицировать продукты пиролиза
Пиролиз с газовой хроматографией и масс-спектрометрией (Пир-ГХ/МС)	Возможна идентификация продуктов пиролиза	Невозможна абсолютная количественная оценка, дискриминация веществ по летучести
Пиролиз с газовой хроматографией и масс-спектрометрией и дериватизацией (ТМАГ-Пир-ГХ/МС)	Возможна идентификация продуктов пиролиза, включая полярные и малолетучие компоненты	Невозможна абсолютная количественная оценка
Двухстадийный, трехстадийный пиролиз с газовой хроматографией и масс-спектрометрией (ДсПир-ГХ/МС)	Возможна идентификация продуктов пиролиза, с фракционированием по термостабильности	Невозможен количественный анализ, длительность анализа
Пиролиз с атомно-эмиссионным детектированием (Пир-АЭД)	Обнаружение азотсодержащих соединений	Селективность детектора
Пиролиз с полевой ионизацией и масс-спектрометрией (Пир-ПИМС)	Возможен количественный анализ	Сложность в идентификации соединений
Rock-Eval	Возможно изучение термостабильности	Невозможно идентифицировать продукты пиролиза

Как уже упоминалось, дериватизация в процессе пиролиза образца (термохимоллиз) позволяет идентифицировать малолетучие соединения.

Для дериватизации пиролизатов ПОВ обычно применяют алкилирующие (гидроксиды тетраметил-,этил-,бутиламмония, гидроксид триметилсульфония, ацетат тетраэтиламмония) и силилирующие (гексаметилдисилазан, триэтилсилилдиэтиламин, триметилсилилимидазол) реагенты (Reis et al., 2011). В зависимости от исследуемых соединений

подбирают необходимый дериватирующий агент. Самым распространенным дериватирующим агентом является тетраметиламмония гидроксид (ТМАГ, tetramethylammonium hydroxide, ТМАН), который метилирует кислотные функциональные группы молекул, делая их менее полярными и более летучими. ТМАГ является сильным основанием (pK_b 4.2) и может применяться при температурах термохимического разложения до 600°C . Эти свойства делают его универсальным дериватирующим агентом.

Использование термохимического разложения с дериватизацией пиролизатов ТМАГ и тетраметиламмония ацетатом (ТМАА), обладающим менее основными свойствами, для изучения жирных кислот (ЖК) в составе ГВ показало, что ТМАГ дериватирует как свободные, так и связанные ЖК, в то время как ТМАА позволяет изучать только свободные ЖК. Таким образом, применение этих двух дериватирующих агентов позволяет разделить ЖК по связи с ГВ (Guignard et al., 2005; Valkova et al., 2009). Термохимическое разложение также показало свою эффективность при оценке степени деградации лигнинных комплексов в почве (Nierop, Verstraten, 2003), при выявлении маркеров кутина/суберина (Nierop, 2001), идентификации таннинов (Filley et al., 2006) и сахаров (Estournel-Pelardy et al., 2011).

Основным недостатком аналитического пиролиза почвы является невозможность получения абсолютной количественной оценки состава образца. Это связано как с влиянием минеральной матрицы, которая может препятствовать высвобождению продуктов пиролиза, так и с условиями анализа, которые могут влиять на полноту мобилизации компонентов ПОВ в образце (Huang et al., 1998). На данный момент оценивают относительное обилие пиролизатов, этот метод хорошо работает в случае сравнительного анализа состава многих образцов (Sleutel et al., 2009). Обычно пиролизаты делятся на классы соединений, характеризующихся сходным поведением в условиях пиролиза, и сравниваются одноименные классы между разными образцами. Для того чтобы можно было сравнивать классы внутри образца,

нужны значения отклика для каждого соединения, а также стандартные образцы, что сильно усложняет анализ проб. Поэтому для идентификации пиролизатов методом ГХ/МС в большинстве случаев используют базы данных (наиболее известной является база Национального института стандартов и технологий США, The National Institute of Standards and Technology, NIST), а содержание оценивают относительно общей площади идентифицированных пиков.

1.3.3.2. Применение аналитического пиролиза для исследования ПОВ

Основным источником ПОВ являются компоненты растений, почвенных животных и микроорганизмов, которые главным образом состоят из лигнина, дубильных веществ, углеводов, жиров и протеинов. Среди продуктов пиролиза могут быть обнаружены маркеры большинства из этих классов соединений. Маркерами лигнина среди продуктов пиролиза являются 4-винилфенол, 2-метоксифенол (гваякол) и 2,6-диметоксифенол (сирингол), пирокатехол (1,2 – дигидроксибензол) (Martin et al., 1979; Kawamoto, 2017), при этом последнее соединение в этом ряду может также происходить из таннинов (Pinto et al., 2018). Пиролизаты углеводов в основном представлены производными фурана, левоглюкозана и циклопентанов (Pastorova et al., 1994). Пиролизатами кутина и суберина являются алифатические спирты, кислоты и гидроксикислоты, а также дикарбоновые кислоты (Nierop, 2001; Harman-Ware et al., 2021). Основные пиролизаты белков относятся к следующим группам соединений: амины, азотные гетероциклы и нитрилы (Leng et al., 2020). Информация о пиролизатах отдельных соединений применяется для интерпретации данных аналитического пиролиза ПОВ, поэтому продукты пиролиза ПОВ распределяются по группам в соответствии с их происхождением, что позволяет изучить структуру, генезис и направление трансформации ПОВ.

Для оценки направления и степени трансформации ПОВ по данным пиролиза чаще всего используют отношения определенных пиролизатов или групп пиролизатов. На основании многомерного статистического анализа данных по соотношению интенсивности отдельных соединений было предложено использовать отношения фурфурол/пиррол и пиррол/фенол как индексы минерализации ПОВ, а бензол/толуол как степень гумификации ПОВ (Andreetta et al., 2013). Отношение содержания липидных фрагментов к полисахаридным было предложено использовать как индекс степени разложенности ПОВ для почвы арктической тундры (Ikeya et al., 2004). На основании изменения соотношения содержания кутина и лигнина в составе ГВ возможно судить о происхождении ПОВ (Buurman et al., 2009) или о различии в землепользовании ПОВ (Andersen, White, 2006).

Существующие единичные работы показывают перспективность метода Пир-ГХ/МС как удобного инструмента для изучения влияния систем земледелия на состав ПОВ. Двухстадийный пиролиз типичных черноземов различного землепользования показал, что высокое содержание пиролизатов полисахаридов в термолабильном ПОВ является маркерами поступления свежего ОВ, высокое относительное содержание гетероциклических соединений азота в термостабильной фракции ПОВ было максимальным для наиболее деградированного варианта чернозема с отсутствием поступления свежего опада (бессменный черный пар) (Холодов и др., 2020). В другом исследовании было показано, что минимальная обработка замедляет процесс трансформации лигнина по сравнению с традиционной обработкой (Franchini et al., 2002). Исследование по изучению влияния внесения минеральных и органических удобрений на состав жирных кислот черноземов (Гаплик Чернозем) многолетнего полевого опыта (г. Бад-Лаухштедт, Германия) показало, что внесение удобрений повышает содержание длинноцепочечных насыщенных ЖК (C21:0 – C34:0) (Jandl et al., 2004).

Установлено разнонаправленное влияние навоза и минеральных удобрений на микробную биомассу почвы: при внесении навоза увеличивалось содержание компонентов лигнина, а при внесении минеральных удобрений – алифатических соединений (Бродский и др., 1988; Dorado et al., 2003). Розенберг с соавторами показали, что при известковании почвы падает скорость окисления лигнина, что приводит к увеличению относительного содержания производных суберина (Rosenberg et al., 2003).

С помощью аналитического пиролиза удалось связать процесс разложения ПОВ с активностью ферментов. Показано, что параметры почвенного дыхания на начальных стадиях инкубирования взаимосвязаны с содержанием полисахаридов в пробе (Dai et al., 2002). Особенности состава ПОВ могут объясняться активностью определенных ферментов. Например, содержание глюкозамидазы отрицательно коррелирует с содержанием полисахаридов и положительно – с содержанием лигнина; содержание глюкозидазы – с содержанием азотсодержащих соединений, а содержание ксиланазы – с содержанием ксилана и ксилозы (Leinweber et al., 2008; Grandy et al., 2009).

Возможность успешного применения аналитического пиролиза для характеристики молекулярного состава ПОВ физических фракций была продемонстрирована в ряде работ. При изучении макро и микроагрегатов черноземов Канады (Кастанозем Аридик) показано, что высокое содержание липидов и лигнина связано с водоустойчивостью макроагрегатов, для микроагрегатов подобной закономерности не выявлено (Monreal et al., 1995). При пиролизе различных гранулометрических фракций выявлено, что фракция ила обогащена углеводами и азотсодержащими компонентами, более грубые фракции обогащены преимущественно компонентами лигнина (Leinweber, Schulten, 1992; Sorge et al., 1994; Mertz et al., 2005; Monreal et al., 2010).

Установлено, что ПОВ легкой фракции горно-луговых альпийских почв Колорадо преимущественно состоит из лигнина, а в составе ее ОВ тяжелой фракции преобладают производные белковых молекул и полисахаридов (Grandy et al., 2007). В работе (Ludwig et al., 2015) на основании данных аналитического пиролиза показано, что производные полисахаридов ПОВ тяжелой фракции имеют микробиологическое происхождение и существует корреляция между содержанием этих компонентов и термической стабильностью ПОВ. Аналогичные результаты, свидетельствующие о микробном происхождении ПОВ тяжелой денсиметрической фракции и его термостабильности, были получены также при изучении черноземов многолетнего полевого опыта (Schulten, Leinweber, 1999). В другом исследовании продемонстрирована схожесть молекулярного состава свободной и внутриагрегатной фракций ПОВ при их выраженном отличии от минеральной фракции (Poirier et al., 2000).

Таким образом, аналитический пиролиз является мощным инструментом для характеристики ПОВ, главное преимущество которого – простая пробоподготовка к анализу, а недостатком – сложность в интерпретации пирогамм, т. к. при пиролизе происходит не только разрыв связей, но и образование новых соединений при взаимодействии свободных радикалов. Поэтому отсутствие унифицированной методики проведения Пир-ГХ/МС в значительной степени затрудняет сопоставление и интерпретацию результатов. Тем не менее высокая воспроизводимость результатов пиролиза, возможность получать большие массивы данных в совокупности с современными методами статистической обработки позволяют преодолеть трудности интерпретации пиролитических данных, поэтому для изучения ПОВ типичных черноземов был выбран именно этот метод.

В связи с этим целью работы было оценить молекулярный состав ПОВ в типичных черноземах разного вида использования и их денсиметрических

фракциях методом двухстадийного пиролиза с последующей газовой хроматографией с масс-детекцией.

Глава 2. Объекты и методы исследования*

2.1. Отбор и характеристика почвенных образцов

Исследования проводили с использованием образцов почв типичных черноземов Курской области на участках многолетних полевых опытов ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр» и Центрально-Черноземного биосферного заповедника им. В.В. Алехина. Участки пробоотбора расположены в юго-западной части Среднерусской возвышенности, в ландшафтной полосе южной лесостепи и луговых степей в бассейне рек Сейма и Младоти. Для данной территории характерен умеренно континентальный климат со среднегодовой температурой 4,7–5,6°C. Теплый период года со среднемесячной температурой воздуха выше нуля в среднем составляет 230 дней, а вегетационный период с температурой выше 5 градусов по Цельсию – 185 дней. По среднемноголетним данным продолжительность зимы – 135 дней. Среднегодовое количество осадков колеблется от 533 до 640 мм, основное количество осадков (60–65%) выпадает в теплое время года. Коренными породами в районе распространения черноземов лесостепной полосы Среднерусской возвышенности являются мергели и мел, а также третичные пески Полтавского яруса, перекрытые лессовидными породами водно-ледникового происхождения (Афанасьева, 1966; Mikhailova et al., 2000; Лазарев, 2007).

*Основные результаты изложены в данной главе, опубликованы в следующих статьях

3. Kholodov V. A., **Farkhodov Y. R.**, Yaroslavtseva N. V., Aydiev A. Y., Lazarev V. I., Ilyin B. S., Ivanov A. L., Kulikova N. A. Thermolabile and Thermostable Organic Matter of Chernozems under Different Land Uses // Eurasian Soil Science. – 2020. – V. 53, № 8. –P. 1066-1078. <https://doi.org/10.1134/S1064229320080086>. IF Scopus -1,575, 1,6 п.л., д.у – 0,2 п.л.

5. Kholodov V. A., Yaroslavtseva N. V., **Farkhodov Y. R.**, Belobrov V. P., Yudin S. A., Aydiev A. Y., Lazarev V. I., Frid A. S. Changes in the Ratio of Aggregate Fractions in Humus Horizons of Chernozems in Response to the Type of Their Use // Eurasian Soil Science. – 2019. – V. 52, № 2. – P. 162-170. <https://doi.org/10.1134/S1064229319020066>. IF Scopus -1,575, 1,0 п.л., д.у – 0,125 п.л.

Объектами исследования были образцы типичных черноземов (Protocalcic Chernozem) (Классификация и диагностика почв СССР, 1977; Anjos et al., 2015), отобранные на многолетних полевых опытах ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр» около п. Черемушки Курского района Курской области. Ненарушенный вариант типичного чернозема (степь) отобрали на территории Центрально-Черноземного биосферного заповедника им. В.В. Алехина (ЦЧГБЗ им. В.В. Алехина). Варианты опыта представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Варианты полевых опытов, их краткие обозначения и координаты точек пробоотбора

Вариант	Обозначение	Координаты, широта и долгота в градусах
Бесменный чистый пар с 1964 г.	Пар	51,621250 36,262217
Залежь с 1998 г. после бесменного чистого пара с 1964 г.	Залежь	51,620467 36,262117
Бесменная кукуруза с 1964 г.	Кукуруза	51,620217 36,260433
Севооборот, опыт с 1964 г. по схеме чистый пар – озимая пшеница – сахарная свекла – кукуруза – ячмень. Отбор по ячменю.	Севооборот	51,618400 36,260183
Лесополоса, заложена на старопахотном участке около 70 лет назад.	Лесополоса	51,621950 36,261700
Ежегодно косимая степь, ЦЧГБЗ им. В.В. Алехина.	Степь	51,570117 36,090733

Отбор образцов проводили летом 2014 года на площадках опробования 5×5 м методом конверта, глубина отбора 0–15см гумусово-аккумулятивного или пахотного горизонта. Образцы высушивали в течение двух недель на воздухе, затем хранили в темноте при комнатной температуре. Из образцов почв на ситах методом сухого просеивания Саввинова была выделена

фракция агрегатов размером 2–1 мм и далее работали только с этой фракцией, получая более гомогенные по составу образцы (Холодов и др., 2019; Volkov et al., 2020). Выбор агрегатов фракции размера 2–1 мм для исследования был обусловлен доминированием этой фракции среди остальных (по массе) и содержанием в них основного запаса углерода; ранее было показано, что свойства ПОВ этих агрегатов релевантно отражает основные свойства ПОВ целой почвы (Когут, 2012; Холодов и др., 2019). В таблице 4 представлены основные химические свойства объектов исследования.

Таблица 4 – Некоторые физико-химические свойства использованных в работе почв (среднее \pm стандартное отклонение, n = 3)

Вариант	pH _{водн.}	C _{орг.} , %	N _{общ.} , %	C/N	$\delta^{13}\text{C}$, ‰	$\delta^{15}\text{N}$, ‰	C _{карб.} , %	ММ РОВ, кДа	Гранулометрический состав, %		
									Ил <1 мкм	Пыль 1–50 мкм	Песок >50 мкм
Степь	6,6 \pm 0,1	5,79 \pm 0,28	0,48 \pm 0,05	12,2 \pm 1,0	-26,6	0,7	0,17 \pm 0,05	7.2 \pm 0.1	7	84	9
Залежь	6,7 \pm 0,2	4,0 \pm 0,4	0,31 \pm 0,03	12,8 \pm 1,2	-26,2	1,9	0,13 \pm 0,02	6.8 \pm 0.1	9	80	11
Пар	6,4 \pm 0,1	2,79 \pm 0,09	0,24 \pm 0,03	11,8 \pm 0,7	-25,7	3,3	0,13 \pm 0,07	6.9 \pm 0.1	11	83	6
Кукуруза	6,3 \pm 0,1	3,39 \pm 0,03	0,28 \pm 0,03	12,1 \pm 0,2	-24,2	5,0	0,07 \pm 0,01	6.9 \pm 0.1	10	84	6
Севооборот	6,3 \pm 0,1	3,55 \pm 0,06	0,29 \pm 0,03	12,2 \pm 0,8	-25,7	5,5	0,13 \pm 0,02	7.1 \pm 0.1	9	84	7
Лесополоса	6,1 \pm 0,1	4,45 \pm 0,09	0,39 \pm 0,05	11,4 \pm 0,2	-25,7	5,3	0,09 \pm 0,02	7.4 \pm 0.2	8	81	11

Определение актуальной кислотности (pH_{водн.}) проводили потенциометрическим методом, измеряя pH водных почвенных суспензий при соотношении массы почвы и объема воды 1:2,5. pH определяли на приборе pH 211 Microprocessor pH Meter (HANNA instruments, США), с помощью комбинированного электрода HI 1131 (HANNA instruments, США) (Теория и практика химического анализа почв, 2006).

Содержание органического углерода C_{орг.} и общее содержание азота N_{общ.} и соотношение стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ определяли методом каталитического сжигания (ISO 10694:95. Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis), 1995) в токе кислорода на элементном анализаторе (MACRO cube CN и ISOTOPE cube, Elementar, Германия) и масс-спектрометре Isoprime precision (Elementar, Германия). Изотопный состав оценивали по соотношению углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и азота $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, относительно шкалы VPDB (Vienna PeeDee Belemnite) и атмосферного воздуха соответственно.

Изотопный состав образца оценивали с помощью формулы:

$$\delta X_{\text{образец}} = (R_{\text{образец}} / R_{\text{стандарт}} - 1) * 1000$$

где X и R – это $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$.

Содержание карбонатного углерода C_{карб.} определяли гравиметрическим методом в соответствии с межгосударственным стандартом (Межгосударственный совет по стандартизации, 2019).

Выделение РОВ проводили согласно (Холодов, 2020) путем водной экстракции дистиллированной водой с удельным сопротивлением 18 МОм/см; отношение массы почва:вода составило 1:5. Продолжительность экстракции 18 ч; коллоиды отделяли путем пропускания водной вытяжки через фильтры с диаметром пор 45 мкм (Chromafil CA-45, Macherey-Nagel, Германия). Определение молекулярной массы (ММ) РОВ проводили методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) на жидкостном хроматографе нормального давления Biologic LP (Bio-Rad, США) с

использованием колонки Econo-Column (1.0 × 50 см, Bio-Rad, США) и геля Sephadex G-75 (Sigma, США). При проведении ГПХ элюентом служил 0,025 М Трис-НСl буфер (рН 8,2) с добавлением 0,05 М NaCl и 0,1% додецилсульфата натрия для подавления ионных взаимодействий с матрицей геля и межмолекулярных гидрофобных взаимодействий между компонентами пробы соответственно. Скорость элюирования составляла 0.08 мл/мин. Колонку калибровали по голубому декстрану 2000 (V_0 , общий объем колонки), $K_2Cr_2O_7$ (V_t) и полистиролсульфоновым кислотам (Sigma, США) с массами 6.8, 17 и 32 кДа. Пробы РОВ разводили 1:1 в элюирующем буфере и наносили на колонку. Объем пробы составлял 200 мкл. За ММ РОВ принимали ММ, соответствующую пику на хроматограмме.

Гранулометрический состав определяли методом лазерной дифракции на приборе Malvern Mastersizer 3000E (Malvern Panalytical Inc., Германия). Диспергацию образцов для гранулометрического анализа проводили на предварительно калиброванном ультразвуковом (УЗ) гомогенизаторе Digital Sonifier S-250D (Branson Ultrasonics, США) (Gregorich et al., 1988; Kharitonova et al., 2017; Mentler et al., 2017).

Объекты исследования относятся к тяжелым суглинкам, рН водной вытяжки черноземов близки к нейтральным значениям, высокое содержание углерода и азота характерно для вариантов степь, залежь и лесополоса, минимальное содержание этих элементов в варианте пар, содержание карбонатного углерода находится в пределах погрешности измерения общего содержания углерода, ММ РОВ составляло около 7 кДа.

2.2. Выделение и характеристика денсиметрических фракций почв

Выделение денсиметрических фракций ПОВ проводили на основе общепринятых методик (John et al., 2005; Cerli et al., 2012). В качестве тяжелой жидкости (ТЖ) применяли растворы поливольфрамата натрия ($3Na_2WO_4 \cdot 9WO_3 \cdot H_2O$) (Sigma Aldrich, Германия) в воде согласно (Six et al.,

1999). В работе использовали схему денсиметрического фракционирования, позволяющую выделять 4 фракции ПОВ (рисунок 1):

- свободное ПОВ с плотностью $<1,6 \text{ г/см}^3$ (СПОВ $<1,6$);
- окклюдированное ПОВ с плотностью $<1,6 \text{ г/см}^3$ (ОПОВ $<1,6$);
- окклюдированное ПОВ с плотностью $1,6\text{--}2,0 \text{ г/см}^3$ (ОПОВ $1,6\text{--}2,0$) и
- ПОВ минерального остатка с плотностью фракции $>2,0 \text{ г/см}^3$

(Минеральный остаток $>2,0$).

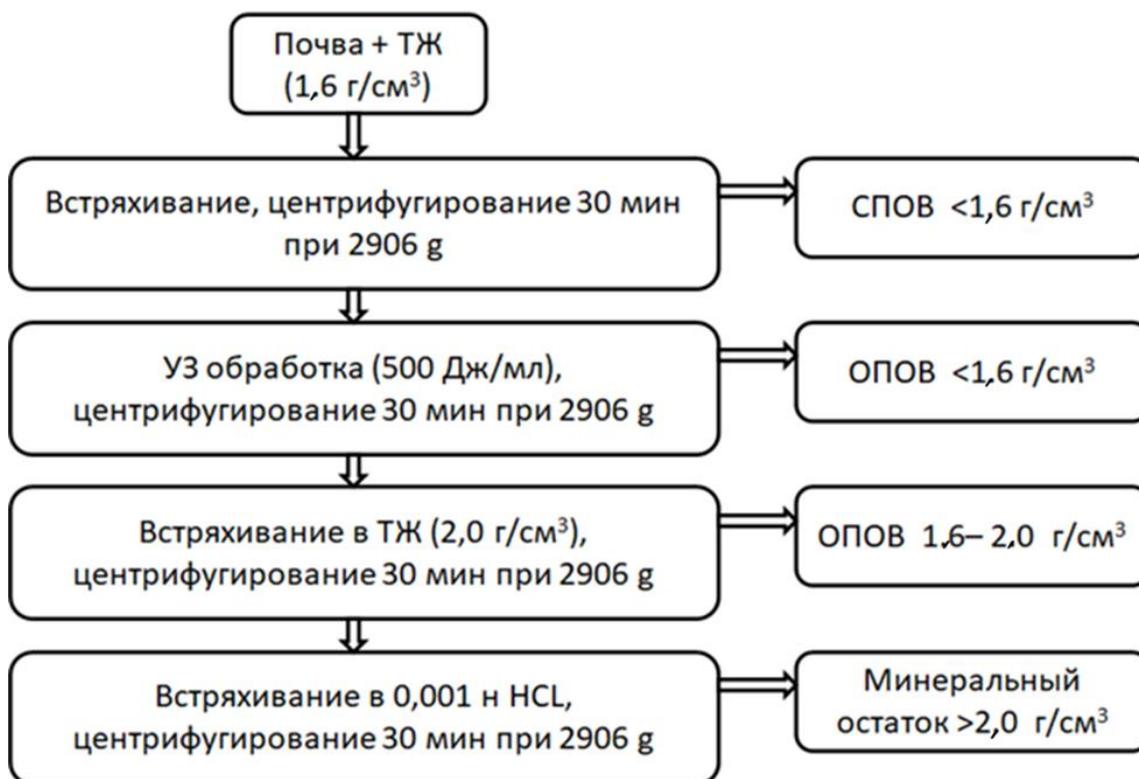


Рисунок 1. Схема денсиметрического фракционирования

Для отделения выделенных флотацией фракций использовали вакуумную фильтрацию через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм (Merck Millipore, США). Полноту отмывки целевой фракции от ТЖ контролировали с помощью кондуктометра EC59 (Milwaukee, США). Для выделения окклюдированных фракций был использован ультразвуковой гомогенизатор марки УЗГ13-0.1/22 (Ультразвуковые технологии и оборудование, Россия), энергия обработки суспензии 500 Дж/мл. Калибровку гомогенизатора проводили по воде с помощью температурных датчиков согласно (Mentler et al., 2017). Данный метод и энергия диспергации

позволяют разрушить почвенные микроагрегаты до уровня элементарных почвенных частиц (ЭПЧ) (Gregorich et al., 1988; Kharitonova et al., 2017). В результате высвобождается окклюдированное ПОВ, которое находится внутри микроагрегатов. Центробежное ускорение и время центрифугирования подбирали таким образом, чтобы осаждались частицы размером больше 0,45 мкм (Шаймухаметов, Воронина, 1972). Для предотвращения потерь углерода во фракции минерального остатка, в процессе отмывки от полифольфрамата натрия, провели адаптацию метода. С этой целью, вместо дистиллированной воды для промывки минерального остатка от ТЖ использовали слабый раствор соляной кислоты, которым осаждали почвенные коллоиды при рН 3. Для сравнения потерь при денсиметрическом фракционировании для вариантов черноземов: степь, пар, кукуруза, севооборот, отдельно проводили фракционирование с использованием дистиллированной воды и раствора соляной кислоты. Подробный протокол выделения денсиметрических фракций представлен в работе «Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного землепользования» (Фарходов и др., 2020) и в Приложении А.1. Препараты денсиметрических фракций изучались методом оптической микроскопии (микроскоп USB Digital microscope, Китай).

2.3. Определение содержания и изотопного состава углерода и азота в почве и в денсиметрических фракциях

Для оценки содержания, степени разложенности ОВ почвы и денсиметрических фракций определяли содержание общего углерода, азота, их изотопный состав и отношение C/N методом каталитического сжигания в токе кислорода на элементном анализаторе (MACRO cube и ISOTOPE cube, Elementar, Германия) и масс-спектрометре Isoprime precision (Elementar, Германия) (ISO 10694:95. Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis), 1995).

2.4. Оценка молекулярного состава органического вещества черноземов и их денсиметрических фракций двухстадийным пиролизом

2.4.1. Выбор условий проведения пиролитических экспериментов

В начале исследования провели серию предварительных экспериментов, направленных на выбор оптимальных условий проведения анализа. В частности, была проведена оценка на получаемые результаты таких факторов как масса образца используемой для анализа, температурные условия анализа и продолжительности анализа. Для оценки полноты сгорания образца и линейности отклика сигнала детектора в зависимости от количества образца провели пиролиз типичного чернозема и препарата ГК, выделенных из этого образца чернозёма, при температуре 500°C. В качестве отклика детектора рассчитывали площадь пиков под всеми пиролизатами по полному ионному току.

Для оценки влияния времени пиролиза на содержание пиролизатов, образец массой 3 мг подвергали аналитическому пиролизу при температуре 500°C в течение 1, 2, 3, 4, 10 мин, в дальнейшем оценивали площадь всех пиролизатов нормированную на навеску образца.

Чтобы определить температурную границу термических фракций, были получены термограммы для почвы и денсиметрических фракций. Термограммы получали при нагревании образцов в условиях градиента температуры от 100 до 700 °C со скоростью 10, 20, 30, 40°C/мин. Границу фракций определяли визуально по термограмме.

Далее подбирали температуру для оценки термостабильной фракции, для этого после первой стадии пиролиза проводили вторую стадию при четырех температурах: 500, 600, 700 и 800 °C. После этого по качественному составу пиролизатов выбирали подходящую температуру.

2.4.2. Проведение двухстадийного пиролиза

Состав ОВ почв и их денсиметрических фракций определяли с помощью метода двухстадийного пиролиза с газовой хроматографией и масс-детекцией.

Для разделения на фракции ПОВ черноземов по термостабильности применяли двухстадийный пиролиз на пиролизере EGA/PY-3030D (Frontier Laboratories, Япония). Величина навески почвы или денсиметрической фракции составляла от 3 до 5 мг. Первую стадию пиролиза проводили при нагреве от 100°C до 420°C со скоростью 30°C/мин и экспозицией в конечной точке в течение 1 мин, вторую стадию - при температуре 650°C в течение 3 мин. Выбор условий был проведен ранее (см. п. 2.4.1).

Молекулярный состав пиролизатов определяли на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2010 (Shimadzu, Япония). Условия хроматографирования были следующие: начальная температура колонки 50°C, температурный градиент 40°C/мин до 300°C с задержкой 3 мин, температура инжектора 300°C. Капиллярная хроматографическая колонка GsBP-5MS (Gs-Тек, США), 30 м, масс-детектор квадрупольного типа, ионизация – электронный удар, 70 эВ, диапазон детекции масс m/z 45-600. Идентификацию веществ проводили с помощью программы GCMS Postrun Analysis (Shimadzu, Япония), библиотеки масс-спектров NIST11 (National Institute of Standards and Technology, США). Площади всех компонентов пробы суммировали и вычисляли относительную долю всех компонентов. Продукты пиролиза были разделены на группы по происхождению и химическому строению: жирные кислоты, полисахариды, фенолы, полиароматические соединения, азотсодержащие, производные лигнина, ароматические соединения, алкены, алканы. Относительную количественную оценку содержания перечисленных классов веществ проводили в соответствии с общепризнанной методикой (Quenea et al., 2006; De la Rosa et al., 2008).

2.5. Оценка ЖК состава почвы

2.5.1. Выбор условий проведения термохимического разложения почвы

Для изучения состава ЖК почвы провели предварительный эксперимент по оценке влияния температуры термохимического разложения, концентрации дериватирующего агента и времени экспозиции ТМАГ с почвой на повторяемость результатов термохимического разложения (Фарходов и др., 2021). Для этого навеску почвы 2-3 мг помещали в тигли для пиролиза объемом 80 мкл, добавляли 20 мкл раствора нонадекановой кислоты в ацетоне с концентрацией 0,03 мг/мл (внутренний стандарт), чашечки высушивали в токе азота, после этого добавляли 20 мкл 0,5, 1, 2,5, 5% ТМАГ (SigmaAldrich, Германия) в метаноле, что соответствует 0,95, 1,9, 4,75, 9,5 мкмоль ТМАГ, чашечки снова высушивали. Затем проводили пиролиз в течение 1 мин. при температуре 300, 400 и 500 °С. Для оценки времени экспозиции почвы с ТМАГ на результаты термохимического разложения, а также их повторяемость, почвенный образец анализировали в присутствии 4,75 мкмоль ТМАГ при 300 °С.

2.5.2. Оценка ЖК состава почвы

Оценку ЖК состава почвы проводили методом термохимического разложения с 4,75 мкмоль ТМАГ при 300 °С. Так как раствор ТМАГ в метаноле обладает низким поверхностным натяжением и поэтому может формировать тонкую липкую пленку на поверхности чашечки для пиролиза и ее подставки, чтобы избежать потерь ТМАГ и возможных проблем с автоматикой автосемплера, после добавления раствора для дериватизации проводили высушивание образца в токе азота для удаления растворителя.

В работе использовали пиролизер Multi-Shot Pyrolyzer EGA/PY 3030D (Frontier Lab, Япония), оснащенный автосемплером AS1020E (Frontier Lab, Япония) и подключенный к газовому хроматографу с масс-детектором Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Япония). Параметры хроматографирования: температура инжектора 300°C, капиллярная колонка

GsBP-5MS (Gs-Тек, США) длиной 30 м, газ-носитель гелий, скорость потока 1 мл/мин, температурный режим: начальная температура 100°C, без градиента 1,5 мин, затем температуру повышали со скоростью 5°C /мин до 300°C, далее температуру удерживали 7 мин при 300°C; возбуждение молекул проводили электронным ударом с энергией электронов 70 эВ, диапазон детектируемых m/z 47–600.

Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) осуществляли с помощью библиотек масс-спектров NIST11, FAME library (Shimadzu, Япония), а также по временам удерживания стандартного раствора МЭЖК C8-C24 (Supelco, CRM18918, США). Интегрирование хроматографических пиков проводили по ионам с m/z 55 и 74, которые являются основными для МЭЖК (Лебедев, 2015). Для количественной оценки содержания МЭЖК рассчитывали относительные содержания компонентов в образце.

2.6. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили методами многомерной статистики и дисперсионного анализа. Для разведочного анализа данных строили теплокарты, применяли метод иерархической кластеризации. Сравнение средних проводили с помощью дисперсионного анализа. Для попарных сравнений групповых средних использовали критерий достоверно значимой разности Тьюки (критерий Тьюки). Обработку данных проводили с использованием языка R в открытом ПО RStudio (RStudio) с помощью библиотек stats, dplyr, ggplot2, heatmaply, NbClus.

Глава 3. Результаты и обсуждение

3.1. Молекулярный состав органического вещества типичных черноземов различного вида использования*

3.1.1. Методические аспекты оценки молекулярного состава почвенного органического вещества методом аналитического пиролиза

В настоящее время не существует единых подходов или общих рекомендаций, которые следует учесть при проведении аналитического пиролиза почвы, при этом исследователи в своих публикациях используют разные условия и очень редко их обосновывают (Franchini et al., 2002; Sleutel et al., 2007; De la Rosa et al., 2008; de Assis et al., 2012). Можно выделить три параметра, которые возможно изменять при пиролизе: масса образца, температура пиролиза и время пиролиза. Для оптимизации оценки молекулярного состава ПОВ чернозема методом аналитического пиролиза была проведена серия предварительных экспериментов по выбору условий.

В первую очередь оценивали полноту сгорания и линейность сигнала в зависимости от величины навески типичного чернозема (вариант степь, содержание Сорг=5,79%, таблица 4). Для этого разные навески почвы сжигали в пиролизере при 500°C в течение 3 мин, продукты детектировали с помощью масс-анализатора. Результаты представлены на рисунке 5.

*Основные результаты изложены в данной главе, опубликованы в следующих статьях

1. Farkhodov Y. R., Yaroslavtseva N. V., Kholodov V. A. Methodological Aspects of the Determination of Fatty Acids in Soil by Thermochemolysis // Eurasian Soil Science. – 2021. – V. 54, № 8. – P. 1176-1182. <https://doi.org/10.1134/S1064229321080068>. IF Scopus - 1,575, количество печатных листов (п.л.) – 0,8, личный вклад – 0,3 п.л.

3. Kholodov V. A., **Farkhodov Y. R.**, Yaroslavtseva N. V., Aydiev A. Y., Lazarev V. I., Ilyin B. S., Ivanov A. L., Kulikova N. A. Thermolabile and Thermostable Organic Matter of Chernozems under Different Land Uses // Eurasian Soil Science. – 2020. – V. 53, № 8. –P. 1066-1078. <https://doi.org/10.1134/S1064229320080086>. IF Scopus -1,575, 1,6 п.л., – 0,2 п.л.

4. Холодов В. А., Фарходов Ю. Р., Жеребкер А. Я., Ярославцева Н. В. Оценка возможности применения аналитического двухстадийного пиролиза с хроматомасс-спектрометрией для изучения гуминовых веществ in situ. // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2018. – Т. 94. – С. 3-18. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2018-94-3-18>. ИФ по РИНЦ (2021) - 0,886, 0,6 п.л., 0,15 п.л.

Диапазон навесок был от 1 до 16 мг. При превышении этого диапазона наблюдали насыщение детектора, при котором он выключался и переставал функционировать, поэтому образцы массой больше 16 мг проанализировать не представлялось возможным.

Содержание веществ оценивали по площади пика общего ионного тока (ОИТ), выраженного в относительных единицах. На рисунке 2 видно, что содержание отдельных пиролизатов, а также их суммарное содержание, в целом, линейно зависит от размера навески.

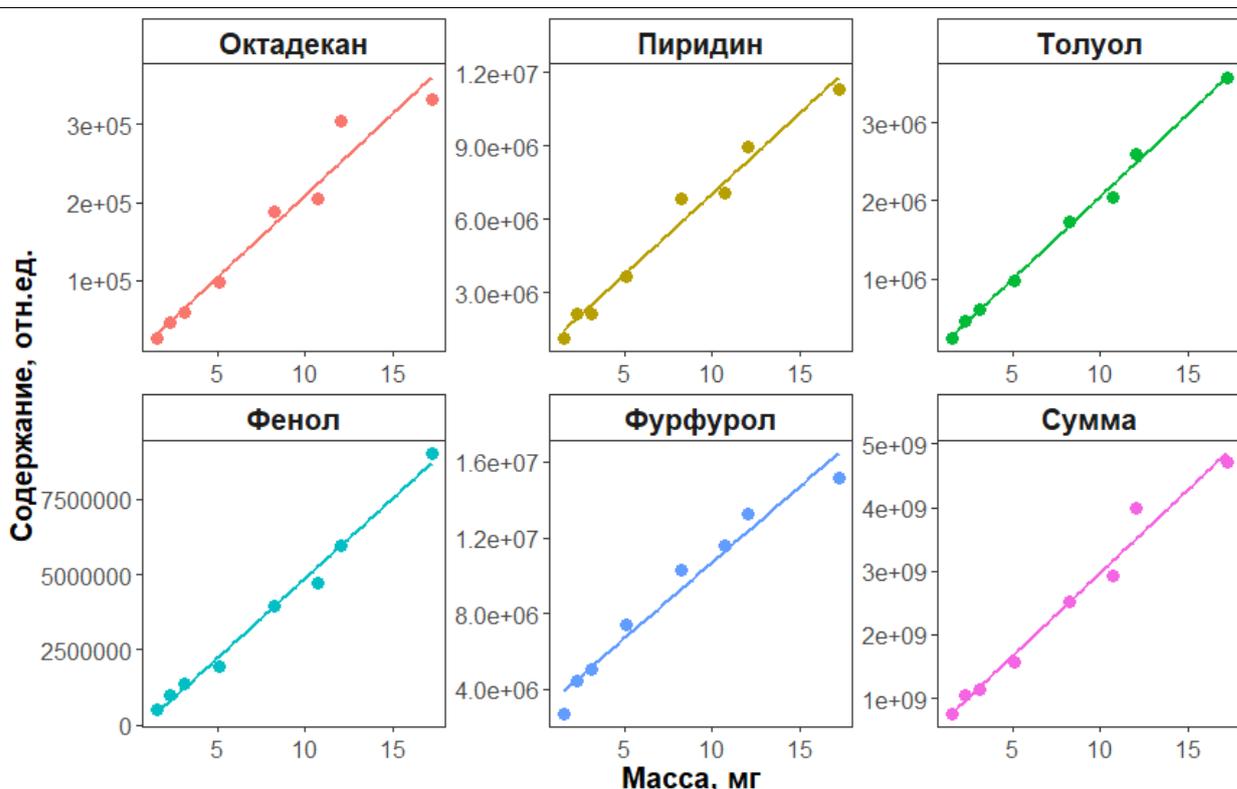


Рисунок 2 – Зависимость содержания пиролизатов от размера навески почвы (типичный чернозем, вариант степь).

Линейная зависимость указывает на допустимость использования при пиролизе типичного чернозема навесок от 1 до 16 мг. Однако проведенные эксперименты показали, что использование навесок более 5 мг приводит к загрязнению детектора зольными продуктами. Поэтому в дальнейшей работе брали навески около 3-5 мг.

На следующем этапе адаптации метода оценивали влияние продолжительности пиролиза на содержание пиролизатов. С этой целью

образец чернозема типичного подвергали пиролизу при 500°C в течении 0, 1, 3, 5 мин (рисунок 3). На рисунке видно, что содержание отдельных пиролизатов, а также их суммы не зависит от времени пиролиза. Дисперсионный анализ подтвердил это наблюдение (приложение Б.1). В связи с этим, в дальнейшем пиролиз проводили в течение 1 мин.

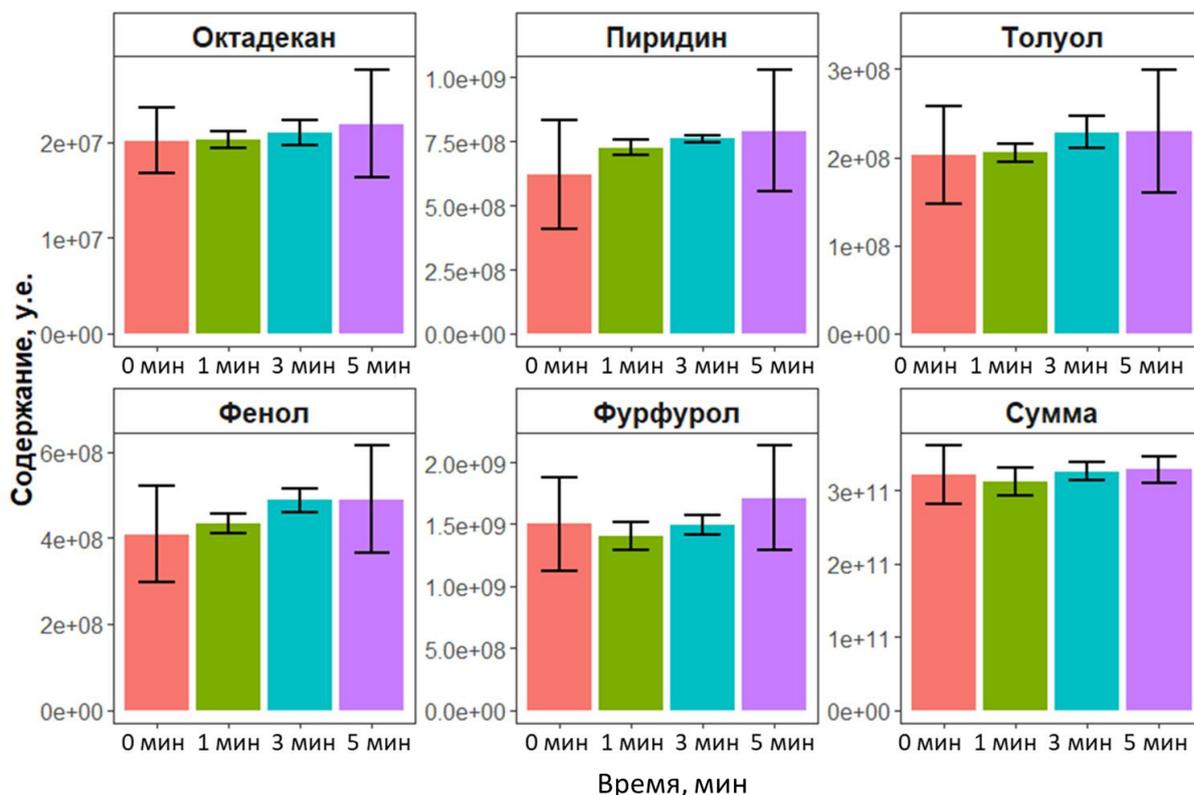


Рисунок 3 – Выход основных пиролизатов (у.е.) ОВ типичного чернозема (вариант степь) при разном времени пиролиза

Для оценки влияния температуры одностадийного пиролиза на содержание пиролизатов образец ГК, выделенной из того же типичного чернозема (вариант степь), подвергали пиролизу при температуре 500, 600 и 700°C (Холодов и др., 2018). Препарат ГК был выбран с целью увеличения предела обнаружения пиролизатов ПОВ. Было показано, что количество определяемых веществ закономерно увеличивалось при возрастании температуры. С другой стороны, увеличение температуры приводило к термодеструкции сложных веществ, к примеру, лигнина, который характеризуется высоким содержанием метоксифенолов, и образованию

более простых соединений: бензола, толуола и др. Поэтому при одностадийном пиролизе было принято решение использовать температуру 500°C. Применение температуры пиролиза выше 500°C приводит к активному обугливанию ПОВ, которое сопровождается образованием полиядерных ароматических углеводородов (ПАУ) (Wiesenberg et al., 2009) хотя высокотемпературный пиролиз и позволяет оценить состав наиболее термоустойчивых компонентов ПОВ почвы, например высококонденсированных компонентов ПОВ, которые также характеризуются наличием ПАУ среди их пиролизатов (нафталин) (Chen et al., 2016) (рисунок 4).

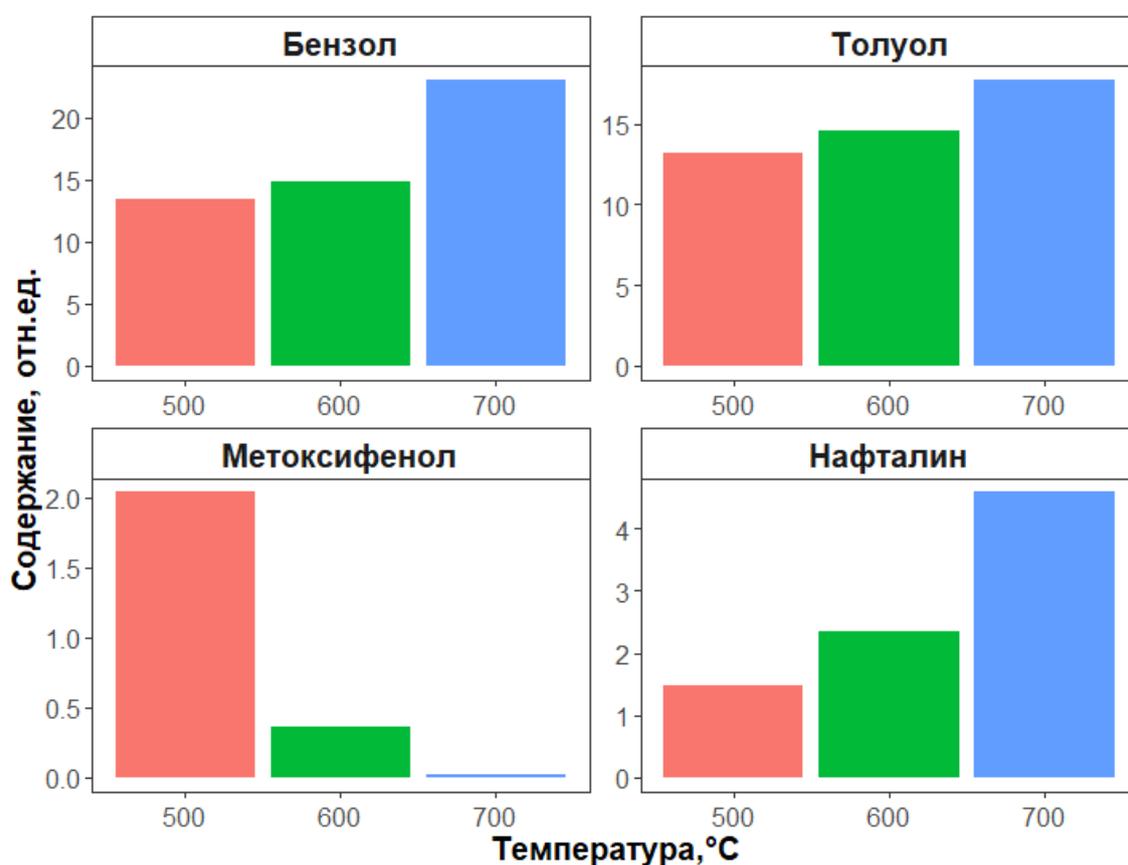


Рисунок 4 – Содержание основных пиролизатов ГВ при разных температурах

Относительно недавно в почвенных исследованиях стали применять метод двухстадийного пиролиза, который позволяет разделить органическое вещество по термостабильности, выделяя терлабильную и термостабильную

фракции ПОВ. Температуру для характеристики термолабильной фракции приняли равную 300°C, полагая, что при этой температуре мобилизуются только низкомолекулярные органические молекулы, не происходит крекинга - разрушения ковалентных неполярных связей между атомами (De la Rosa et al., 2008; de Assis et al., 2012). Этот подход впервые использован при разделении и изучении полимерной части пластмасс и их низкомолекулярных добавок. При получении термограмм различных пластмасс показано, что добавки к ним хорошо мобилизируются в условиях 300°C (Akoueson et al., 2021). Почвы имеют отличные от пластмасс термограммы, поэтому условия пиролиза для термических фракция ПОВ нужно подбирать (Kim et al., 2018).

Для получения термограмм ПОВ использовали метод анализа выделяющегося газа. Подход основан на нагреве образца с определенной скоростью с онлайн детектированием выделяющихся продуктов, без предварительного деления на хроматографической колонке. В итоге получают график зависимости интенсивности сигнала детектора от температуры (рисунок 5.)

На графике видно два пика, которые указывают на наличие двух фракций ПОВ чернозема, различающихся по своему поведению при пиролизе: термолабильную и термостабильную с границей в области от 400°C до 440°C. Следует подчеркнуть, что в связи со сложностью изучаемого объекта, попытки улучшить разрешение наблюдаемых пиков путем варьирования градиента нагрева образца не привели к удовлетворительному результату.

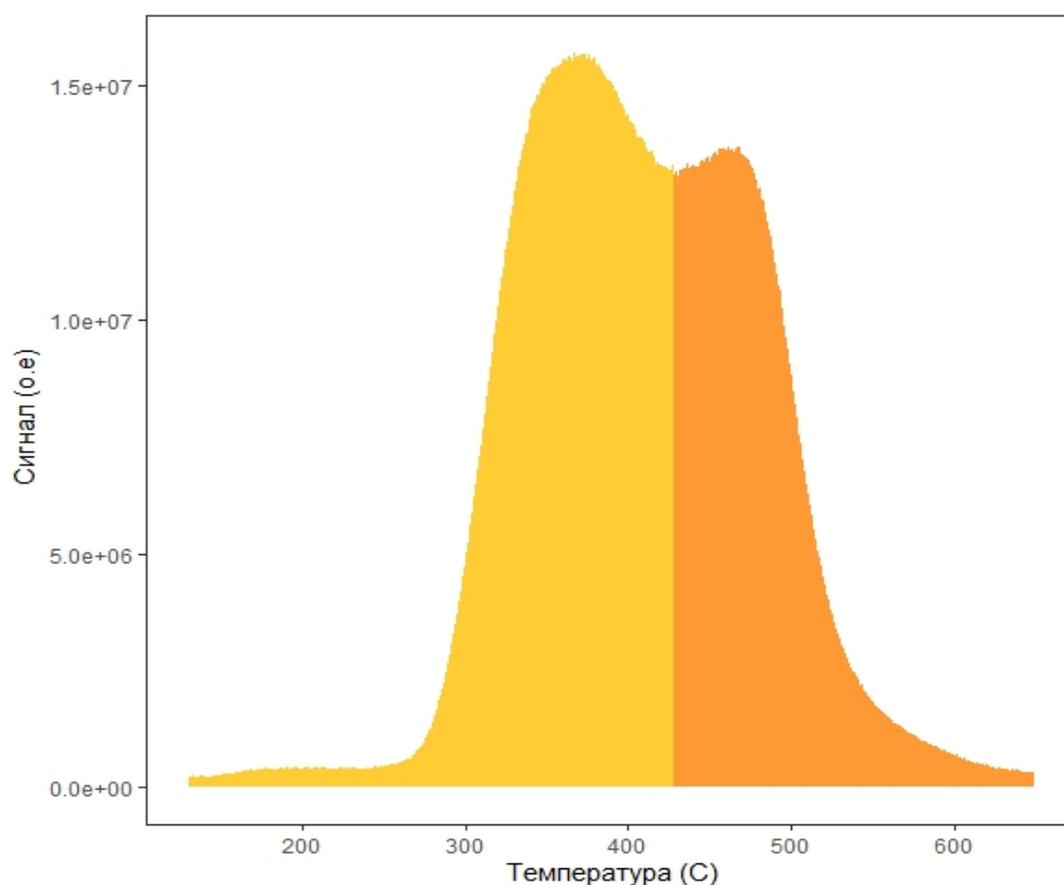


Рисунок 5 –Термограмма ПОВ типичного чернозема (вариант степь)

Далее проводили оценку влияния изменения скорости нагрева на характер пиков. Для этого навески типичного чернозема в варианте степь нагревали от 100 до 700°C со скоростями: 10, 20, 30 и 40°C/мин. В итоге было показано, что общий вид термограммы не меняется, наблюдается только сдвиг всей термограммы вправо по температурной шкале, что подтверждается дисперсионным анализом (зависимость термических характеристик термограмм от скорости нагрева) (рисунок б, приложение Б.2.), что согласуется с результатами других исследований (Qiao et al., 2019). Этот факт нужно учитывать при выборе режима двухступенчатого пиролиза.

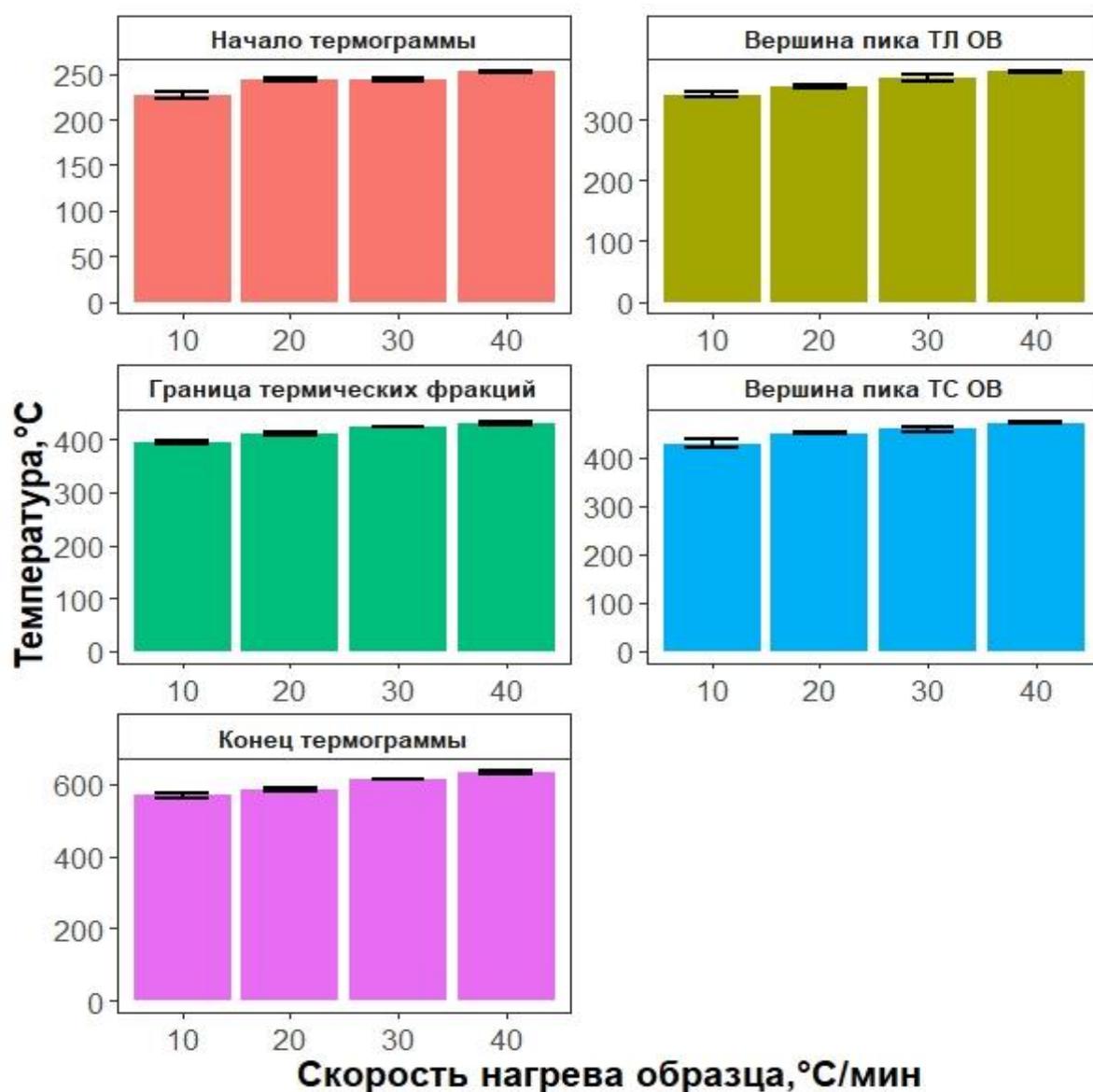


Рисунок 6 – Изменения характеристик (начало термограммы, вершина пика ТЛ ОБ, граница термических фракций, вершина пика ТС ОБ, конец термограммы) термограмм типичного чернозема в зависимости от скорости нагрева

Для дальнейших исследований был выбран режим первой стадии пиролиза, при котором образец подвергали температурной деструкции в режиме от 100–420°С со скоростью повышения температуры 30°С/мин в условиях инертной атмосферы.

Двухступенчатый пиролиз в исполнении пиролизера EGA-PY 3030D компании Frontier Lab реализован таким образом, что анализ термолабильного ПОВ (ТЛ ОБ) осуществляется при нагревании образца в

условиях градиента температуры, после этого остаток, т.е термостабильное ПОВ (ТС ОВ) анализируется методом флэш пиролиза в режиме одной температуры. Для установления параметров проведения второго шага пиролиза, после первой стадии (100–420°C, 30°C/мин) образцы типичного чернозема подвергали второй стадии пиролиза при 500, 600, 700, 800°C, со временем экспозиции 3 мин. При выборе температуры предпочтение отдавали той температуре, при которой выход и разнообразие пиролизатов были максимальными. Повышение температуры второй стадии пиролиза с 500°C до 800°C сопровождалось исчезновением пиков ациклических углеводородов (алканы, алкены, алкины), увеличением интенсивности сигналов всех ароматических углеводородов (рисунки 7, 8), включая появление пиков ПАУ. Для сохранения пиков ПАУ и ациклических углеводородов (УВ) было решено для второй стадии пиролиза применять температуру 650°C, чтобы оценить как содержание ациклических УВ, так и ПАУ, которые мобилизуются при более высоких температурах. В итоге для первой стадии двухступенчатого пиролиза были выбраны следующие условия: нагрев от 100°C до 420°C со скоростью 30°C/мин, удерживание температуры в течение 1 мин. Для второй стадии использовали нагрев 650°C в течение 3 мин.

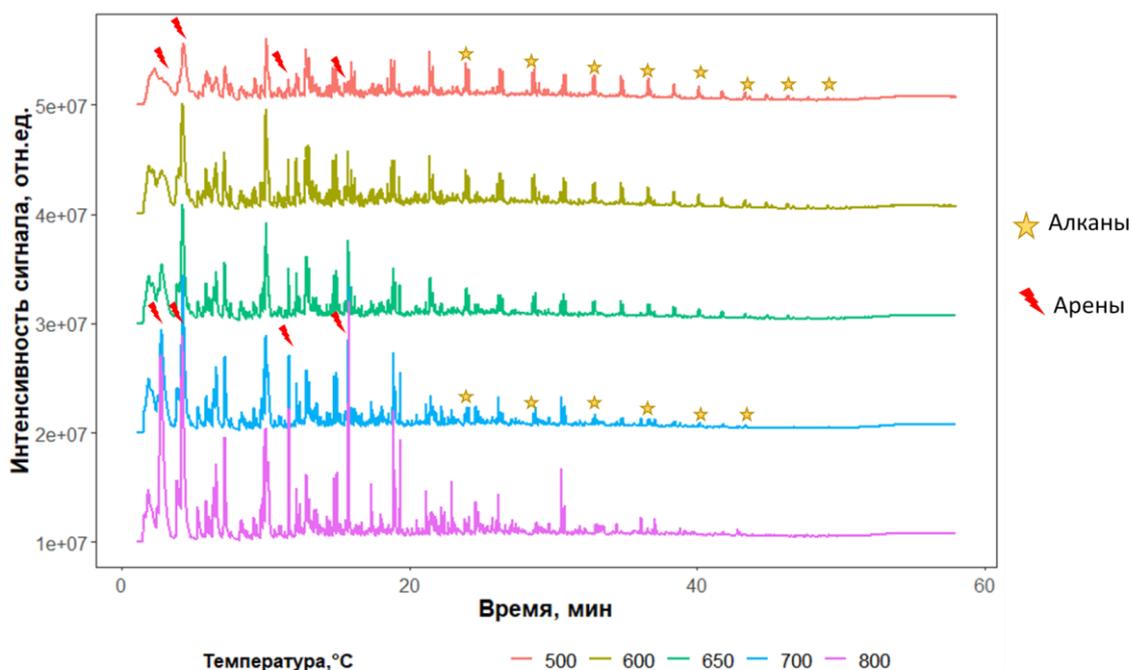


Рисунок 7 – Общий вид пирограмм ПОВ типичного чернозема, полученных при разных температурах второй стадии пиролиза

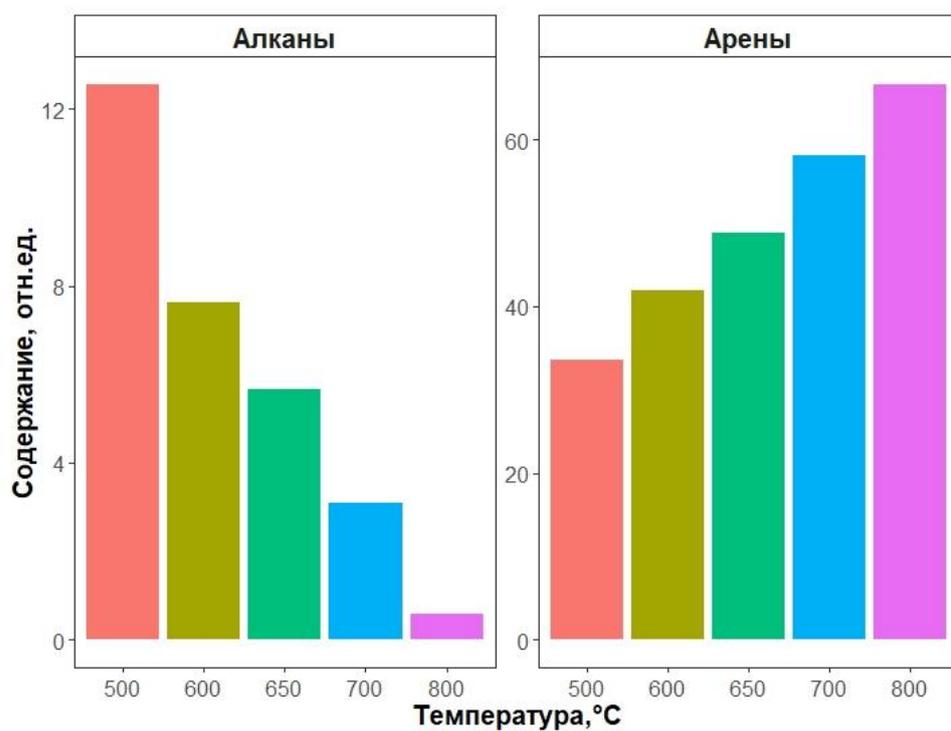


Рисунок 8 – Относительное содержание алканов и аренов среди пиролизатов ПОВ типичного чернозема при разных температурах второй стадии пиролиза

Таблица 5 – Сравнительная характеристика двух режимов пиролиза на основе данных абсолютного содержания пиролизатов

Первая стадия пиролиза		
Пиролизат, отн.ед	Режим	
	100-300°C, 30°C/мин	100-420°C, 30°C/мин
Гексадекан	3,2*10 ⁶	43*10 ⁶
Левоглюкозенон	32*10 ⁶	127*10 ⁶
Индол	5*10 ⁶	288*10 ⁶
Винилгваякол	15*10 ⁶	399*10 ⁶
Вторая стадия пиролиза		
Пиролизат, отн.ед	Режим	
	500°C	650°C
Гексадекан	0,01*10 ⁹	0,3*10 ⁹
Пиридин	0,8*10 ⁹	4,5*10 ⁹
Толуол	0,5*10 ⁹	18,8*10 ⁹
Фенол	0,4*10 ⁹	8,5*10 ⁹

Для сравнения двух режимов двухстадийного пиролиза оценили содержания пиролизатов ПОВ чернозема варианта степь (таблица 5). Первый режим (100-300°C, 30°C/мин, 500°C), можно назвать «традиционным», чаще всех остальных используется в исследованиях, второй режим (100-420°C, 30°C/мин, 650°C) - предложен нами. Изучали содержание основных пиролизатов таких классов соединений ПОВ как липиды (гексадекан), полисахариды (левоглюкозенон), лигнины (винилгваякол, фенол), азотсодержащие (индол, пиридин) и ароматические соединения (толуол). Показано, что предложенный нами режим пиролиза позволяет выделить больше пиролизатов, указывая на то, что пиролиз происходит для большего числа соединений ПОВ. Таким образом, предложенный нами режим пиролиза позволяет изучать образцы с низким содержанием ОВ и дает наиболее полную характеристику о составе и содержании компонентов ПОВ, чем «традиционный» режим двухстадийного пиролиза.

В приложении Б.3. представлены термограммы почв и денсиметрических фракций. Полученные нами термограммы очень похожи, отличаются только выраженностью границы термических фракций, что объясняется разным содержанием ПОВ в анализируемых образцах. Важно отметить, что бимодальный тип распределения ПОВ по термической устойчивости отмечался во многих других исследованиях (Leinweber, Schulten, 1995; Schulten, Leinweber, 1996; Leinweber, Schulten, 1999; Gillespie et al., 2009; Purton et al., 2015; Katsumi et al., 2016; Becker et al., 2019). Такой тип распределения получается в результате наложения множества пиков, которые характеризуют термическую стабильность отдельных классов соединений ОВ почвы. В диапазоне от 100 до 420°C происходит термическая деструкция углеводов и их производных, свободных ЖК, липидов с короткоцепочечными ЖК, пептидов, начинается пиролиз производных лигнина и липидов в составе которых преобладают длинноцепочечные ЖК. При температуре >420°C продолжается термическая деструкция производных лигнина, липидов с длинноцепочечными ЖК, стиролов, интенсивнее разрушаются азотсодержащие вещества непептидного происхождения, также активно разрушаются высококонденсированные молекулы, к примеру черный углерод (Schulten, Leinweber, 1996, 1999; Hsieh, Bugna, 2008; Kaal et al., 2009; Kiersch et al., 2012; Katsumi et al., 2016; Lian, Xing, 2017). В виду того, что общий вид распределения ОВ по термоустойчивости и температурная граница между фракциями не менялась в зависимости от землепользования почвы и вида денсиметрической фракции, предложенный режим двухступенчатого пиролиза использовался как для всех объектов исследования: и для почв, и для денсиметрических фракций.

Выбор условий хроматографирования был направлен на лучшее разрешение хроматографических пиков и ограничивался временем анализа. В результате были выбраны следующие условия: режим термостата 40–300°C,

скорость нагрева 5°C/мин, удержание температуры при достижении финального значения 3 мин; температура испарителя 300°C; скорость газа носителя (гелий) 1 мл/мин.

3.1.2. Молекулярный состав термолабильного органического вещества типичных черноземов различного вида использования

После выбора условий пиролиза и хроматографирования образцы почвы были подвергнуты двухстадийному пиролизу. Молекулярный состав ТЛ ОВ оценивали по веществам, выделявшимся при нагревании образца от 100°C до 420°C, молекулярный набор термостабильной фракции (ТС ОВ) – по веществам, пиролизующимся при 650°C.

В ТЛ ОВ было идентифицировано 43 соединения и проведена оценка их относительного количества. Данные анализа обработаны с помощью иерархического кластерного анализа методом Варда. Содержание отдельных пиролизатов в исследуемых образцах представлено в виде теплокарты (т. е. графического представления набора данных, где значения отображаются в цветах) с разбиением объектов и признаков по кластерам (рисунок 9). Цвет на теплокарте показывает обилие каждого из пиролизатов, также наиболее различающиеся кластеры отмечены цветом. Отметим, что этот подход статистической обработки данных, наряду с подходом, реализуемым с помощью метода главных компонент, позволяет эффективно анализировать объёмные массивы пиролитических данных.

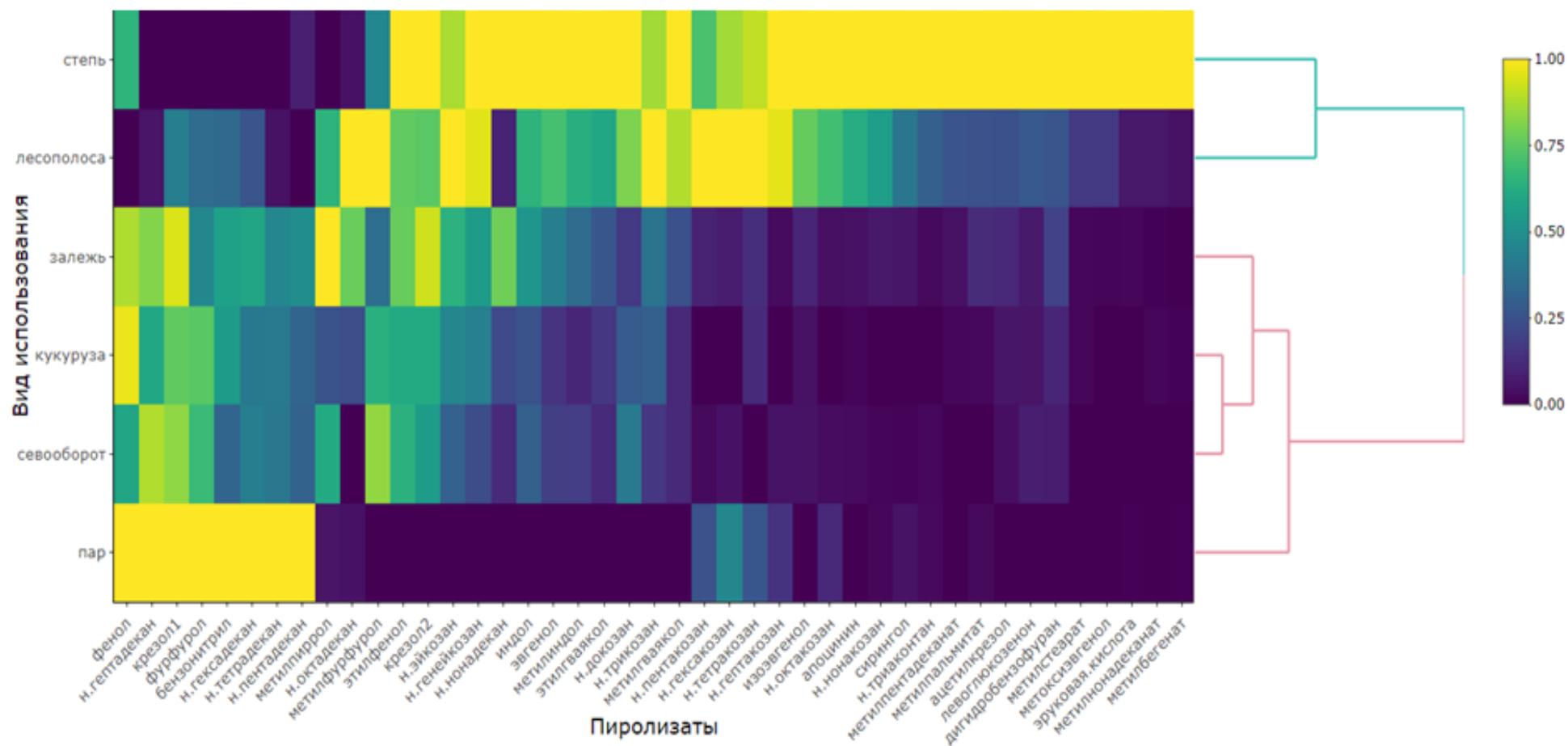


Рисунок 9 – Тепловая карта относительного содержания пирилизатов ТЛ ОВ в черноземах различного вида использования

Весь набор идентифицированных пиролизатов был разделен на несколько классов соединений, таких как алканы, ЖК, фенолы, карбонильные и гетероциклические азотсодержащие соединения.

Для оценки состава ПОВ совокупность пиролизатов разделяют на группы не только по строению, но и по их происхождению (Приложение Б.4.). Алканы, ЖК, МЭЖК являются пиролизатами липидов; фенольные соединения – производными лигнина; карбонильные соединения (фурфурол, метилфурфурол и левоглюкозенон) – пиролизатами полисахаридов; азотсодержащие соединения (метилпиррол и индолы) образовались из белков и аминокислот (Bracewell, Robertson, 1984; Yassir, Buurman, 2012; Derenne, Quenea, 2015). На рисунке 9 видно, что исследуемые почвы разделились на два кластера. В первый кластер вошли варианты: степь и лесополоса. Почвы этих вариантов характеризуются, прежде всего, поступлением большого количества опада, что проявляется в высоком относительном содержании лигниновых, полисахаридных и липидных составляющих ПОВ. Почвы, формирующие второй кластер (севооборот, кукуруза, пар, залежь), за исключением залежи, характеризуются небольшим поступлением свежего органического материала и длительной обработкой, поэтому в них наблюдается обедненный набор пиролизатов ПОВ по сравнению с почвами из первого кластера. Вариант залежь, с одной стороны, отличается по составу ПОВ от пахотных вариантов ввиду активного поступления свежего опада, с другой стороны, накопившиеся изменения в составе ПОВ пока не позволяют отнести этот вариант к ненарушенным почвам (Мамонтов и др., 2020; Холодов и др., 2020; Крылов и др., 2022).

Кроме того, следует отметить, что содержание пиролизатов одного происхождения может как увеличиваться, так и уменьшаться в зависимости от вида использования почвы (рисунок 10).

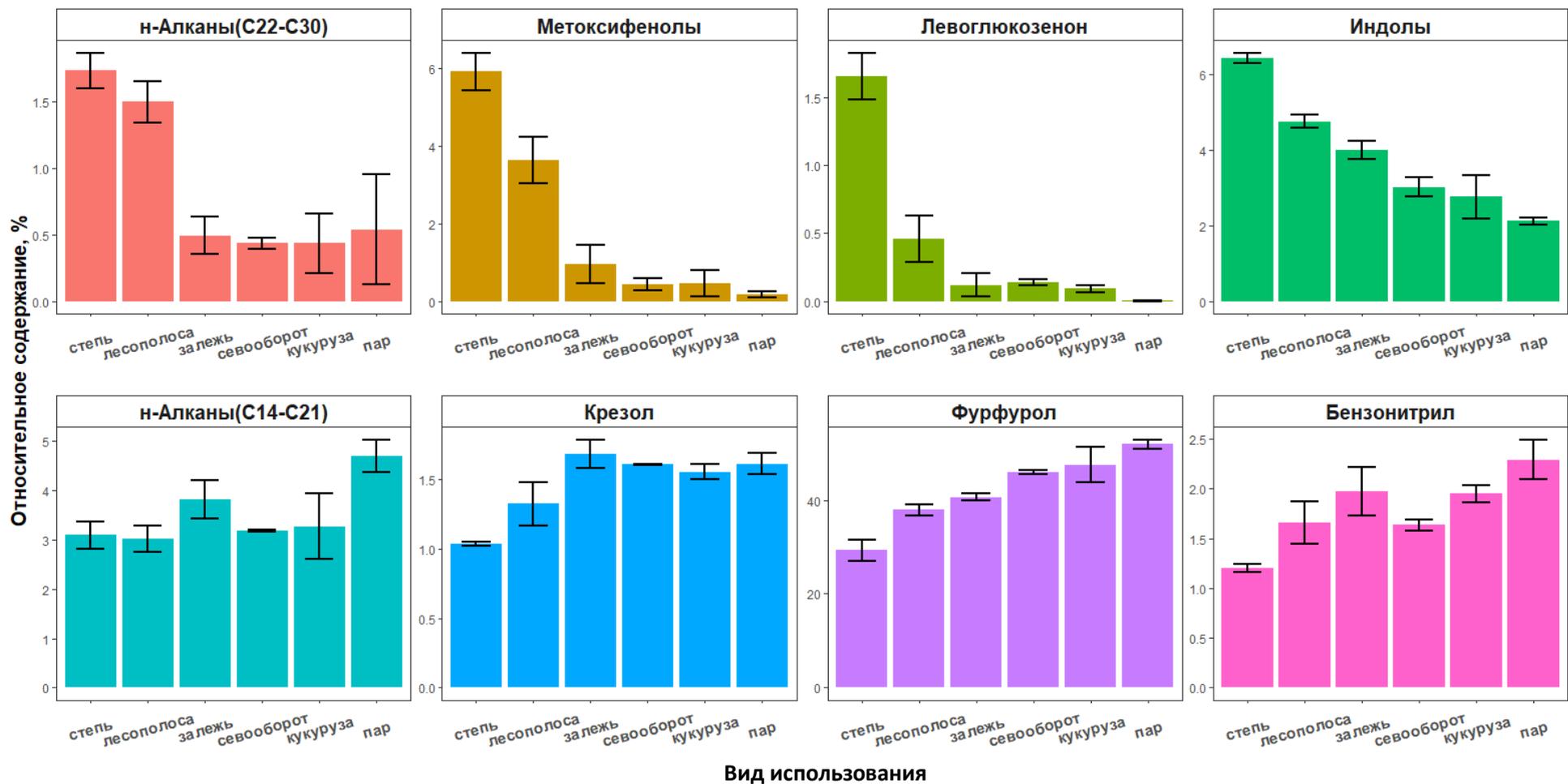


Рисунок 10 – Относительное содержание (планки погрешностей обозначают стандартное отклонение, $n = 3$) некоторых пиролизатов ТЛ ОВ в типичных черноземах различного вида использования

Относительное содержание длинноцепочечных алканов выше среди пиролизатов ПОВ степи и лесополосы, по сравнению с пахотными вариантами (севооборот, кукуруза, пар), включая вариант залежь. Длинноцепочечные алканы являются пиролизатами ЖК растительных тканей (Quenea et al., 2006), которые активно поступают в почву в составе опада. Поэтому содержание длинноцепочечных алканов в вариантах опыта объясняется режимом и количеством поступающего опада в почву: в пахотные варианты поступает меньше опада по сравнению с ненарушенными вариантами степь и лесополоса.

По содержанию среднецепочечных алканов видна обратная зависимость: для ПОВ наиболее деградированного варианта пар характерно самое высокое их относительное содержание среди остальных вариантов опыта. Высокое относительное содержание среднецепочечных алканов вероятно отражает относительное накопление бактериальной биомассы в составе ТЛ ОВ (Quenea et al., 2004). В ТЛ ОВ варианта залежь содержится сопоставимая с вариантом пар доля среднецепочечных алканов. Это свидетельствует о том, что процессы постагрогенной трансформации ПОВ в варианте залежь после длительного парования слабо выражены. Содержание пиролизатов лигнина – метоксифенолов и крезола – по вариантам опытов повторяет распределения содержания алканов.

Метоксифенолы являются главными конституционными элементами лигнина, а п-крезол является основным пиролизатом устойчивых к микробному разложению компонентов лигнина, возраст углерода этого пиролизата может достигать 100 лет (Gleixner et al., 2002). Содержание метоксифенолов объясняется количеством поступающего опада: в ненарушенных вариантах (степь и лесополоса) их содержание высокое, а в пахотных вариантах, включая залежь, в 2–3 раза ниже. Интересно отметить увеличение содержания метоксифенолов в ПОВ варианта залежь по сравнению с вариантом пар. Вероятно, это можно объяснить избирательным

накоплением лигнина в процессе восстановления запасов ПОВ. Высокое содержание п-крезола наблюдается в ПОВ всех пахотных вариантов, включая вариант залежь, что объясняется накоплением устойчивых к разложению компонентов лигнина.

Левоглюкозенон является маркером целлюлозы начальной стадии разложения (Kaal et al., 2008; Maduskar et al., 2018), фурфурол – характерный пиролизат всех полисахаридов, а также основной пиролизат стабилизированных фрагментов полисахаридов, которые сохраняются в почве более пятидесяти лет (Gleixner et al., 2002). Распределение полисахаридных пиролизатов по вариантам опыта, по-видимому, объясняется разным режимом и количеством поступающего опада в нарушенные и ненарушенные варианты почвы. Отметим, что различие в содержании левоглюкозенона в ПОВ вариантов степь и лесополоса может быть связано с различным составом опада: древесный опад содержит меньше целлюлозы, чем травянистый (Seráková, Frouz, 2015). По относительному содержанию фурфурола в составе пиролизатов ПОВ типичные черноземы выстраиваются в ряд по возрастанию: степь < лесополоса < залежь < севооборот < кукуруза < пар. Скорее всего, этот ряд характеризует исследуемые варианты опыта по относительному накоплению наиболее устойчивого компонента и, соответственно, по степени деградированности ПОВ: наименее деградированное ПОВ характерно для варианта степь, а наиболее деградированное – для ПОВ пара.

Индол, метилиндол и бензонитрил образуются при пиролизе белков, аминокислот и ДНК (Schulten, Schnitzer, 1997). Отмечается, что индол является маркером поступления свежего ОБ (Buurman et al., 2007), а бензонитрил является одним из основных азотсодержащих пиролизатов ГВ и может считаться специфичным пиролизатом почвы (Schulten, Schnitzer, 1997). Относительное содержание индола в составе пиролизатов ПОВ исследуемых вариантов формирует ряд по возрастанию: пар < кукуруза <

севооборот < залежь < лесополоса < степь. Этот ряд, главным образом, показывает влияние поступления свежего опада на строение ПОВ. Отметим, что относительное содержание индола среди пиролизатов ПОВ в варианте залежь практически в 2 раза выше, чем в варианте пар. Это говорит о том, что восстановление запасов ПОВ происходит не только за счет лигнина, но и за счет азотсодержащих соединений. Распределение бензонитрила среди пиролизатов исследуемых вариантов почв имеет обратную зависимость, по сравнению с распределением индола, и очень похоже на распределение фурфурола: ПОВ варианта степь, находящегося в квазиравновесном состоянии, содержит практически в 2 раза меньше бензонитрила, чем ПОВ наиболее деградированного варианта – пар. Вероятно, относительное содержание бензонитрила можно использовать как показатель степени деградации ПОВ среди азотсодержащих пиролизатов.

Таким образом, данные о составе ТЛ ОВ четко разделили варианты чернозема по степени деградированности и динамике поступления свежего органического материала. В зависимости от степени трансформированности ПОВ и наличия источника свежего опада компонентный состав пиролизатов ПОВ меняется, поэтому важно анализировать не только содержание групп пиролизатов, но и рассматривать распределение пиролизатов внутри отдельных групп.

3.1.3. Молекулярный состав термостабильного органического вещества типичных черноземов различного вида использования

По результатам второй стадии пиролиза оценивали состав ТСОВ. Всего было идентифицировано 41 соединение и проведена оценка их относительного количества. Данные анализа обработаны с помощью иерархического кластерного анализа методом Варда. Результаты анализа представлены в виде теплокарты (рисунок 11).

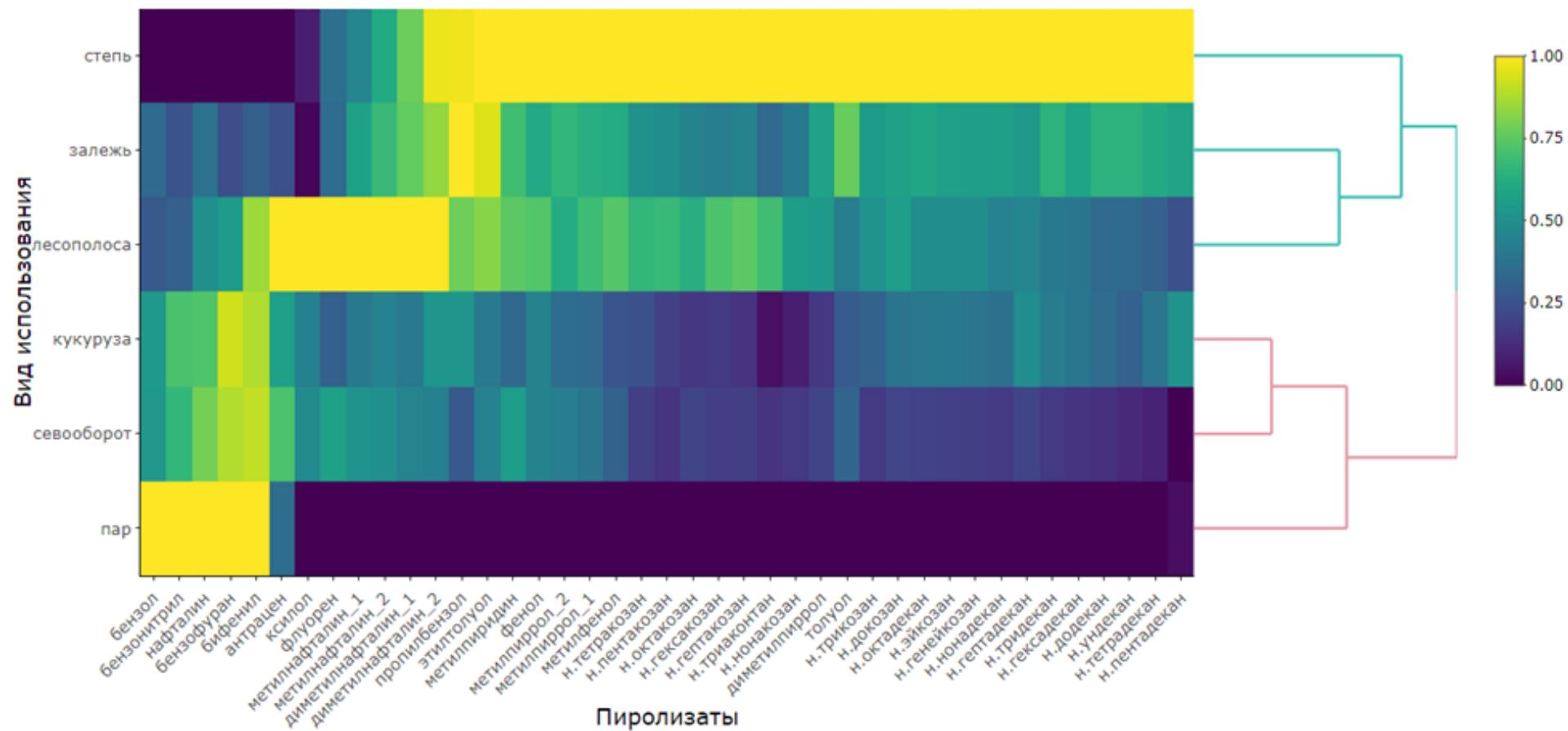


Рисунок 11 – Тепловая карта относительного содержания пиролизатов ТС ОВ по вариантам опыта

Как было отмечено ранее, на второй стадии пиролиза продолжается термическая деградация почвенных липидов, лигнинов, азотсодержащих веществ, начинают разрушаться высококонденсированные молекулы. На составе пиролизатов это отражается наличием алканов, фенолов и метилфенолов, пирролов и пиридинов, моноциклических и полициклических ароматических УВ соответственно (рисунок 11). На основе кластерного анализа, химического строения, а также происхождения, пиролизаты были разделены на группы (Приложение Б.5.). Выделено 8 групп пиролизатов: алканы, фенолы, азотсодержащие соединения (пироллы и пиридины), алкилбензолы, полиядерные ароматические УВ (ПАУ), отдельно выделены бензол, бензонитрил, сумма нафталина и бифенила. Выделенные группы характеризуют содержание в ПОВ таких классов соединений как липиды, лигнины, азотсодержащие соединения, а также высококонденсированные компоненты ПОВ. Кластерный анализ (рисунок 11) результатов количественной оценки содержания пиролизатов позволил разделить варианты опыта на два кластера: первый - образуют степь, лесополоса и залежь, второй – кукуруза, севооборот и пар.

На рисунке 12 показано относительное содержание выделенных групп веществ в зависимости от вида использования черноземов. Видно, что относительное содержание алканов, фенолов, азотсодержащих соединений и алкилбензолов в составе пиролизатов ПОВ уменьшается в ряду: степь, лесополоса, залежь, севооборот, кукуруза, пар. Наиболее контрастными вариантами по этим показателям являются ПОВ вариантов степь и пар; ПОВ вариантов лесополоса и залежь, а также севооборот и кукуруза попарно между собой практически не отличались. Подобная закономерность в содержании этих пиролизатов хорошо объясняется режимом и количеством поступающего свежего опада: самое высокое относительное содержание рассматриваемых пиролизатов характерно для ТС ОВ варианта степь, характеризующегося обильным поступлением свежего ОВ, а самое низкое

выявлено в ТС ОВ варианта пар, где практически отсутствуют растительные остатки. Алканы ТС фракции ПОВ нельзя разделить на несколько групп как это было сделано в ТЛ фракции. Скорее всего, это связано с тем, что алканы ТС ОВ являются пиролизатами только одной группы соединений – устойчивых к микробному разложению растительных восков кутина и суберина (Tegelaar et al., 1989). Фенолы, с одной стороны, могут образовываться из лигнина, однако некоторые авторы указывают на то, что отсутствие метоксифенолов вместе с фенолами свидетельствует о преимущественном разрушении таннинов в процессе пиролиза (Quenea et al., 2006). Азотсодержащие соединения (пироллы и пиридины) образуются при пиролизе белковых соединений и хитина (Schulten, Schnitzer, 1997). Относительное содержание бензонитрила в составе пиролизатов ТС ОВ явно разделило варианты опыта по количеству поступающего опада и наличию поверхностной обработки почвы: в составе пиролизатов ПОВ непахотных почв (степь, лесополоса, залежь) доля бензонитрила практически в два раза меньше, чем в пахотных вариантах (севооборот, кукуруза, пар). Как отмечалось ранее, бензонитрил можно считать маркером гумифицированного ПОВ, поэтому в ПОВ варианта пар наблюдается максимальное относительное содержание этого пиролизата по сравнению с остальными вариантами. Содержание бензола и алкилбензолов среди пиролизатов ТС ОВ черноземов имеет противоположное распределение в ряду вариантов: пар, кукуруза, севооборот, залежь, лесополоса, степь. Считается, что толуол и остальные алкилбензолы при высоких температурах пиролиза преимущественно образуются в результате вторичных реакций циклизации линейных УВ, которые принадлежат липидной фракции свежего ОВ (Hartgers et al., 1994). При этом высокое содержание бензола среди пиролизатов ТС ОВ может свидетельствовать о сильной гумифицированности ПОВ (Siccanti, 1986). Поэтому для оценки степени гумификации ПОВ по данным аналитического пиролиза используется

показатель отношения бензола к толуолу (Cecanti, 1986; Cecanti et al., 2007), который формально указывает на степень ароматичности ПОВ, что, в свою очередь, показывает на сколько ПОВ трансформировано.

На основе данных состава ТС части ПОВ для изучаемых черноземов был рассчитан индекс гумификации (рисунок 13). Самые низкие значения степени гумификации характерны для ПОВ варианта степь, что, скорее всего, связано с влиянием свежего опада, активно поступающего в этот вариант. В вариантах лесополоса и залежь значения степени гумификации ПОВ практически в два раза выше, чем в ПОВ степи, что также связано с влиянием свежего ОВ. В почвах пахотных вариантов севооборот и кукуруза поступление опада ограничено, а в почве варианта пар оно практически отсутствует, поэтому для почв этих вариантов значения индекса гумификации самые высокие. Выявленные закономерности подтверждают ранее полученные данные по степени ароматичности ГК, оцененные методом УФ-видимой спектроскопии по нормированным значениям поглощения при 350 нм (E350): наиболее трансформированным оказалось ГК из варианта пар, наименее трансформированным – из варианта степь, а ГК пахотных почв занимают промежуточное значение по этому показателю (Холодов, 2020).

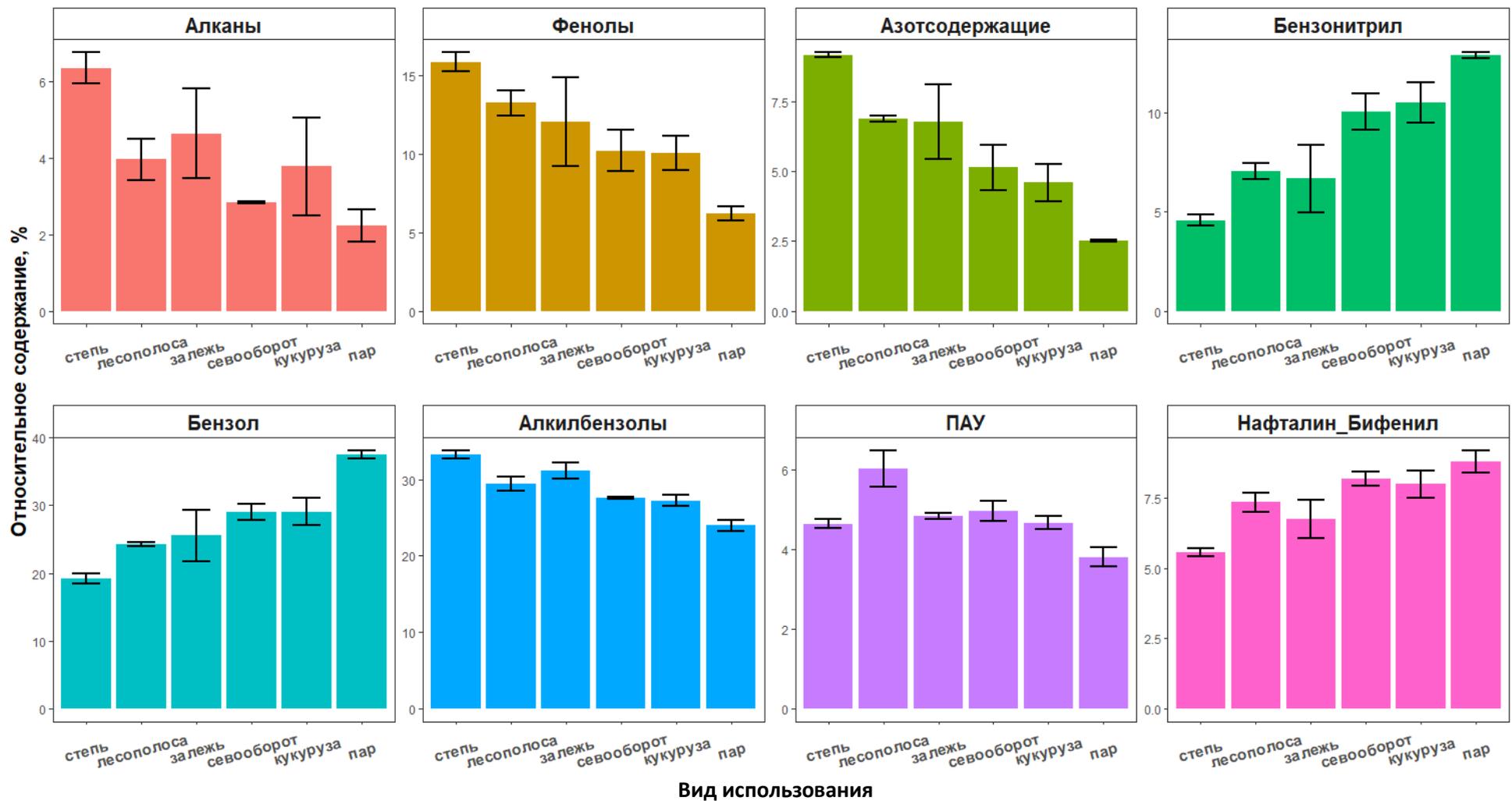


Рисунок 12 – Относительное содержание (среднее, стандартное отклонение, n = 3) основных пиролизатов ТС ОБ в типичных черноземах разного вида использования

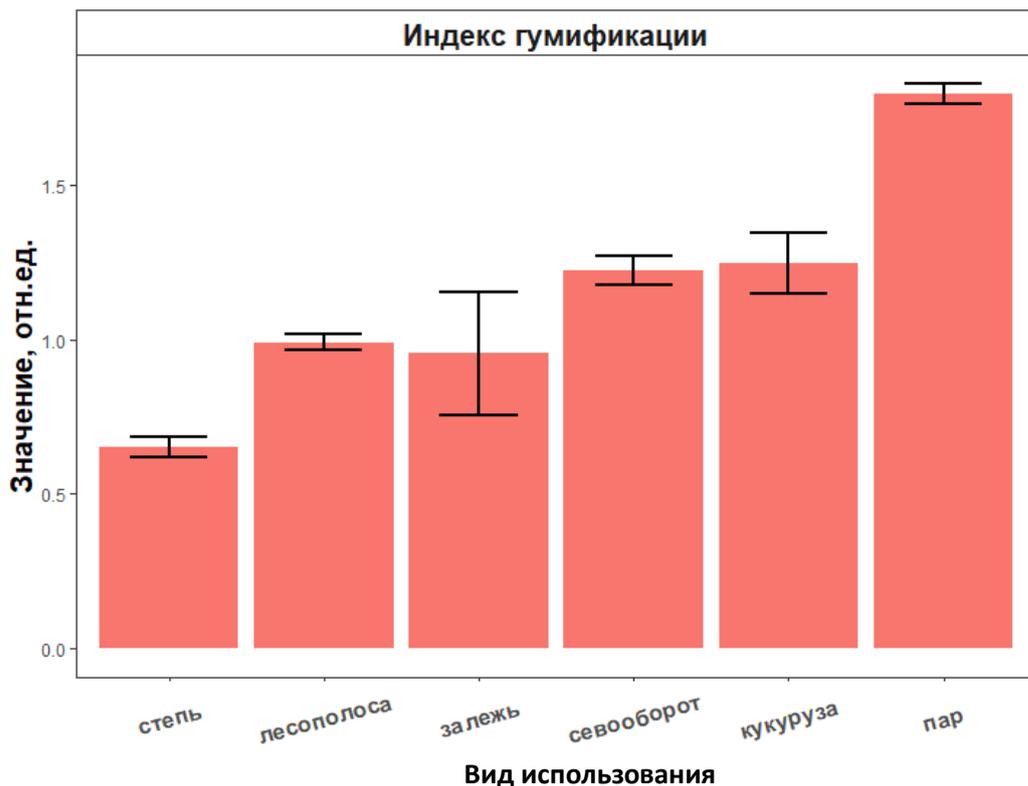


Рисунок 13 – Значение индекса гумификации ПОВ типичных черноземов по данным аналитического пиролиза

ПАУ могут образовываться при циклизации алифатических пиролизатов в процессе пиролиза при температуре выше 400 С (Straka, Navelsova, 2012), но чаще всего их относят к пиролизатам черного углерода (black carbon) (Kaal et al., 2009). Также нужно отметить, что вещества, подобные по химическому строению черному углероду, могут образовываться при деградации лигнина (Waggoner et al., 2015), поэтому ПАУ могут быть также пиролизатами сильноразложившегося ПОВ. Наибольшее относительное содержание ПАУ (метилнафталины, антрацен, флуорен) наблюдается в ПОВ чернозема под лесополосой, остальные варианты, кроме пара, не отличаются по этому показателю (рисунок 12). Вероятно, это связано с тем, что для почвы варианта лесополоса характерно преобладание древесного опада. Содержание бифенила и нафталина увеличивается подобно бензонитрилу и бензолу в составе пиролизатов ПОВ черноземов в ряду: степь, лесополоса, залежь, севооборот, кукуруза, пар.

Скорее всего это связано с накоплением наиболее устойчивых компонентов ПОВ в рассматриваемом ряду.

Отдельно стоит отметить то, что ПОВ варианта залежь, по данным первой и второй стадии пиролиза, ведет себя по-разному, попадая в кластер то с пахотными, то с непахотными почвами. Ранее было показано, что восстановление запасов углерода в этом варианте происходит преимущественно за счет пассивного пула (фракция гумина) (Холодов, 2020). Поэтому если предположить, что ТС ОВ соответствует пассивному пулу, то это объясняет явное отличие залежи от пара по составу ТС ОВ, при менее выраженных различиях этих вариантов по составу ТЛ ОВ. Дополняя это объяснение нужно отметить, что при восстановлении запасов углерода, большая часть свежего ОВ сорбируется на минеральной матрице (Jastrow, 1996), что делает их более термически стабильными (Giannetta et al., 2018), поэтому признаки восстановления запасов ПОВ видны только при изучении фракции ТС ОВ.

Таким образом, результаты первой и второй стадии пиролиза разделили черноземы различных видов использования по степени трансформированности ПОВ и динамике поступления свежего органического материала. По данным пиролитического индекса гумификации наименее трансформированным является ПОВ варианта степь, а наиболее трансформированным – пара.

3.1.4. Жирнокислотный состав типичных черноземов различного вида использования

3.1.4.1. Методические аспекты оценки состава жирных кислот в почве

Перед основными экспериментами по оценке ЖК состава почвы методом термохимического разложения был проведен предварительный эксперимент выбора условий этого анализа. Основными факторами, которые могут повлиять на результаты термохимического разложения почвы, являются: дериватизирующий агент, его концентрация, температура термохимического разложения, время взаимодействия дериватизатора с почвой до анализа (He et al., 2020). В качестве дериватизирующего агента был выбран ТМАГ, который чаще всего применяется в термохимическом разложении ПОВ (Shadkani, Helleur, 2010).

Для выбора концентрации к навескам почвы (2–3 мг) добавляли ТМАГ в метаноле в возрастающем количестве: 0,95, 1,9, 4,75, 9,5 мкмоль (20 мкл р-ра ТМАГ с концентрациями 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5,0%). Далее смеси подвергали пиролизу при температурах: 300°C, 400°C, 500°C. Для проверки влияния времени взаимодействия ТМАГ с почвой использовали 21 чашечку из нержавеющей стали с образцом почвы, содержащим 4,75 мкмоль ТМАГ, и каждые 2 ч в течение 40 ч анализировали по 1 образцу при температуре 300°C.

Влияние описанных факторов оценивали по количественному выходу метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК): пальмитолеиновой, олеиновой, пальмитиновой и стеариновой, а также сумме всех МЭЖК. Количественную оценку проводили методами внутренней нормализации и внутреннего стандарта.

Влияние температуры пиролиза и концентрации ТМАГ. На рисунке 14 представлены данные по содержанию МЭЖК (нормированные значения площадей хроматографических пиков на внутренний стандарт) в зависимости от температуры пиролиза и количества ТМАГ. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что на содержание МЭЖК достоверно влияет

концентрация ТМАГ (Приложение Б.6.), а также взаимодействие факторов концентрации и температуры (Приложение Б.7.). На рисунке 14 видно, что увеличение концентрации добавляемого ТМАГ приводит к увеличению содержания МЭЖК, что вполне закономерно. Влияние температуры на содержание МЭЖК тесно связано с концентрацией ТМАГ. При низких концентрациях ТМАГ высокая температура реакции приводит к более эффективному метилированию ЖК. Для варианта с внесением 4,75 мкмоль ТМАГ эффективность метилирования не зависела от температуры. При более высоких концентрациях ТМАГ температура, напротив, уменьшает выход МЭЖК. Вероятно, это связано с тем, что при низких концентрациях вещества высокая температура сдвигает химическое равновесие в сторону продуктов реакции, а при высокой температуре и высоких концентрациях ТМАГ, химическое равновесие сдвигается в сторону исходных веществ (Han et al., 2009; Pecha et al., 2016).

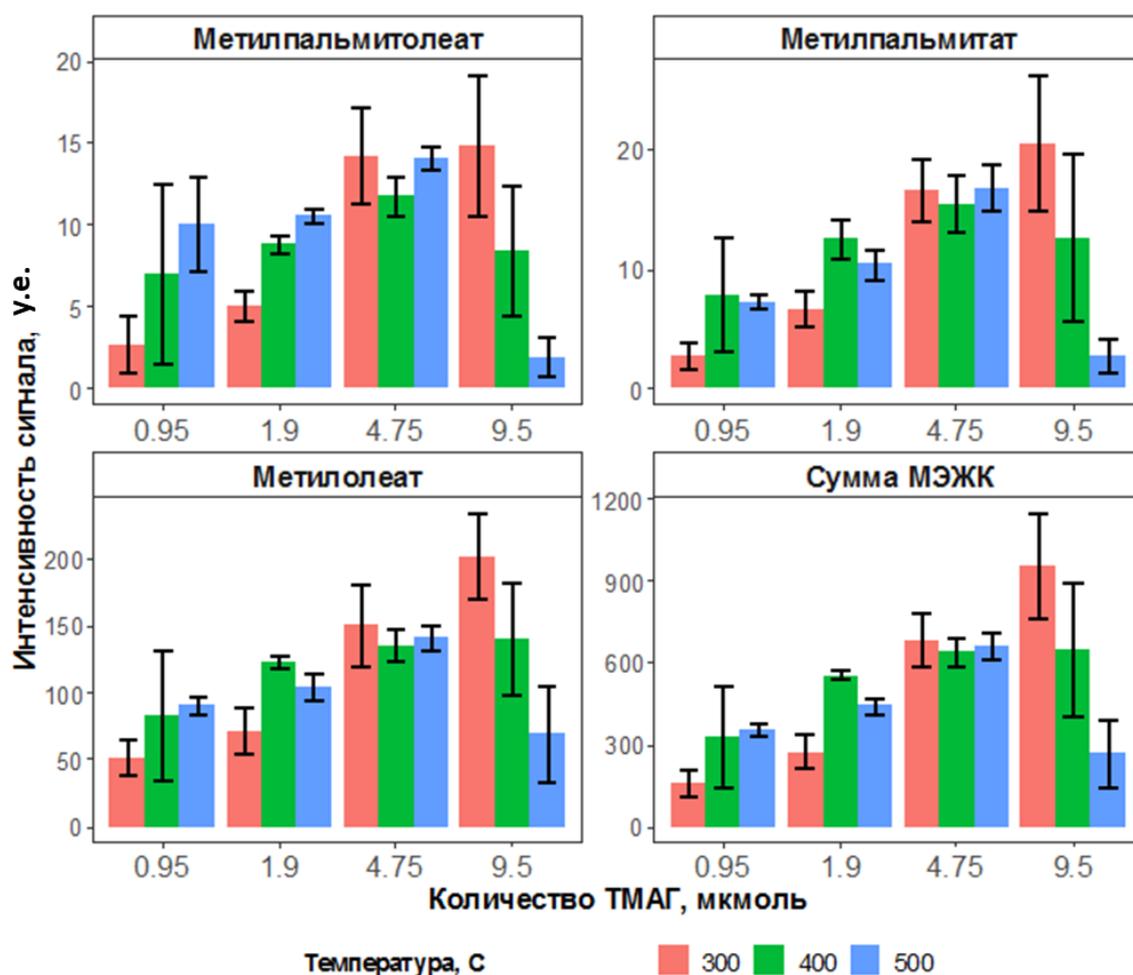


Рисунок 14 – Содержание МЭЖК (среднее, стандартное отклонение, $n = 3$) в зависимости от температуры и количества ТМАГ

На рисунке 15 представлены данные по относительному содержанию МЭЖК в почве, где видно, что температура и концентрация дериватирующего агента оказывают влияние на долю обеих рассматриваемых ненасыщенных МЭЖК, тогда как относительное содержание насыщенных МЭЖК практически не зависит от этих факторов.

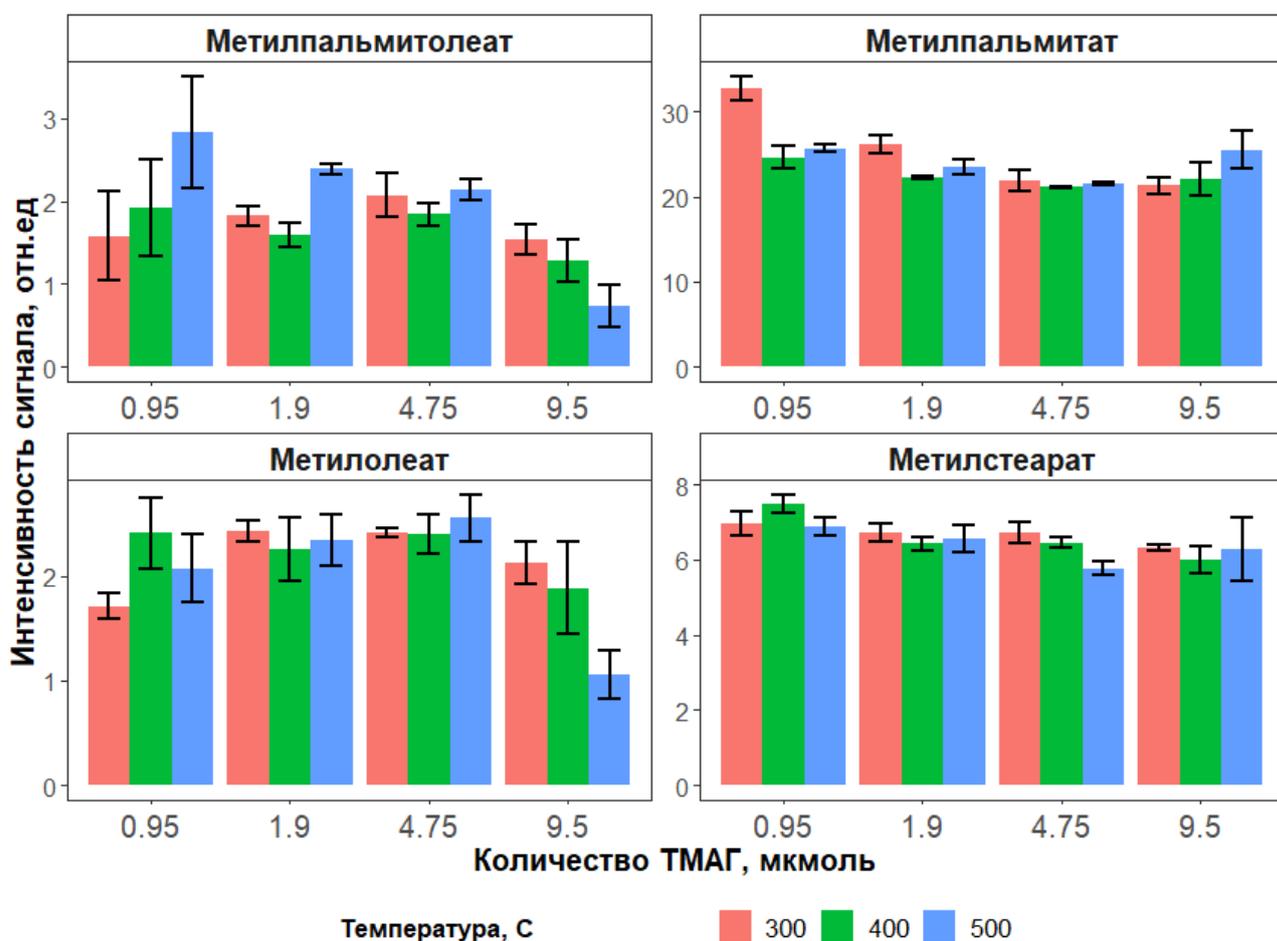


Рисунок 15 – Относительное содержание МЭЖК (среднее, стандартное отклонение, $n = 3$) в зависимости от температуры и количества ТМАГ (мкмоль в образце)

На примере оценки относительного содержания метилпальмитолеата и метилолеата следует отметить, что способность мононенасыщенных ЖК к дериватизации неоднородна, это хорошо заметно по выходу мононенасыщенных МЭЖК при температуре термолитиза 500°C. Вероятно, этот факт связан с различиями в константах диссоциации ненасыщенных ЖК: пальмитолеиновая кислота обладает более выраженными кислотными свойствами по сравнению с олеиновой, поэтому при низких концентрациях ТМАГ эффективнее с ней взаимодействует (Грандберг, Нам, 2016). При высоких концентрациях ТМАГ доля ненасыщенных МЭЖК одинаково снижается. Из литературных источников известно, что избыток ТМАГ приводит к изомеризации полиненасыщенных

ЖК, уменьшая долю для каждого из изомеров, а для мононенасыщенных ЖК подобной закономерности не наблюдается (Downing, Greene, 1968; Williams, Macgee, 1982; Challinor, 1991). В нашем случае уменьшение доли мононенасыщенных МЭЖК, видимо, связано с гидрированием двойной связи. Об этом может свидетельствовать увеличение доли метилпальмитата, который образуется при гидрировании метилпальмитолеата. Однако, все же остается не ясно, почему этот процесс выражен при высоких концентрациях дериватирующего агента.

В эксперименте показано, что наибольшее влияние на результаты термохимического разложения оказывает избыток ТМАГ, поэтому следует рекомендовать его использование в пределах 1,9–4,75 мкмоль, что в пересчете на углерод почвы составляет 15–40 ммоль/г ОС. Точной оценки дать невозможно, т. к. доля липидов в ПОВ сильно варьируется в зависимости от растительных остатков, типа почвы, горизонта и множества других факторов.

Влияние времени взаимодействия с ТМАГ. В работе для подачи проб в пиролизер использовали автосемплер, поэтому после внесения дериватирующего агента пробы попадали в пиролитическую ячейку по очереди примерно через каждые 2 ч. Таким образом, экспозиция почвы с ТМАГ до анализа была разной. В связи с этим оценивали влияние времени взаимодействия почвы с ТМАГ на определение ЖК.

Результаты этого эксперимента представлены на рисунке 16. На графиках видно, что тренд на уменьшение или увеличение содержания МЭЖК отсутствует, однофакторный дисперсионный анализ показал (Приложение Б.8.), что содержание МЭЖК не зависит от времени нахождения почвы вместе с ТМАГ в диапазоне 0–40 ч, поэтому можно сделать вывод, что до проведения термохимического разложения ПОВ не реагирует с ТМАГ с образованием МЭЖК.

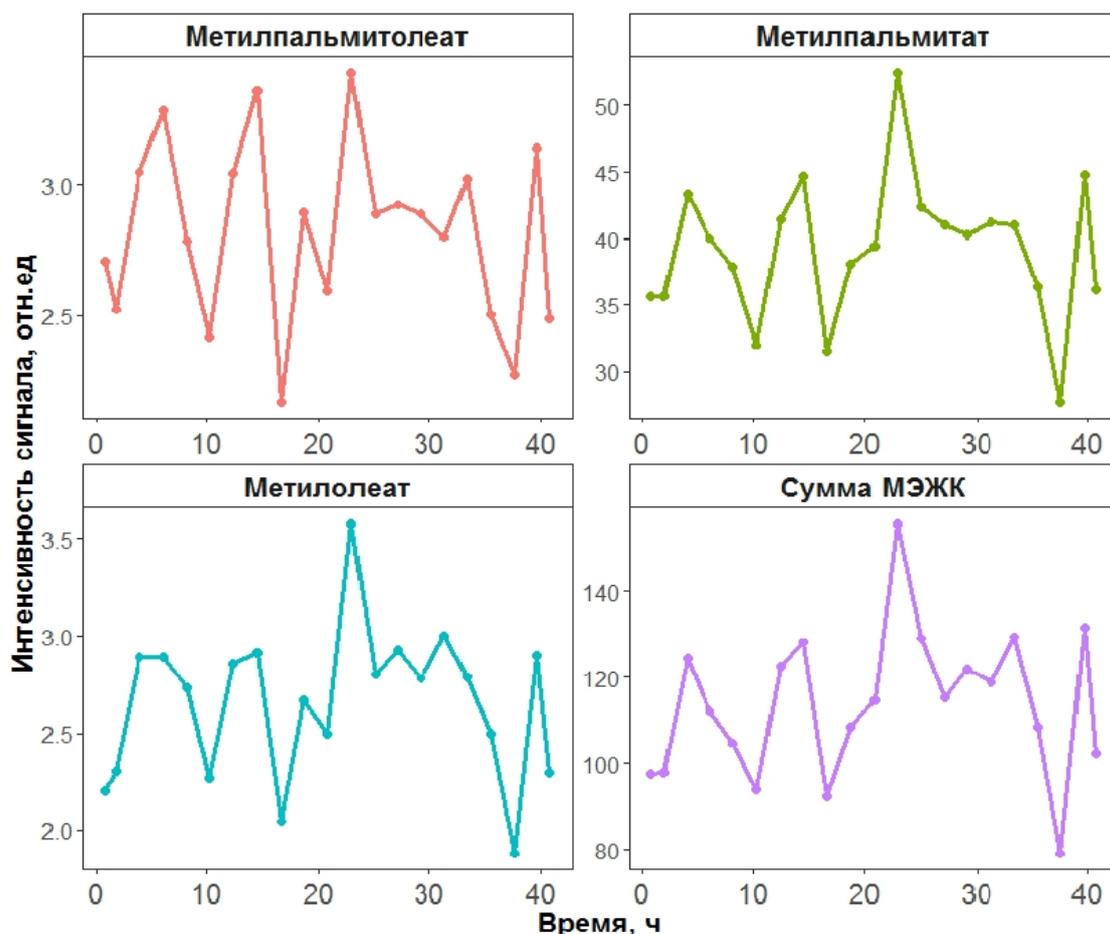


Рисунок 16 – Изменение содержания МЭЖК в зависимости от времени экспозиции ТМАГ с почвой

Время экспозиции ТМАГ с почвой не повлияло на содержание ЖК, поэтому имеющийся массив данных был использован для оценки повторяемости результатов термохимического анализа. Повторяемость анализа характеризует близость друг к другу результатов измерений, получаемых одним и тем же методом на идентичных объектах, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в пределах короткого промежутка времени (Дворкин, 2020). Коэффициенты вариаций (CV) значений содержания МЭЖК в случае расчета относительно площадей пиков с нормированием на навеску и внутренний стандарт не превышали 20%, а при использовании метода внутренней нормализации 10% (таблица 6). Это говорит о приемлемой сходимости полученных данных (McFarren et al., 1970). В случае использования метода

внутренней нормализации значения коэффициентов вариации закономерно ниже, чем при нормировании на внутренний стандарт. Это обуславливается тем, что роль стандарта формально играет совокупность всех регистрируемых на хроматограмме компонентов (Novak, 1975).

Таблица 6 – Оценка повторяемости результатов содержания МЭЖК в типичном черноземе, полученных методом термохимолита

МЭЖК	n*	Метод внутреннего стандарта			Метод внутренней нормализации		
		\bar{x}^*	σ^*	CV*, %	\bar{x}^*	σ^*	CV*, %
Метиллаурат	21	7.0	0.9	13	6.1	0.5	8
Метилмиририлат	21	9.6	1.6	17	8.4	0.5	6
Метилпальмитолат	21	2.8	0.3	11	2.5	0.2	8
Метилпальмитат	21	39.2	5.3	14	34.5	1.2	3
Метилолеат	21	2.7	0.4	15	2.3	0.1	4
Метилстеарат	21	15.2	2.5	16	13.3	0.6	4
Метиларахидонат	21	7.4	1.2	16	6.5	0.3	5
Метилгенэйкозанат	21	3.5	0.6	17	3.1	0.3	10
Метилбегенат	21	12.2	2.2	18	10.7	0.7	7
Метиллигноцерат	21	14.2	3.1	22	12.4	1.2	10

* n – повторность, \bar{x} – выборочное среднее значение, σ – выборочное стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации

Таким образом, в ходе методической работы по адаптации метода термохимолита почвы для изучения ЖК черноземов показано, что оптимальными условиями для него является температура 300–500°C с применением 15–40 ммоль ТМАГ/г ОС, а также выявлено, что время экспозиции ТМАГ с почвой перед анализом (в пределах 40 ч) не влияет на результаты термохимолита. Дальнейшие исследования по изучению состава

ЖК типичных черноземов проводили при следующих условиях термохимического разложения: количество ТМАГ 40 ммоль/г ОС, температура 300°C.

3.1.4.2. Состав ЖК типичных черноземов различного вида использования

Жирнокислотный состав был определен в 6 вариантах черноземов разного землепользования. Всего было выявлено 33 МЭЖК. На рисунке 17 представлены результаты анализа в виде тепловой карты по нормализованным данным относительного содержания МЭЖК. Кластерный анализ методом Варда на основе данных относительного содержания МЭЖК позволил разделить черноземы на два кластера: непахотные и пахотные черноземы. В первый кластер вошли, варианты степь и лесополоса, а во второй все остальные, включая вариант залежь. При этом состав МЭЖК залежи явно отличается от пахотных вариантов черноземов, что, вероятно, связано с процессами восстановления запасов углерода, которые отражаются на составе почвенной микрофлоры.

Для более детального анализа полученных результатов МЭЖК были разделены на 4 группы: линейные насыщенные МЭЖК среднецепочечные от C10:0 до C20:0 и длинноцепочечные от C 21:0 до C30:0, а также нелинейные насыщенные и ненасыщенные ЖК (Приложение Б.9). Среднецепочечные ЖК (C10–C21) – маркеры бактериальных форм, их высокая доля свидетельствует о преобладании влияния бактерий в формировании ПОВ (Vestal, White, 1989; Jansen et al., 2006; Jandl et al., 2007). Длинноцепочечные ЖК (C22–C30) являются маркерами материала растительного происхождения в составе ПОВ (Quenea et al., 2006). Разветвленные ЖК чаще всего входят в состав клеточных стенок грамположительных бактерий (включая актинобактерии), также они накапливаются в условиях высокой микробиологической активности (Chefetz et al., 1996). Высокое содержание ненасыщенных ЖК (сумма мононенасыщенных ЖК (C 16:1, C 18:1) и полиненасыщенной линолевой кислоты (C 18:2 (n-6)) может свидетельствовать об увеличении

грибной биомассы в почве (Madan et al., 2002; Ruess et al., 2002; Joergensen, Wichern, 2008). Содержание ЖК по группам в рассматриваемых почвах представлено на рисунке 18.

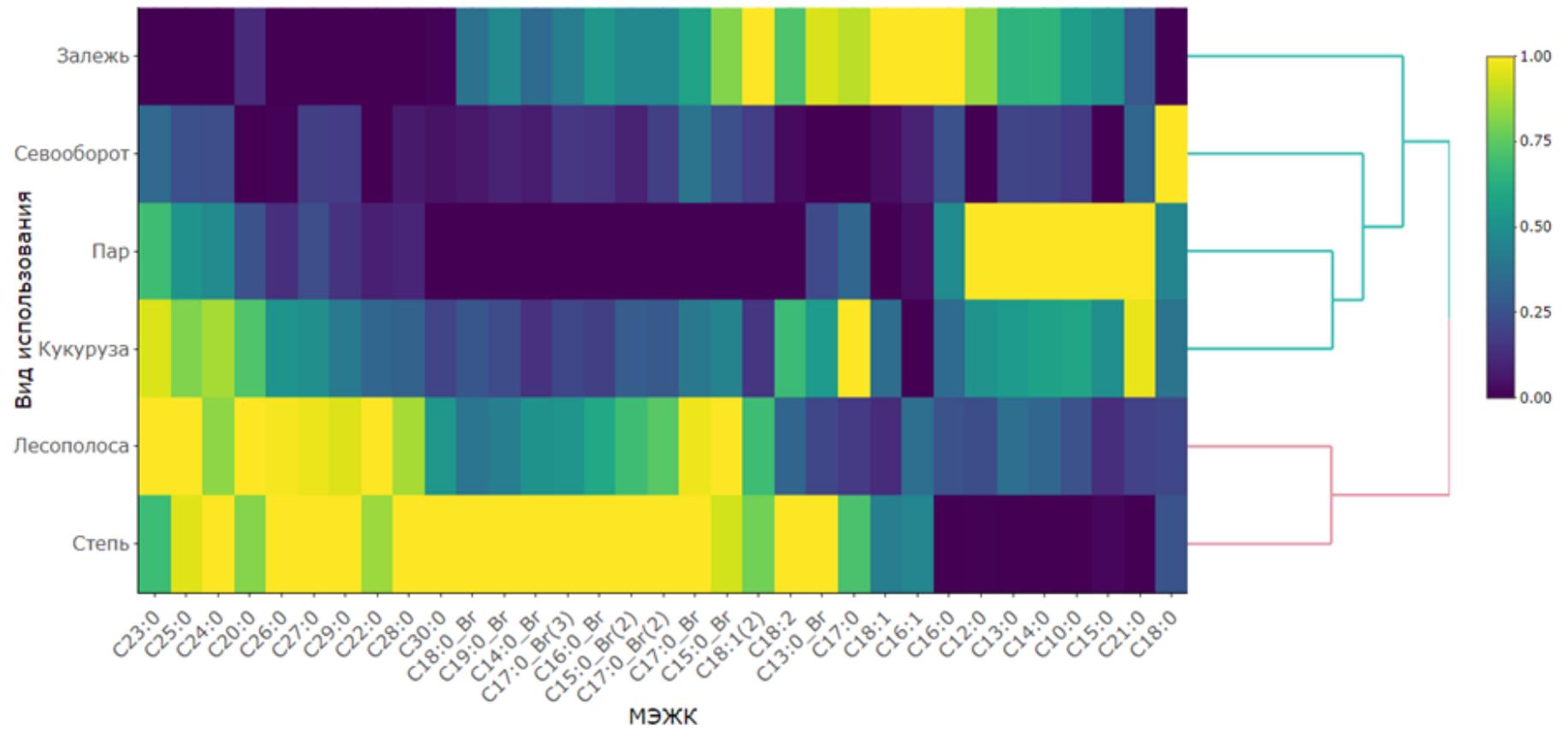


Рисунок 17 – Относительное содержание (о.е.) отдельных МЭЖК при термохимоллизе типичных черноземов различного вида использования

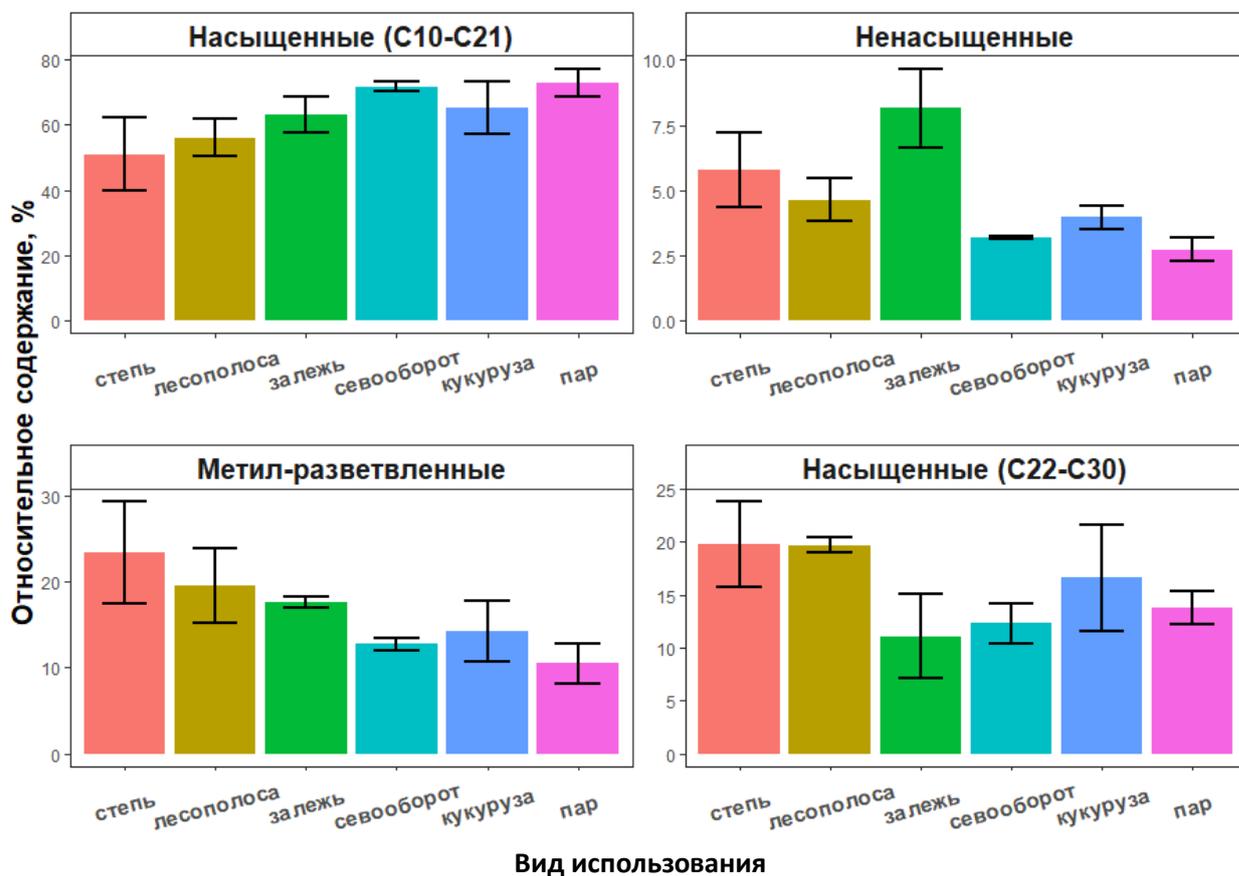


Рисунок 18 – Относительное содержание (среднее, стандартное отклонение, $n = 3$) групп МЭЖК по вариантам типичных черноземов

Как видно, распределение ЖК по вариантам черноземов, зависит от вида их использования. Варианты степь и лесополоса, как самые ненарушенные и с обильным, поступлением свежего органического вещества, характеризуются высоким относительным количеством «растительных» ЖК, при этом постоянное поступление новых субстратов и благоприятная внешняя среда способствуют микробному разнообразию, повышая долю разветвлённых и ненасыщенных ЖК). Для ПОВ обрабатываемых почв вариантов севооборот и пар характерна противоположная картина: низкое относительное содержание длинноцепочечных ЖК и высокая доля среднецепочечных ЖК свидетельствуют о процессах деградации ПОВ в этих вариантах. Залежь находится на этапе восстановления запасов ПОВ и характеризуется увеличением микробной активности, а также биомассы грибов. Накопление длинноцепочечных ЖК не выражено(рисунок 18); видимо, это связано с

высокой активностью микробов, которые сразу перерабатывают свежепоступившие органические остатки. Известно, что при интенсивной вспашке разрушаются гифы грибов, которые играют значительную роль в образовании почвенной структуры (Lucas et al., 2014). Можно предположить, что высокое содержание ненасыщенных ЖК в варианте залежь, характеризующих рост грибной биомассы, вероятно, связано с восстановлением структуры почвы в этом варианте (Холодов, 2016).

Таким образом, методом термохимического разложения показаны основные процессы накопления и трансформации ЖК черноземов в зависимости от вида использования. Показано, что обработка почвы приводит к накоплению короткоцепочечных ЖК, а восстановление почвы после длительного парования приводит к увеличению содержания ненасыщенных ЖК; для ненарушенных почв характерна высокая доля длинноцепочечных и разветвлённых ЖК. При восстановлении черноземов важную роль играет грибная составляющая микробиома.

3.2. Денсиметрические фракции типичных черноземов различного вида использования*

3.2.1. Адаптация метода денсиметрического фракционирования для изучения пулов почвенного органического вещества

Выбранный метод денсиметрического фракционирования основан на схеме, предложенной в (John et al., 2005).

*Основные результаты изложены в данной главе, опубликованы в следующих статьях

2. **Фарходов Ю. Р.**, Ярославцева Н. В., Яшин М. А., Хохлов С. Ф., Ильин Б. С., Лазарев В. И., Холодов В. А. Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного землепользования // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2020. – Т. 103. – С. 85-107. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2020-103-85-107>. ИФ по РИНЦ (2021) - 0,886, 0,81 п.л., 0,12 п.л.

Использованная в работе модификация метода состояла в замене стеклянных шариков, применяемых для разрушения микроагрегатов с целью выделения окклюдированных фракций, ультразвуком с энергией обработки суспензии 500 Дж/мл. Такая величина энергии позволяет эффективно разрушить почвенные макро- и микроагрегаты до элементарных почвенных частиц (ЭПЧ), не приводя к дроблению минеральной матрицы (Gregorich et al., 1988; Kharitonova et al., 2017).

В ходе денсиметрического выделения возможны существенные потери ПОВ. Тяжелая фракция, которая остается после фракционирования, состоит из частиц разного размера, в том числе и тонкодисперсных, которые в процессе последовательной промывки водой минерального остатка от поливольфрамата натрия диспергируются и теряются. Вместе с ними теряется часть ПОВ, которая связана с минеральной матрицей в виде органоминеральных комплексов. Потери углерода могут достигать 20% от первоначального непромытого состояния (Fernandez et al., 2012). Некоторые исследователи не сталкивались с подобной проблемой, вероятно, из-за лёгкого гранулометрического состава исследуемых образцов почв (John et al., 2005; Gruenewald et al., 2006). Те, кто столкнулся с данной проблемой, пытались уменьшить потери при помощи высокоскоростного центрифугирования (Cerli et al., 2012), а также коагуляции в присутствии катионов кальция и натрия (Golchin et al., 1994; Viret, Grand, 2019). Поэтому важным аспектом денсиметрического фракционирования является минимизация потерь углерода в ходе фракционирования.

В нашей работе с целью снижения потерь при отмывке от поливольфрамата натрия фракции минерального остатка, применяли раствор 0,001М HCl (pH = 3,0). При подобном подходе понижается абсолютное значение отрицательного заряда частиц, что приводит к их коагуляции, а соляная кислота при высушивании фракции испаряется и не искажает оценки массового выхода фракций.

В ходе предварительных экспериментов было показано, что потери массы почвы и, как следствие, содержания углерода (относительно изначальной навески) при денсиметрическом фракционировании в случае применения раствора соляной кислоты в качестве коагулянта снизились в среднем с 15% до 5% (рисунок 19).

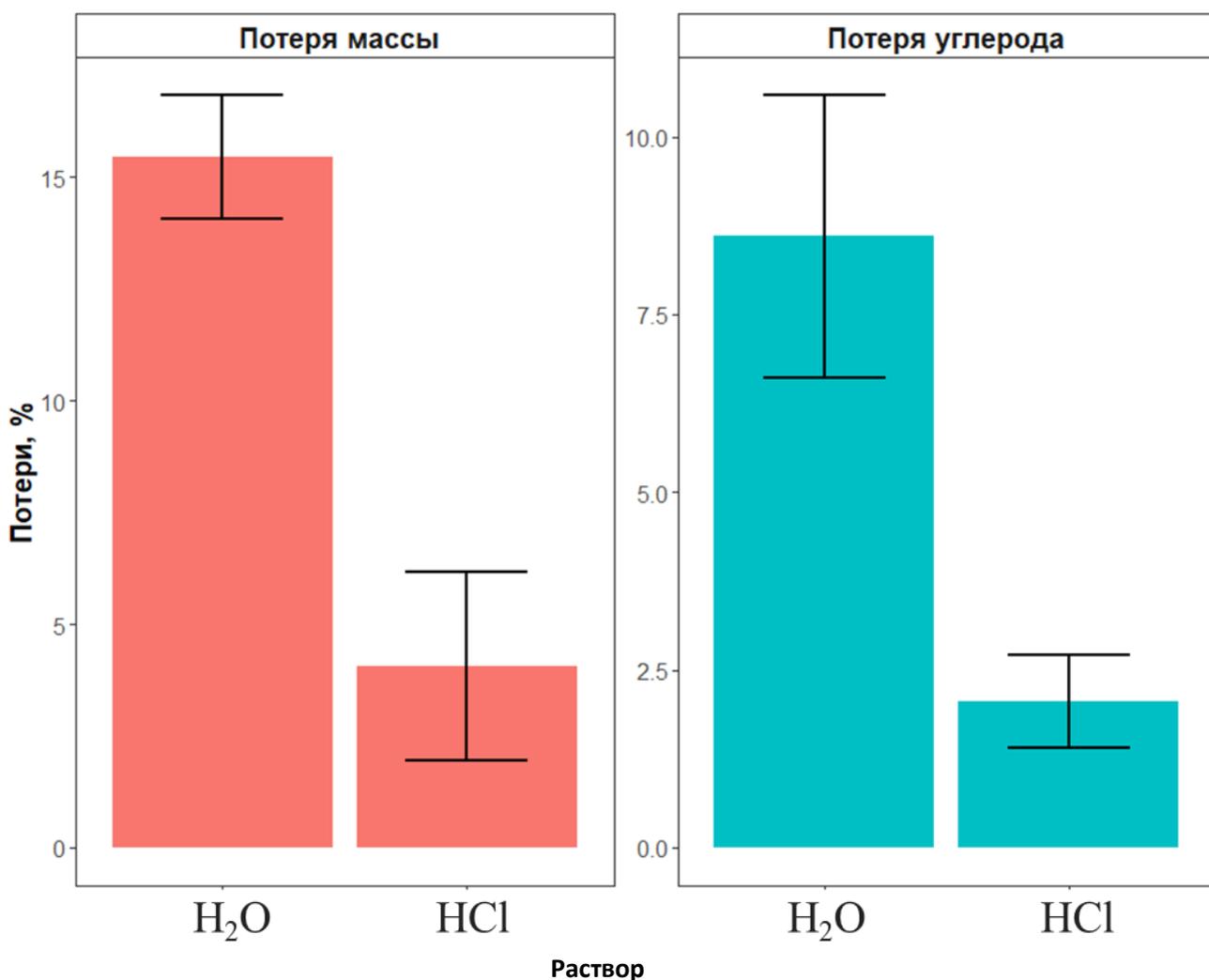


Рисунок 19 – Потери массы почвы и углерода почвы при денсиметрическом фракционировании ($n = 4$, среднее \pm стандартное отклонение) в типичных черноземах различного землепользования с использованием H₂O и с использованием 0,001M HCl. Потери учитывали по разнице массы почвы до и после фракционирования

Важно отметить, что предложенный прием с использованием соляной кислоты не оказывает значительного влияния на условия денсиметрического

фракционирования, т. к. рН поливольфрамата натрия, в зависимости от плотности, варьирует от 2 до 4 (Sodium Polytungstate (SPT)). В результате денсиметрическое фракционирование всех исследованных образцов проводили в вышеизложенной модификации с отмывкой фракции минерального остатка соляной кислотой.

3.2.2. Общая характеристика органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов

Из типичных черноземов разного вида использования (степь, лесополоса, залежь, севооборот, кукуруза, пар) были выделены денсиметрические фракции. На рисунке 20 приведено их изображение под микроскопом (типичный чернозем варианта степь). На рисунке видны четкие отличия между фракциями, обусловленные, прежде всего, выраженностью связи с минеральной матрицей. С увеличением плотности фракции увеличиваются дисперсность ПОВ, степень его разложения, а также степень связанности с глинистыми минералами: СПОВ <1,6 содержат преимущественно неразложившиеся или плохо разложившиеся остатки растений; ОПОВ <1,6 это в основном гомогенные сгустки органического материала, а ОПОВ 1,6-2,0 - пленки, покрывающие глинистые минералы, ПОВ минерального остатка - органоминеральные комплексы, а также, вероятно, углистые частицы. В целом, присутствие минеральной составляющей почвы максимально во фракции ОПОВ 1,6,-2,0 и минерального остатка >2,0 г/см³, причем в самой тяжелой фракции явно преобладают зерна первичных силикатов и алюмосиликатов, что соответствует литературным данным (Sollins et al., 2006).



Рисунок 20 – Изображения денсиметрических фракций типичного чернозема варианта степь

В процессе денсиметрического фракционирования черноземов оценивали массы полученных фракций, в которых определяли общее содержание углерода, азота, их стабильных изотопов ($\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$) и рассчитывали C/N. Зная массу денсиметрических фракций и содержание в них углерода и азота, рассчитывали содержания C и N денсиметрических фракций в пересчете на 100 г почвы (рисунок 21, приложение В.1.). Содержание углерода и азота во фракциях вместе с выходом фракций позволяет оценить вклад каждой из фракций в общее содержание этих элементов в почве. Отношение C/N, а также содержание стабильных изотопов углерода и азота рассматривают как характеристику степени трансформированности органического вещества (Tiunov, 2007; Макаров, 2009).

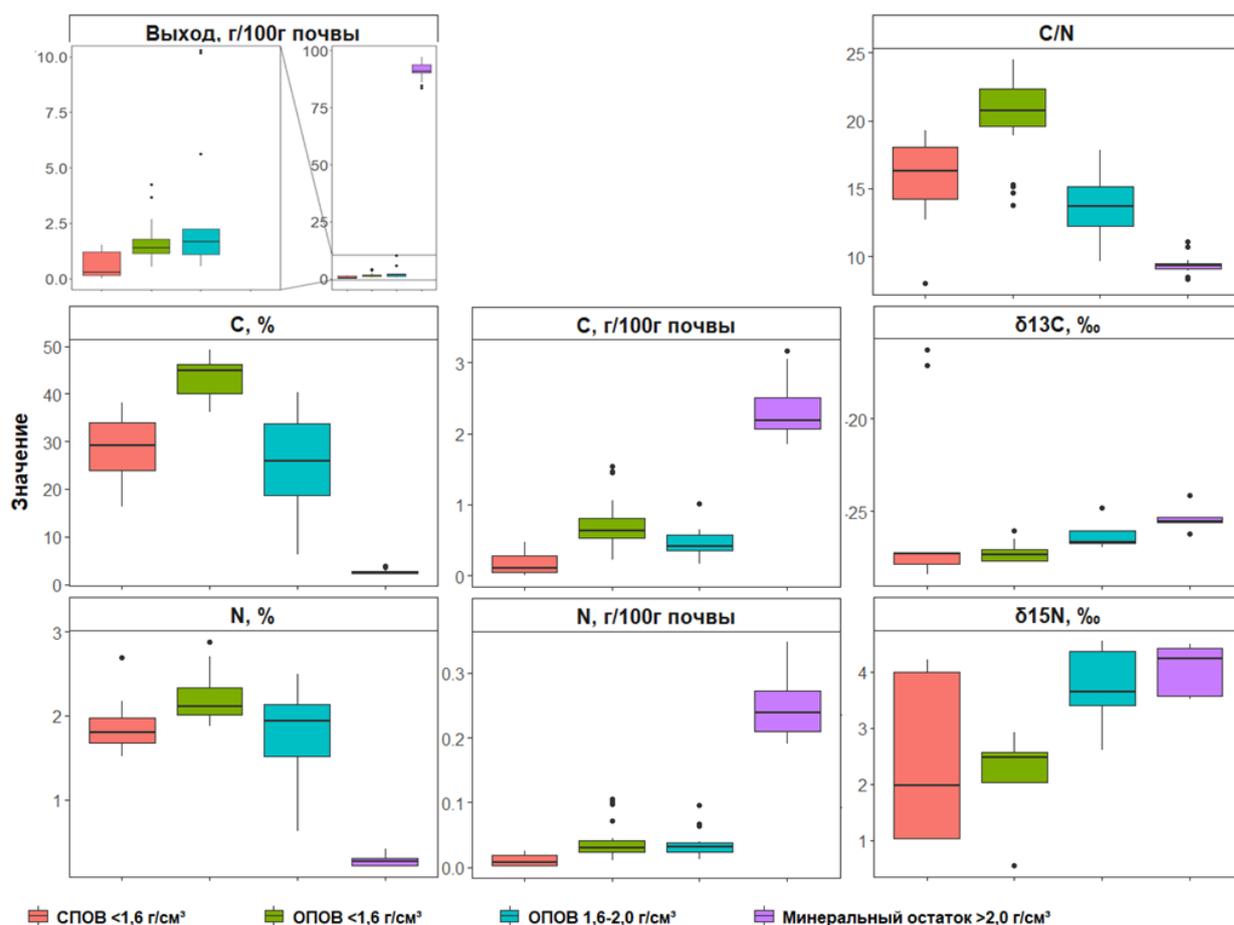


Рисунок 21 – Массовый выход денсиметрических фракций; содержание С и N в денсиметрических фракциях, отношение C/N и доли стабильных изотопов $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ (медиана, нижний и верхний квартили, минимальное и максимальное значение выборки и выбросы)

Содержание углерода и азота во фракции СПОВ <1,6 было одним из самых высоких и составляло около 30 и 1,8 % соответственно, при этом массовый выход этой фракции не превышал 1,5 %, что определило ее низкий вклад в общее содержание ПОВ. Значение C/N было около 16, выброс по данному показателю был характерен для варианта пар (C/N = 7,9), что показывает сильную степень деградированности СПОВ <1,6 пара. Значения $\delta^{13}\text{C}$ были около -27 ‰, выброс среди значений по этому показателю был обнаружен для ОВ варианта кукуруза, что объясняется особенностью метаболического пути фиксации углекислого газа кукурузы (C4-фотосинтез) (Кузнецов, Дмитриева, 2012). Значения $\delta^{15}\text{N}$ характеризуются сильным

разбросом, что может быть связано как с различным изотопным составом азота в растительных остатках, и их разной степенью трансформированности, а также внесением азотных удобрений в почвы пахотных вариантов (Baisden et al., 2002; Kolb, Evans, 2002). В целом для исследуемых черноземов характерны высокие значения C/N и низкие $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ в рассматриваемой фракции, что характерно для растительных остатков низкой степени разложивности (приложение В.1.).

Массовый выход фракции ОПОВ <1,6 в черноземах в среднем составил 1,6 %, что существенно выше, чем фракции СПОВ <1,6. Содержание С и N в этой фракции было самым высоким и составляло около 40 и 2,0% соответственно. Доли С и N от всего содержания их в почве были около 0,7 и 0,03 % соответственно, что значительно превышает долю в СПОВ <1,6. Широкое отношение C/N (~22), а также низкая доля тяжелых изотопов $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ (-27,5 и 2,5 ‰) (рисунок 21), свидетельствует о низкой степени трансформированности ПОВ. Это связано с тем, что фракция ОПОВ <1,6 находится во внутриагрегатном пространстве, что снижает доступность ОВ для микроорганизмов и, соответственно, скорость трансформации растительных остатков достаточно низкая (Golchin et al., 1994). Содержание углерода, азота и отношение C/N во фракции ОПОВ <1,6 выше, чем во фракции свободного органического вещества (СПОВ <1,6). Это можно объяснить тем, что фракция СПОВ <1,6 более разложена ввиду своей доступности для микроорганизмов. Важно отметить, что средний возраст фракции ОПОВ <1,6 часто превышает средний возраст всех остальных денсиметрических фракций (John et al., 2005; Rasmussen et al., 2005), что дополнительно указывает на защитный механизм окклюзии ОВ.

Массовый выход окклюзированной фракции плотностью 1,6–2,0 г/см³ в большинстве вариантов был около 2 %, что в среднем было выше, чем фракций СПОВ <1,6 и ОПОВ <1,6. Содержание С и N составляло около 30 и 2,0% соответственно, не отличаясь по этим показателям от СПОВ <1,6. Доля С и N ОПОВ 1,6–2,0 от общего содержания их в почве составляла 0,5 и 0,03%

и практически не отличалась от ОПОВ $<1,6$ (рисунок 21). Однако, по показателям трансформированности ОВ (C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) эта фракция находится ближе к фракции минерального остатка (рисунок 21). ОПОВ 1,6–2,0 представлена органоминеральными комплексами с тонкодисперсными алюмосиликатами плотностью до $2,4 \text{ г/см}^3$ (Sollins et al., 2006). Поэтому важно отметить, что плотность выделяемой фракции будет контролироваться не только плотностью минеральной матрицы, но и количеством сорбированного на ней ПОВ.

Самая тяжелая фракция представлена преимущественно минеральной частью почвы (рисунок 21), поэтому для нее характерно невысокое содержание углерода и азота (3 и 0,3%) по сравнению с остальными фракциями. Однако доля этой фракции достигает 95% от общей массы почвы, поэтому в ней сосредоточены основные запасы углерода и азота почвы (рисунок 21). ПОВ фракции минерального остатка связано как с первичными алюмосиликатами, которые представлены в изучаемых почвах преимущественно кварцем, плагиоклазами и калиевыми полевыми шпатами (Mamontov et al., 2018), так и тонкодисперсными алюмосиликатами (Sollins et al., 2006). Для ОВ этой фракции характерны самые низкие значения C/N (~ 8) среди всех фракций и одни из самых высоких показателей $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$ (-25 и 4%), что указывает на высокую степень его трансформированности (рисунок 21), что связывают с накоплением продуктов микробного разложения на поверхности минеральной матрицы (Baisden et al., 2002).

Таким образом, выделенные денсиметрические фракции типичных черноземов характеризуют ПОВ по связанности с минеральной матрицей и степени трансформированности. Показано защитное влияние окклюзии ПОВ на их микробиологическую доступность. В целом денсиметрические фракции демонстрируют свойства, характерные для почв со средним и тяжелым гранулометрическим составом и доминированием среди глинистых минералов минералами с решеткой типа 2:1. Однако, помимо этого, можно

выявить и ряд особенностей, которые отражают вид землепользования типичных чернозёмов.

3.2.3. Характеристика органического вещества денсиметрических фракций черноземов различного вида использования

Как уже было описано, для выделенных денсиметрических фракций из типичных черноземов разного вида использования были определены следующие показатели: массовый выход фракций, содержания углерода, азота, и их доля в составе ПОВ, а также значения C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ (Приложение В.1.). Следует отметить, содержание C, N, C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ в ПОВ зависят от значений этих показателей в растениях, произрастающих на участках, а также условий их развития (Farquhar et al., 1982; Hobbie et al., 2000; Kolb, Evans, 2002; Bustamante et al., 2004; Raven et al., 2004; Subedi, Ma, 2010; Roscher et al., 2018), что затрудняет однозначную интерпретацию результатов. При этом наиболее показательными оценками, которые характеризуют процессы накопления и деградации ОВ в отдельных денсиметрических фракциях, являются содержания углерода и азота фракций относительно их общего содержания в почве, выражаемые в г С или N на 100 г почвы (Dalal, Mayer, 1986; Овсепян, 2020).

На рисунке 22 представлены данные по содержанию C, N (г/100г почвы) в денсиметрических фракциях типичных черноземов разного землепользования.

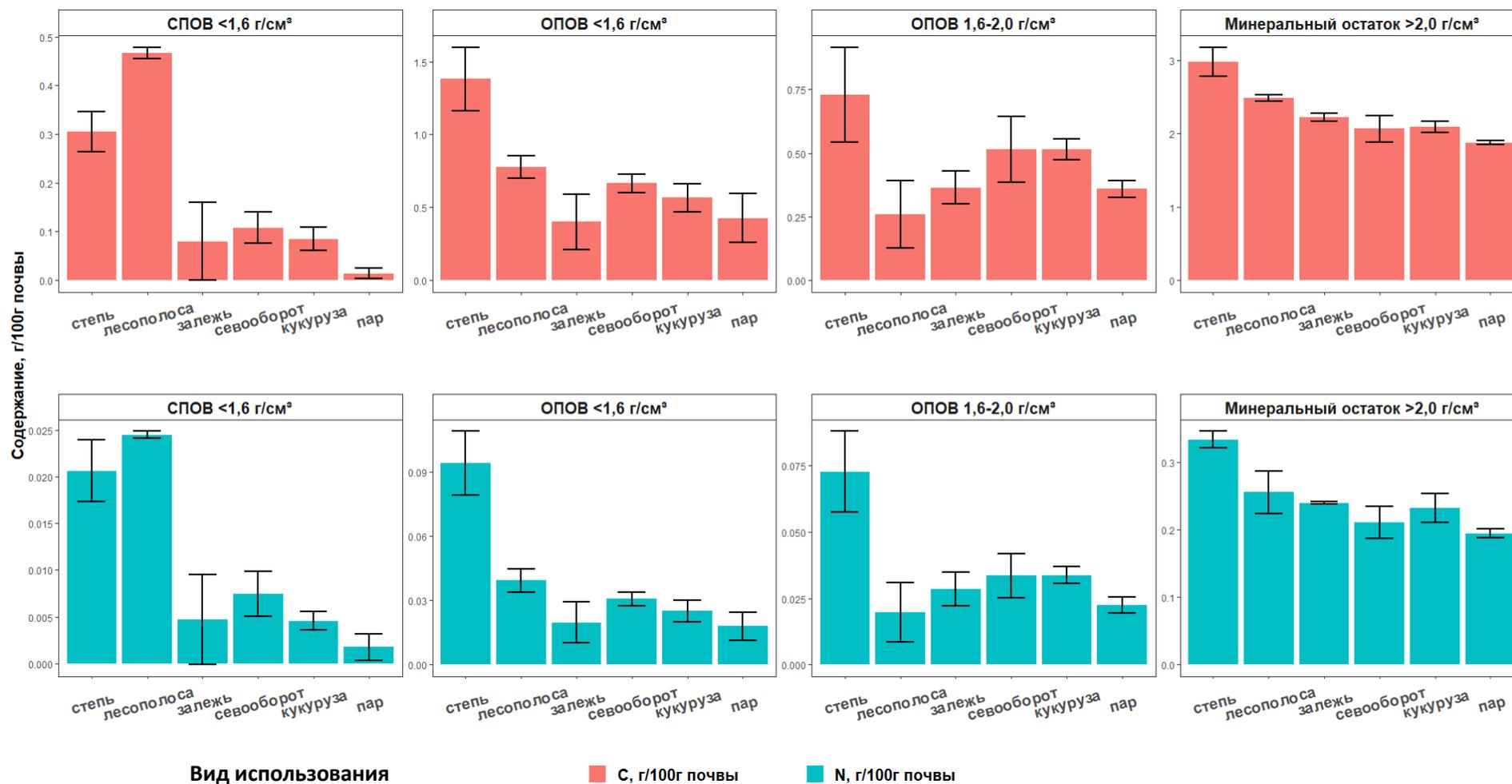


Рисунок 22 – Содержание С и N в денсиметрических фракциях типичных черноземов разного землепользования (n=3, среднее ± стандартное отклонение)

Наибольшее содержание углерода и азота фракции СПОВ <1,6 наблюдается в варианте лесополоса (0,45 и 0,025%), заметно меньше их содержится в СПОВ <1,6 степи (0,30 и 0,020%). Эта разница, скорее всего, связана с различными формами поступления опада в почву: основным источником опада в местах произрастания древесных растений являются надземные части, а в местах степной растительности – подземные, т. е. корни (Белицина и др., 1988). Корни взаимодействуют непосредственно с почвой и, вероятно, сразу после отмирания попадают во фракцию ОПОВ <1,6. Кроме того, корни травянистой растительности в большей степени подвержены процессу гумификации, именно поэтому С и N СПОВ < 1,6 в почве варианта степь меньше, чем на лесополосе (Белицина et al., 1988; Семенов, Когут, 2015). В почвах остальных вариантов С и N СПОВ <1,6 не превышали 0,1 и 0,07 % соответственно; наименьшее содержание ПОВ было выявлено в почве варианта пар (0,01 и 0,02 %). Это может быть связано с низким количеством поступающего опада, а также с наличием механической обработки, которая способствует разложению свежего органического материала (Martinez et al., 2017). Залежь по этим показателям не отличается от пахотных почв, что свидетельствует о том, что процесс восстановления запасов ОВ в данном случае не отразился на содержании СПОВ <1,6. В плане растительности залежь находится в климаксном состоянии ковыльной степи (рисунок 23), т. е. растительное сообщество полностью восстановилось и близко к варианту степь, в том числе и по объему ежегодного опада. При этом фракции свободного ПОВ в ней существенно меньше. Объяснить этот факт можно преимущественной фиксацией растительных остатков в других денсиметрических фракциях.



Рисунок 23 – Вариант залежь в момент отбора проб

Похожее распределение ПОВ по вариантам опыта характерно для ОПОВ <1,6. Для пахотных вариантов содержание С и N в ОПОВ <1,6 не превышало 0,7 и 0,03 % соответственно. Низкое С и N ОПОВ < 1,6 объясняется разрушением агрегатов в процессе обработки почвы и высвобождением заключенного в агрегатах ПОВ, что делает его более уязвимым для микробного разложения (Zotarelli et al., 2007; Wagai et al., 2009). По содержанию ОПОВ <1,6 почва варианта лесополоса статистически значимо не отличалась от обрабатываемых вариантов. Интересно отдельно рассмотреть содержание ОПОВ <1,6 в почвах вариантов залежь и пар. Видно, что за время нахождения чернозема под залежью после длительного парования содержание фракции ОПОВ <1,6 не менялось, что, вероятно, связано с особенностями восстановления запасов ПОВ. В степи запасы углерода в ОПОВ <1,6 существенно превышают запасы в почвах остальных вариантов, в том числе и лесополосы. Это говорит в пользу высказанного выше предположения, что корневые остатки в почве варианта степь преимущественно фиксируются в окклюдированных фракциях.

Содержание С и N в ОПОВ 1,6–2,0 в почве варианта степь было наибольшим в сравнении с другими вариантами и составляло 0,7 и 0,07 % соответственно. В почвах остальных вариантов содержания С и N ОПОВ 1,6–2,0 не превышали 0,5 и 0,034 % соответственно и между собой не отличались. Для почв пахотных вариантов (севооборот, кукуруза, пар) подобная ситуация объясняется проявлением деградационных процессов ПОВ вследствие обработки почвы. В случае залежи это, вероятно, связано с особенностями восстановления запасов углерода. Для почвы варианта лесополоса наблюдаемое явление также можно объяснить восстановлением запасов углерода, так как почва под лесополосой длительное время распахивалась.

Наибольшие содержания углерода и азота фракции минерального остатка выявлены в почвах черноземов вариантов степь (2,8 и 0,33%) и лесополоса (2,48 и 0,26%); для обрабатываемых черноземов, содержание С, N в минеральной фракции было ниже - до 2 и 0,2%, что свидетельствует об интенсификации процессов минерализации ПОВ при вспашке почвы (Balesdent et al., 1990). Сравнивая содержание ПОВ фракции минерального остатка в почвах вариантов залежь и пар, видно, что восстановление его запасов в залеже происходит за счет увеличения содержания ПОВ фракции минерального остатка, которое объясняется сорбцией органических молекул на минеральной матрице (Jastrow, 1996; Холодов, 2020). Известно, что в процессе постагрогенной трансформации черноземов растет содержание и размер водопрочных почвенных агрегатов, степень гидрофобности почвы, а также содержание внутриагрегатного дискретного ПОВ (Jastrow, 1996; Когут и др., 2019). Поэтому на примере почвы варианта лесополоса, залежь после пара, а также на основе литературных данных можно предположить, что восстановление запасов ПОВ в процессе постагрогенной трансформации происходит поэтапно: сначала восстанавливаются запасы ПОВ, тесно связанного с минеральной матрицей, а затем, после достижения необходимой степени гидрофобности поверхности минеральных зерен, органическое

вещество, находящееся в коллоидном состоянии, начинает включаться в почвенные агрегаты за счет гидрофобных взаимодействий (рисунок 24) (Шеин, Милановский, 2003).

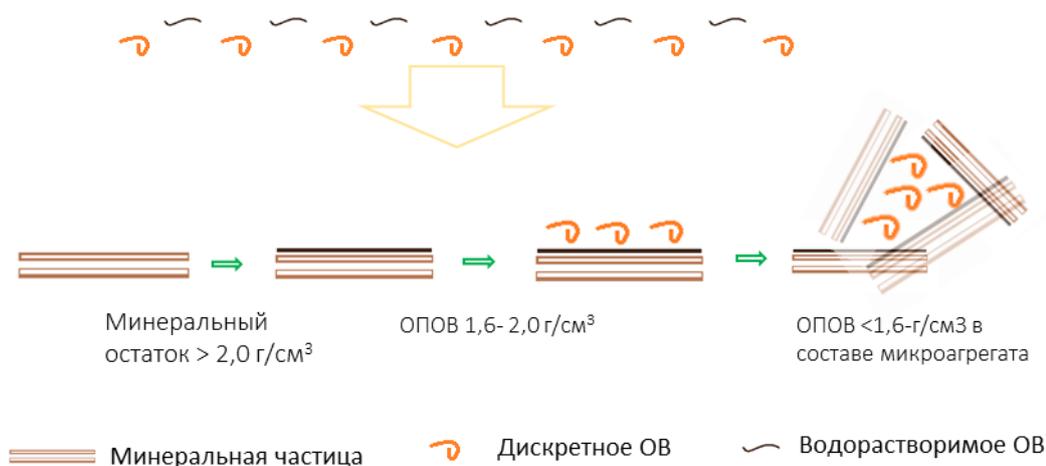


Рисунок 24 – Гипотетическая модель восстановления содержания ОВ в черноземах в процессе постагрогенной трансформации

Таким образом, наибольшее влияние на содержание СПОВ оказывает состав и режим поступления опада, на окклюдируемые фракции – локализация свежих остатков и наличие поверхностной обработки почвы. ПОВ минерального остатка, в свою очередь, определяется общими процессами деградации и накопления, присущими черноземам. В ходе постагрогенной трансформации черноземов, в первую очередь, восстанавливаются запасы ПОВ, тесно связанного с минеральной матрицей, образующиеся органоминеральные комплексы связываются со свежими растительными остатками, формируя запасы легкого окклюдируемого ПОВ.

3.3. Молекулярный состав органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов различного вида использования

3.3.1. Молекулярный состав термолабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов

Во всех денсиметрических фракциях ТЛ ОВ было идентифицировано 43 соединения (приложение Б.4.) и проведена оценка их относительного

количества. Результаты анализа представлены в виде теплокарты (рисунок 25). По совокупному содержанию всех пиролизатов ТЛ ОВ денсиметрических фракций показано, что наиболее отличительный качественный состав относительно всех остальных фракций имеет ПОВ минерального остатка, среди органических фракций наиболее похожи между собой фракции окклюдированного ПОВ (ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6–2,0). Эти сходства и отличия проявляются в содержании следующих пиролизатов и групп пиролизатов: МЭЖК, метоксифенолы, левоглюкозенон, индолы, алканы, крезол, фурфурол, бензонитрил. Состав ПОВ минерального остатка характеризуется низкой долей липидных (алканы, МЭЖК) и лигниновых (метоксифенолы) пиролизатов. В ТЛ ОВ окклюдированного ОВ, наоборот, наблюдается высокая доля липидных и лигниновых пиролизатов. Для ТЛ ОВ свободной фракции характерно преобладание пиролизатов лигнина (метоксифенолы) и полисахаридов (левоглюкозенон). Важно отметить, что рассматриваемая совокупность соединений выделяется при изучении качественного состава образцов почвы, что дополнительно подтверждает их диагностическую роль при оценке влияния факторов почвообразования на состав ПОВ.

Относительное содержание продуктов пиролиза представлено на рисунке 26. Наименьшее содержание пиролизатов липидов (МЭЖК и алканов) в составе ПОВ характерно для фракции минерального остатка, а для наибольшее – для органических денсиметрических фракций. При этом максимум этих компонентов наблюдается в окклюдированном ПОВ (ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6–2,0), что объясняется защитной ролью окклюзии внутри агрегатов. Содержание метоксифенолов закономерно уменьшается в составе ПОВ с увеличением их плотности.

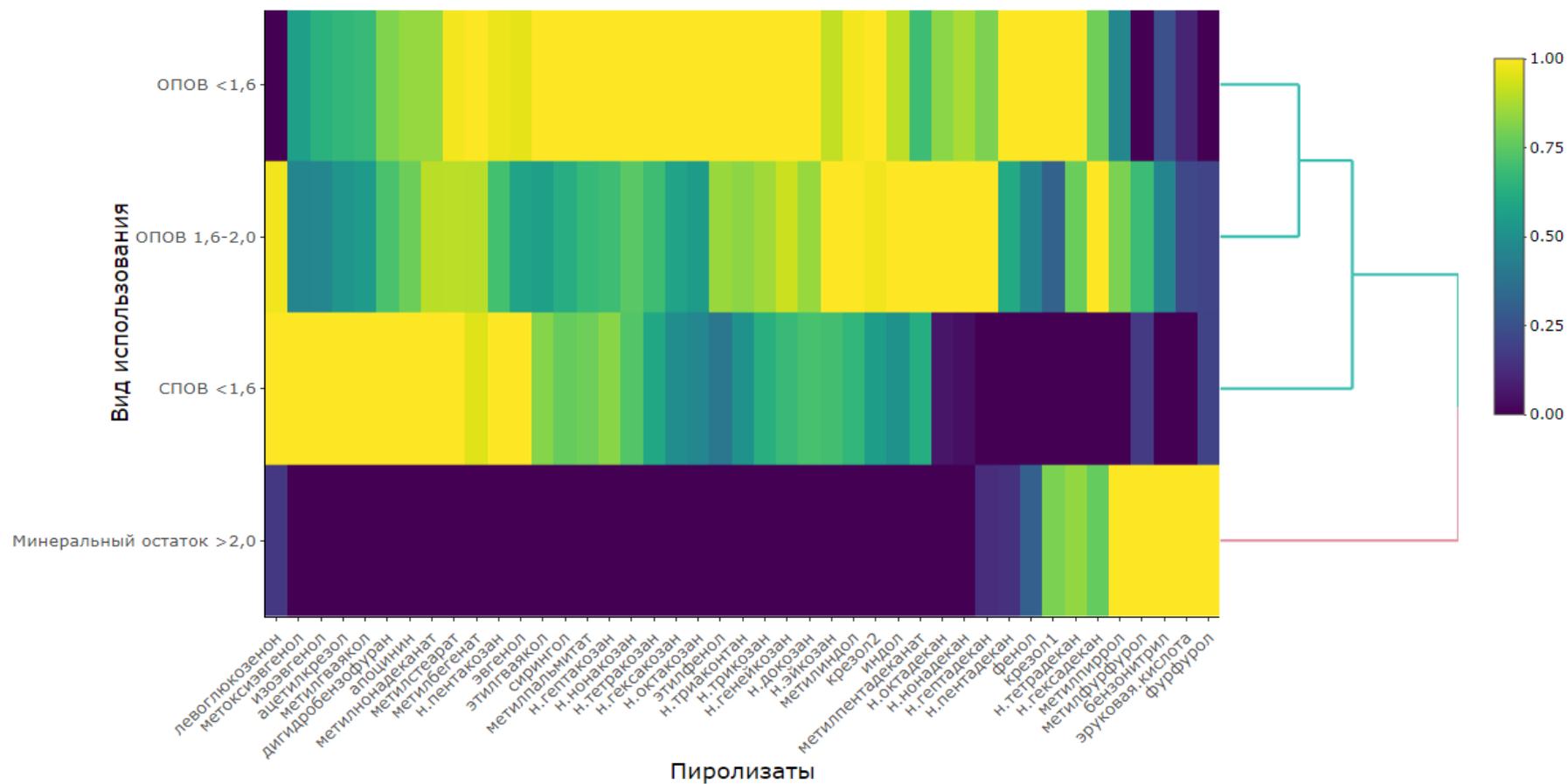


Рисунок 25 – Тепловая карта относительного содержания пиролизатов ТЛ ОВ денсиметрических фракций черноземов различного вида использования

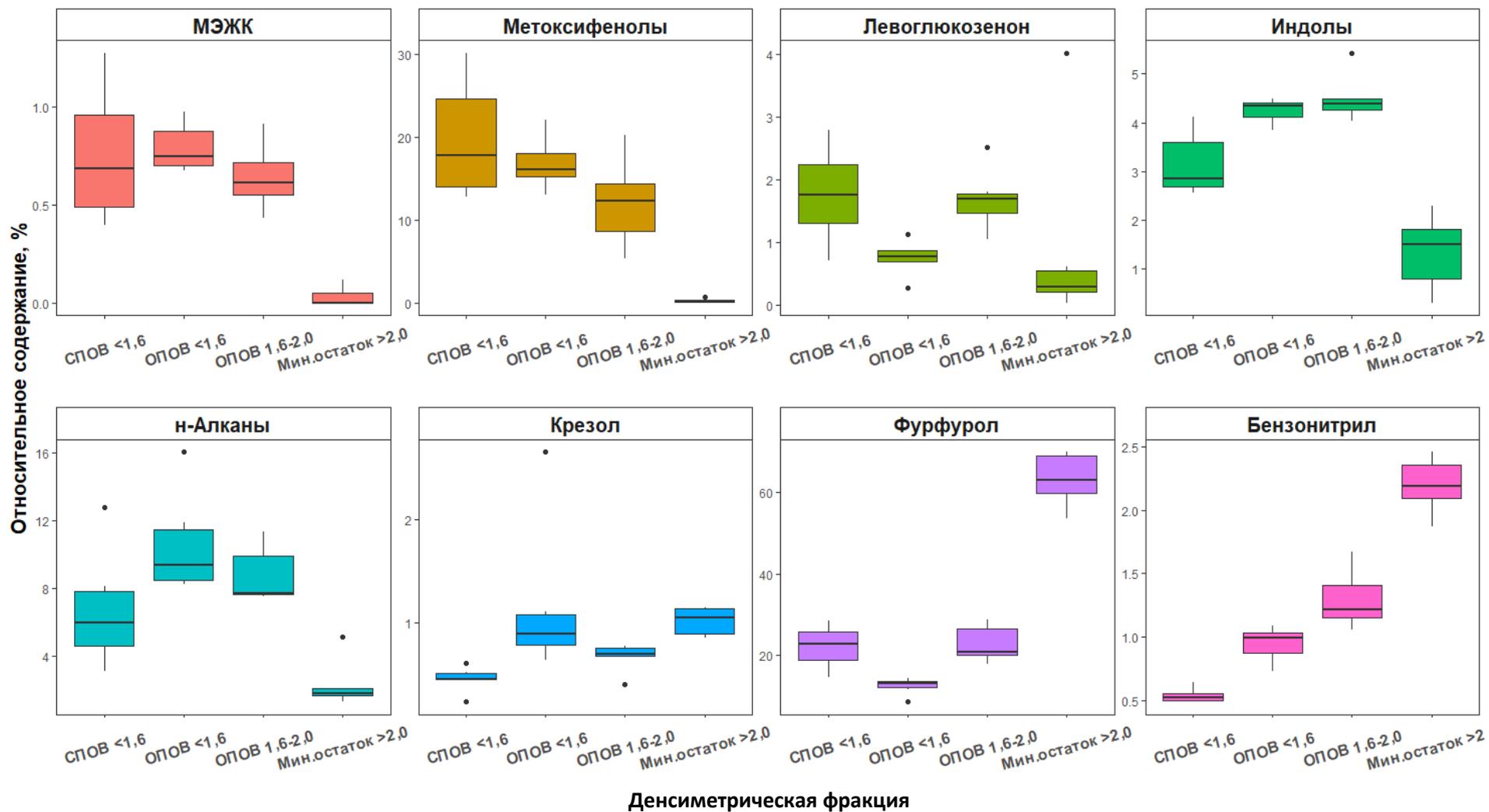


Рисунок 26 – Относительное содержание ($n = 6$, медиана, нижний и верхний квартили, минимальное и максимальное значение выборки и выбросы) пиролизатов ТЛ ОВ в денсиметрических фракциях типичных черноземах различного вида использования

В наименее разложенных фракциях СПОВ <1,6 и ОПОВ <1,6 содержится одинаковая доля метоксифенолов. При этом содержание крезола в составе ПОВ денсиметрических фракций растет с увеличением их плотности, что частично объясняется степенью разложенности органического материала. Это хорошо прослеживается на примере содержания крезола в СПОВ <1,6 и фракции минерального остатка. Ранее на основе результатов о содержании крезола в образцах черноземов разного вида использования было показано, что содержания крезола связано со степенью деградации черноземов. Однако по содержанию этого пиролизата в ПОВ денсиметрических фракциях данный вывод подтверждается только частично, т. к. в окклюдированных фракциях содержание крезола выше, чем в свободном ПОВ.

Максимальное содержание основного пиролизата слаборазложенных углеводов – левоглюкозенона – характерно для фракции СПОВ <1,6, минимальное - для ПОВ фракции минерального остатка; содержание этого пиролизата в ПОВ окклюдированных фракциях носит промежуточный характер. Общие тенденции содержания левоглюкозенона в денсиметрических фракциях указывают на связь степени разложения ПОВ и содержания этого соединения. В то же время его содержание в окклюдированных фракциях не вписывается в общую закономерность. Вероятно, это связано с процессами адсорбции полисахаридных остатков на поверхности минеральной матрицы, формирующих фракцию ОПОВ 1,6–2,0. Максимальное содержание пиролизата сильноразложенных углеводов – фурфурола – характерно для ПОВ минерального остатка, минимальное для фракции ОПОВ <1,6. В целом среди пиролизатов окклюдированного ПОВ фурфурола меньше, чем во фракции СПОВ <1,6, что связано с защитным влиянием окклюзии.

Высокое содержание индолов, которое определяется присутствием азотсодержащих соединений (белки и аминокислоты) слаборазложенного ПОВ, наблюдается в органических денсиметрических фракциях, низкое – во

фракции минерального остатка. На примере содержания индолов в окклюдированных фракциях дополнительно подтверждается защитная роль окклюзии ОВ. Содержание пиролизата сильноразложенных азотсодержащих веществ возрастает в составе ОВ денсиметрических фракций в ряду: СПОВ <1,6 – ОПОВ <1,6 – ОПОВ 1,6–2,0 – минеральный остаток >2,0, что также объясняется степенью трансформации ПОВ и условиями его формирования.

Важно отметить различное распределение содержания исследуемых пиролизатов в окклюдированных фракциях (ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6-2,0): относительное содержание МЭЖК, метоксифенолов, алканов и крезола выше в ОПОВ <1,6, а левоглюкозенона, индолов, фурфурола, бензонитрила в ОПОВ 1,6-2,0. Данный факт, вероятно, связан с особенностями органоминерального взаимодействия и процесса фракционирования ПОВ (Chorover, Amistadi, 2001; Караванова, 2013; Wan et al., 2019). Мы предполагаем, что ОВ, поступившее в почву, активно взаимодействует с минеральной фракцией, формируя органоминеральные комплексы разной устойчивости: если ОВ полярное – комплекс более устойчивый, если слабополярное или неполярное – менее устойчивый. Это связано с тем, что неполярные молекулы способны формировать только слабые дисперсионные связи, в отличие от полярных, способность к взаимодействию которых обуславливается как дисперсионной, так и недисперсионной составляющей энергии межфазного взаимодействия (Щукин и др., 2017). Левоглюкозенон, индолы, фурфурол и бензонитрил – пиролизаты полярных соединений (углеводы, аминокислоты, аминсахара, нуклеиновые кислоты), а МЭЖК, метоксифенолы, алканы и крезолы являются пиролизатами слабополярных и неполярных соединений (липиды, лигнин). Различия в составе ОВ денсиметрических фракций, формируемые этими группами соединений, обусловлены влиянием ультразвуковой обработки в процессе фракционирования, при которой гидрофобная составляющая органоминеральных комплексов удаляется и попадает во фракцию ОПОВ <1,6.

В связи с четкой зависимостью содержания лигнинных фрагментов от плотности денсиметрической фракции, для них была проведена оценка степени разложенности. По соотношению отдельных пиролизатов лигнина (содержание сиригнола к метилгваяколу и эвгенола к изоэвгенолу) был рассчитан показатель степени трансформированности лигнина для ТЛ ОВ всех денсиметрических фракций, кроме фракции минерального остатка, т. к. среди пиролизатов ПОВ этой фракции целевых компонентов выявлено не было (рисунок 27).

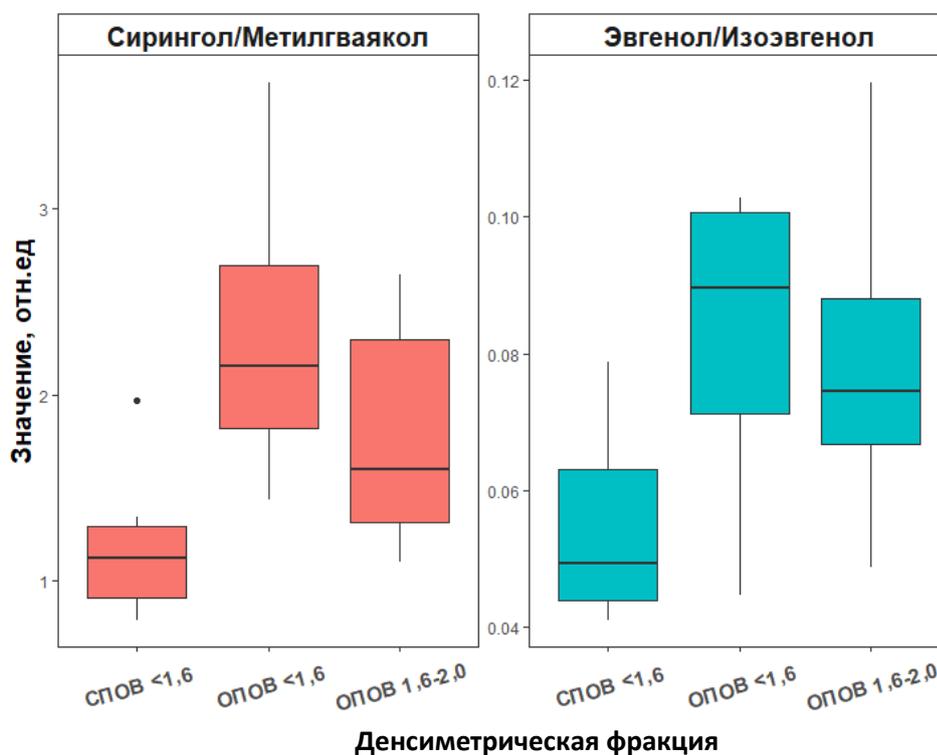


Рисунок 27 – Показатели степени разложенности лигнина по данным первой стадии пиролиза для черноземов различного вида использования (n = 6, медиана, нижний и верхний квартили, минимальное и максимальное значение выборки и выбросы)

По содержанию лигниновых фенолов в почве оценивают особенности трансформации ПОВ (Ковалева, Ковалев, 2009; Thevenot, M et al., 2010). Известно, что чем выше отношение сиригнолов к гваяколам, тем лигнин менее разложенный (Kabuyah et al., 2012). Отношение эвгенола к изоэвгенолу для характеристики степени трансформированности лигнина ранее не

использовалось, при этом оно явно повторяет распределение сириногола к метилгваяколу. На рисунке 27 видно, что наиболее разложенным является лигнин фракции СПОВ <1,6, а наименее разложенным – ОВ окклюдированных фракций, что еще раз указывает на защитную роль окклюзии.

Для выявления компонентов ТЛ ОВ — маркеров устойчивости и разложения был проведен мультикорреляционный анализ. С этой целью основные показатели трансформации ПОВ (C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) были сопоставлены с относительным содержанием пиролизатов. На рисунке 28 приведены коэффициенты корреляции этих показателей ОВ (C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) с относительным содержанием пиролизатов и групп пиролизатов. При использованном объеме выборки значимыми ($p < 0,05$) можно считать коэффициенты с абсолютными значениями > 0,41.

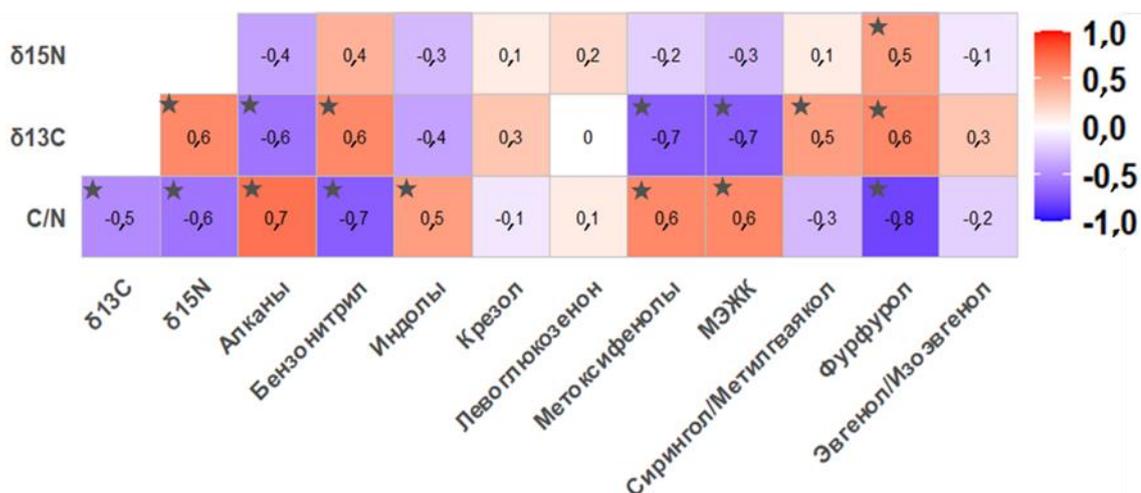


Рисунок 28. Коэффициенты корреляции Спирмена (* - отмечены значимые коэффициенты при $p < 0,05$, $n = 24$) пиролизатов ТЛ ОВ с показателями степени разложенности ПОВ (C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)

Видно, что наибольшие значения корреляции имеют показатели C/N и $\delta^{13}\text{C}$ с отдельными группами пиролизатов, связь показателя $\delta^{15}\text{N}$ с содержанием пиролизатов менее выражена. Среди всех пиролизатов наиболее тесные корреляции с C/N и $\delta^{13}\text{C}$ имеет фурфурол (0,8 и 0,6

соответственно). Среди остальных пиролизатов сильную связь со значениями C/N и $\delta^{13}\text{C}$ имеют алканы, МЭЖК, метоксифенолы, бензонитрил. Остальные пиролизаты имеют среднюю или слабую связь с показателями степени разложения ОВ.

Таким образом, содержание пиролизатов ТЛ ОВ денсиметрических фракций черноземов связано с трансформированностью ПОВ. С увеличением степени разложенности ПОВ увеличивается доля таких пиролизатов, как фурфурол и бензонитрил. Для слаборазложенного ОВ характерна высокая доля алканов, МЭЖК, метоксифенолов, левоглюкозенона и индолов. На примере содержания некоторых пиролизатов лигнина показана защитная роль процесса окклюзии ПОВ.

3.3.2. Молекулярный состав термостабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов

В ТС ОВ было идентифицировано 41 соединение (приложение Б.5.) и проведена оценка их относительного количества. Результаты анализа представлены в виде теплокарты (рисунок 29). По совокупному содержанию всех пиролизатов ПОВ денсиметрических фракций показано, что состав ПОВ минерального остатка в значительной степени отличается от всех остальных фракций. Среди органических фракций наиболее похожи между собой фракции окклюдированного ПОВ (ОПОВ <1,6) и свободного ОВ (СПОВ <1,6). Отметим, что в составе ТЛ ОВ этих фракций мы наблюдали явные отличия, в то же время состав ТС ОВ, наоборот, мало отличим. Вероятно, это связано с тем, что ТС ОВ в меньшей степени подвержено микробной трансформации чем ТЛ ОВ. Сходства и различия качественного состава ПОВ денсиметрических фракций проявляются в содержании следующих пиролизатов и групп пиролизатов: алканы, алкилбензолы, фенолы, бензол, ПАУ (флуорен, антрацен и метилнафталины), сумма бифенила и нафталина, азотсодержащие (пироллы и пиридины) и бензонитрил. Для ПОВ минерального остатка характерна высокая доля нафталина, бифенила, бензола, бензонитрила. Состав органических денсиметрических фракций

характеризуется высокой долей алканов, алкилбензолов, ПАУ и азотсодержащих соединений. Важно отметить, что тот же набор соединений выделяется при изучении состава ТС ОБ образцов почвы, что подчеркивает диагностическую роль выделенных пиролизатов.

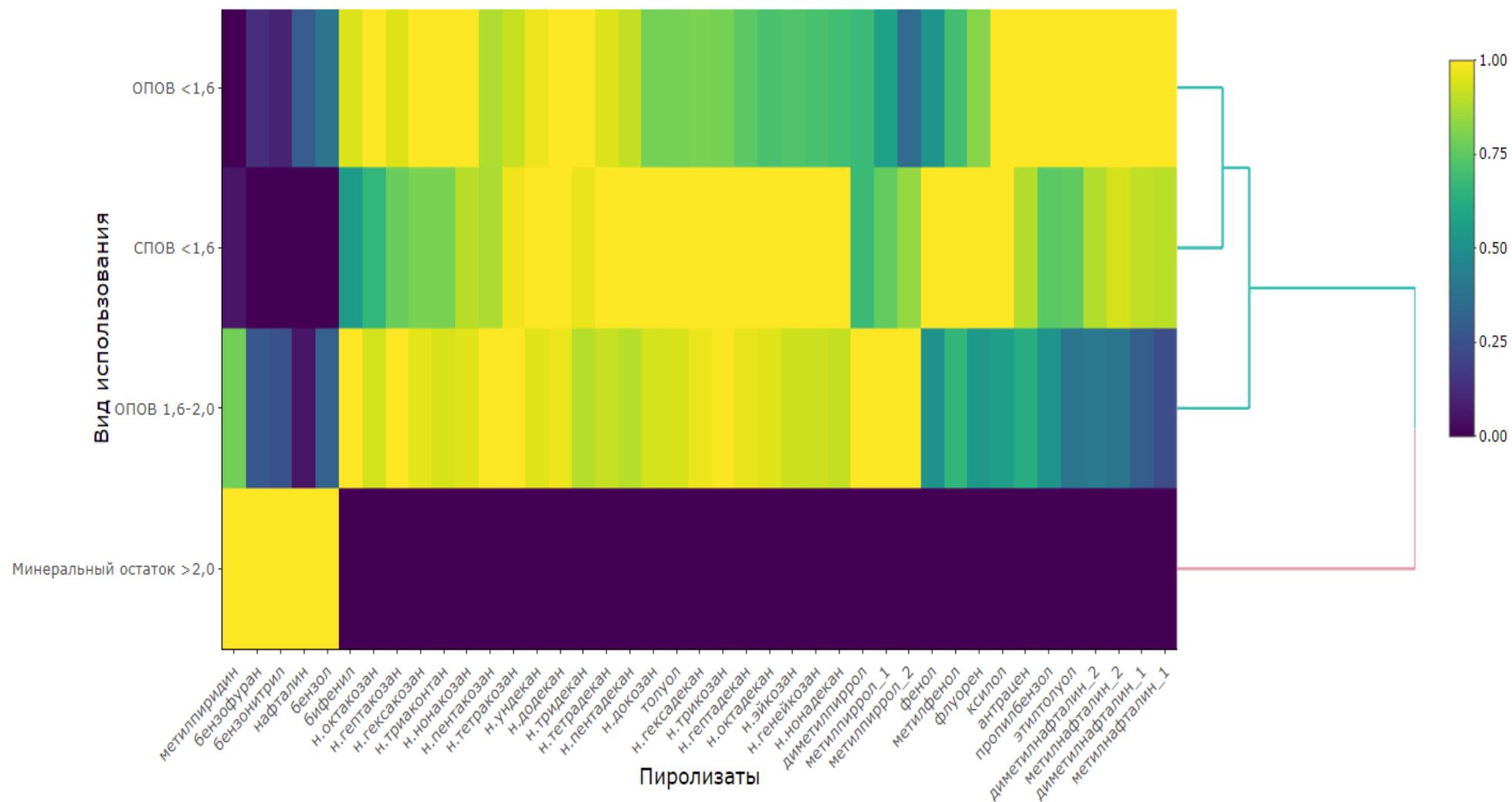


Рисунок 29 – Тепловая карта относительного содержания пиролизатов ТС ОВ денсиметрических фракций

На рисунке 30 представлено относительное содержание выделенных пиролизатов в ТС ОВ денсиметрических фракций. Доля алканов и алкилбензолов была минимальна в ПОВ фракции минерального остатка, что связано с различным вкладом почвенных липидов в состав ПОВ денсиметрических фракций (Saizjimenez, 1994).

Содержание фенолов уменьшалось в составе ПОВ с увеличением плотности денсиметрических фракций. В окклюдированных фракциях (ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6–2,0) содержание фенолов было одинаковым. Фенолы являются основными пиролизатами лигнина, поэтому их распределение связано со степенью влияния остатков лигнина на качественный состав ПОВ денсиметрических фракций.

Относительное содержание ПАУ в ТС ОВ уменьшалось с увеличением плотности денсиметрических фракций. Максимальное содержание ПАУ выявлено в ОПОВ <1,6. Распределение ПАУ среди пиролизатов денсиметрических фракций в большем количестве образуются при пиролизе растительных остатков (Shen et al., 2022). При этом эти составляющие растений, по-видимому, устойчивы до 420°C и поэтому не переходят в ТЛ ОВ, а наблюдаются исключительно в ТС фракции.

Содержание остальных пиролизатов из группы ароматических УВ – бензола и суммы нафталина и бифенила – увеличиваются в ряду СПОВ <1,6, ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6–2,0, ОВ минерального остатка >2,0 которое, вероятнее всего, связано с увеличением содержания гумифицированных фрагментов ПОВ в этом ряду денсиметрических фракций.

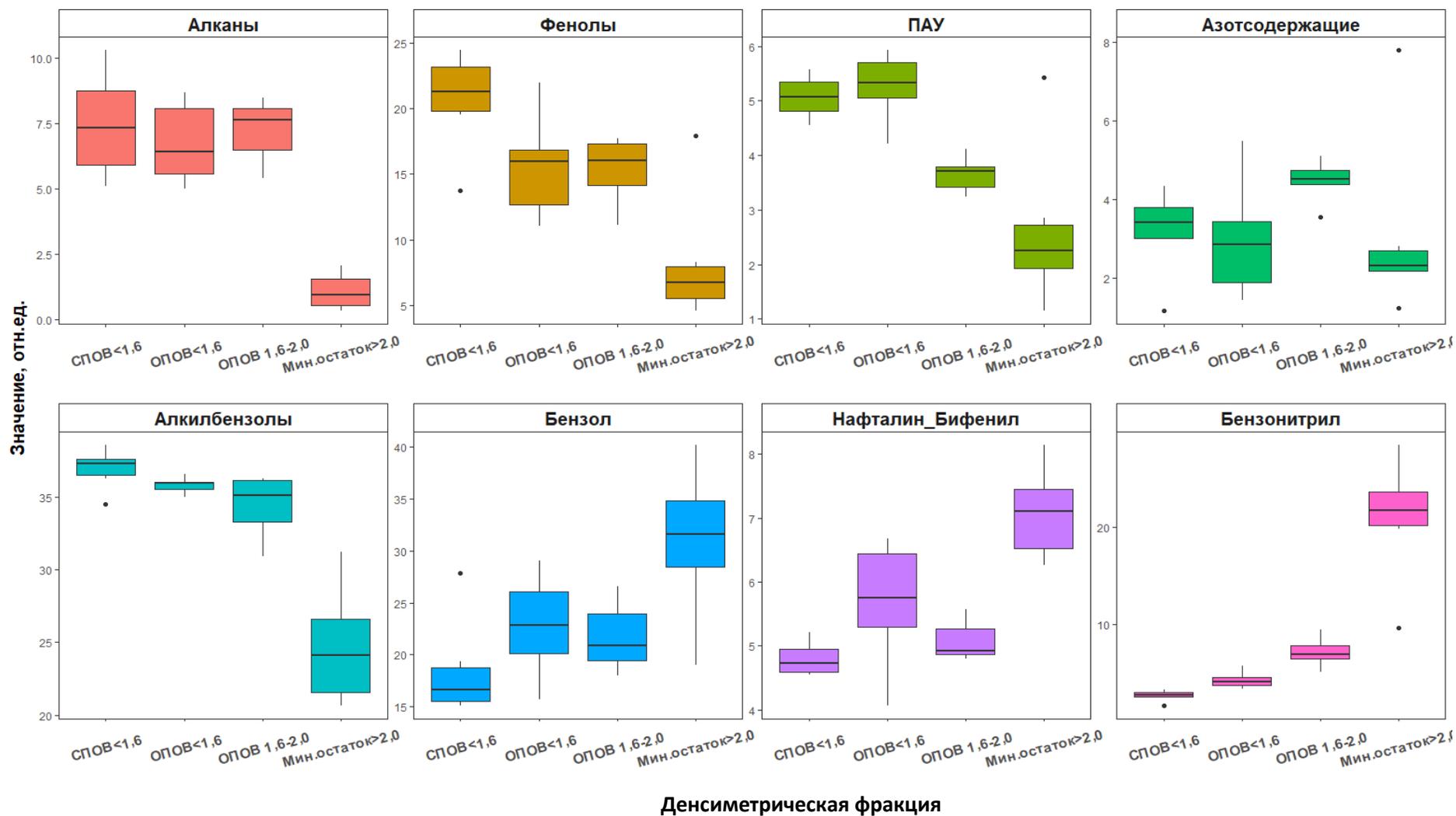


Рисунок 30 – Относительное содержание ($n = 6$, медиана, нижний и верхний квартили, минимальное и максимальное значение выборки и выбросы) пиролизатов ТС ОВ в денсиметрических фракциях типичных черноземах различного видаиспользования

Максимальное содержание азотсодержащих соединений выявлено в ОПОВ 1,6–2,0 и СПОВ <1,6, минимальное – в ОВ минерального остатка. Азотсодержащие пиролизаты образуются в результате термической деструкции белков, аминов, гетероциклических соединений, присутствующих в значительном количестве в свежем опаде, поэтому распределение этих веществ между денсиметрическими фракциями связано с влиянием слабоработленного ПОВ. Высокое содержание азотсодержащих соединений в ОПОВ 1,6–2,0 связано с процессами адсорбции этих компонентов ПОВ на минеральной матрице. Содержание бензонитрила увеличивается в ряду СПОВ <1,6, ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6–2,0, ОВ минерального остатка >2,0. Данное распределение, скорее всего, связано с содержанием гумифицированных азотсодержащих компонентов в исследуемых фракциях.

По данным содержания ТС ОВ, как и в ТЛ ОВ, заметны различия в распределении отдельных групп пиролизатов во фракциях ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6-2,0. Например, содержание бензола, суммы нафталина и бифенила выше в ОПОВ <1,6, чем в ОПОВ 1,6-2,0, а для всех азотсодержащих компонентов – наоборот. Данное явление связано с влиянием различных типов органоминеральных взаимодействий при формировании комплексов. При разложении ПОВ полярные компоненты сорбируются на поверхности минеральной матрицы, а далее, в соответствии со схемой (рисунок 24), физически сорбируются гидрофобные компоненты. В процессе УЗ обработки почвы в тяжелой жидкости гидрофобные компоненты отделяются от органоминеральных комплексов, формируя легкую фракцию. Именно с этим связано высокое содержание бензола, суммы нафталина и бифенила в ОПОВ <1,6.

На рисунке 31 представлены значения отношения бензола к толуолу, которое характеризует степень гумификации ПОВ. В соответствии с этим показателем наиболее гумифицированным является ПОВ минерального остатка, а наименее – СПОВ <1,6. Относительно высокое значение этого

показателя для ОПОВ <1,6 связано с перераспределением ПОВ в процессе фракционирования, механизм которого был рассмотрен ранее.

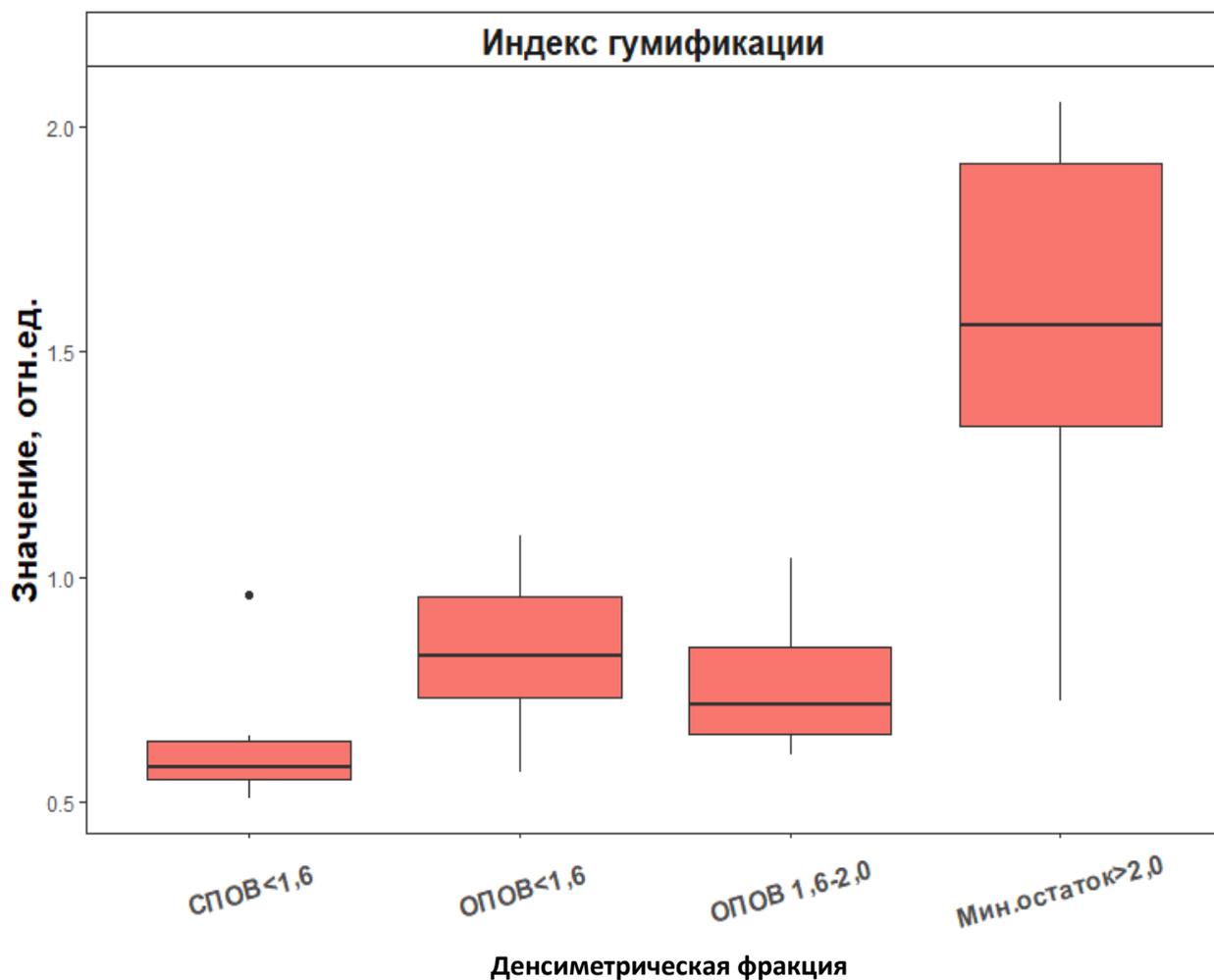


Рисунок 31 – Значение индекса гумификации (отношение содержания бензола к толуолу) ОВ денсиметрических фракций типичных черноземов по данным второй стадии пиролиза (n = 6, медиана, нижний и верхний квартили, минимальное и максимальное значение выборки и выбросы)

Для выявления взаимосвязей показателей степени разложения ПОВ (C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) и относительного содержания пиролизатов был проведен мультикорреляционный анализ этих показателей (рисунок 32). Видно, что содержание пиролизатов слабо и средне связаны со степенью разложения ПОВ. Наибольшие значения коэффициента ($r = 0,6-0,7$) корреляции имеют взаимосвязи: ПАУ – C/N, бензонитрил – C/N и $\delta^{13}\text{C}$, алканы, бензол, сумма нафталина и бифенила – $\delta^{13}\text{C}$. Связь показателя $\delta^{15}\text{N}$ с содержанием всех

изученных пиролизатов ТС ОВ денсиметрических фракций самая слабая ($r < 0,5$).

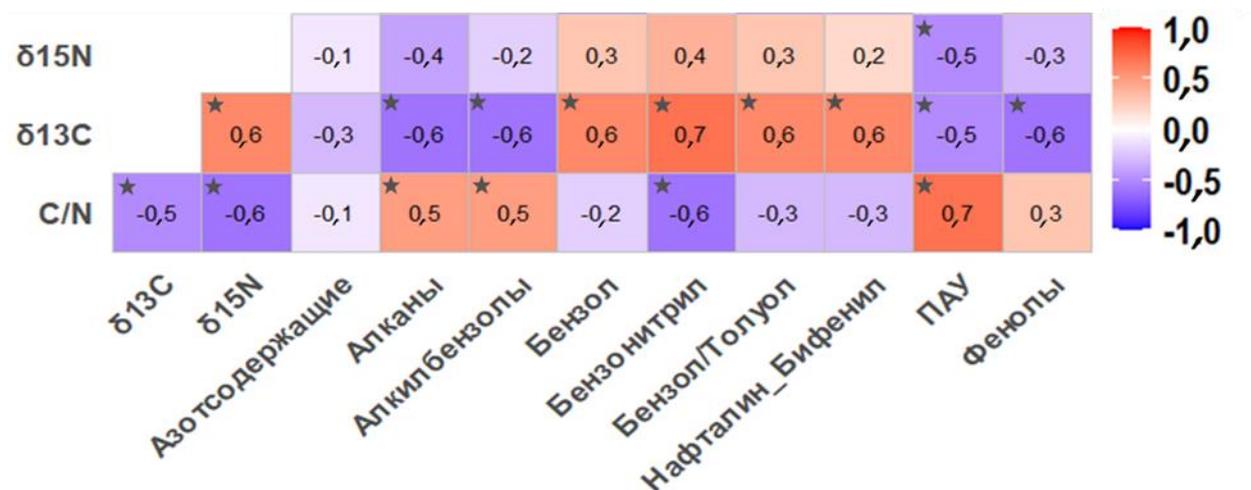


Рисунок 32 – Коэффициенты корреляции Спирмена (* - отмечены значимые коэффициенты при $p < 0,05$, $n = 24$) пиролизатов ТС ОВ с показателями степени разложенности ПОВ

Таким образом, содержание пиролизатов ТС ОВ денсиметрических фракций черноземов можно связать со степенью трансформированности ПОВ. Показателями сильно трансформированного ПОВ может служить высокая доля таких пиролизатов как бензонитрил, бензол, нафталин и бифенил. Высокое содержание алканов, алкилбензолов и фенолов, напротив, свидетельствует о низко трансформированном ПОВ. Разное содержание пиролизатов ПОВ в окклюдированных фракциях связано с особенностями взаимодействия гидрофильных и гидрофобных составляющих ПОВ с минеральной матрицей почвы. В целом, взаимосвязи между молекулярным составом ПОВ денсиметрических фракций и показателями степени его трансформированности больше выражены для термолабильной фракции, по сравнению с термостабильной. Это может косвенно указывать на связь термической лабильности органических соединений и их доступности для микробного разложения. Кроме того, вероятно, большая часть ТС ОВ уже

глубоко преобразована в сравнении с ТЛ и поэтому различия от ее локализации в денсиметрических фракциях менее выражены.

3.3.3. Молекулярный состав термолабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования.

После выделения денсиметрических фракций их состав был проанализирован методом двухстадийного пиролиза. В приложении Г.1. представлена относительная количественная оценка пиролизатов в денсиметрических фракциях в виде теплокарт с нанесением результатов кластеризации методом Варда. Результаты кластерного анализа не показали характерных отличий состава ТЛ ОВ денсиметрических фракций пахотных вариантов от непахотных, в связи с этим не удалось выделить характеристических пиролизатов и групп пиролизатов ТЛ ОВ, которые бы в явном виде указывали на влияние вспашки на структуру ТЛ ОВ денсиметрических фракций. В связи с этим, изучаемые пиролизаты были разделены «традиционным» способом на группы по происхождению: углеводы, лигнин, липиды, азотсодержащие (Приложение Б.4.).

При сравнительном анализе полученных распределений (рисунок 33) можно выделить ряд характерных особенностей состава ТЛ ОВ в зависимости от вида использования чернозема. Так, в соответствии с результатами кластерного анализа, по содержанию пиролизатов в СПОВ <1,6 выделены два кластера. В первый вошли почвы вариантов лесополоса и пар, во второй — остальных вариантов. Состав СПОВ <1,6 лесополосы и пара характеризуется относительно высоким содержанием пиролизатов лигнина, липидов и азотсодержащих соединений, при этом доля пиролизатов углеводов значительно меньше, чем в вариантах степь, залежь, севооборот, кукуруза. Наибольшая доля пиролизатов углеводов была выявлена в варианте кукуруза. Описанные закономерности можно объяснить составом опада: древесный опад содержит больше трудноразлагаемых компонентов

лигнина и липидов, чем травянистый опад (Balogun et al., 2014; Moingt et al., 2016). Высокое содержание этих компонентов, а также азотсодержащих веществ в СПОВ <1,6 варианта пар связано с их относительным накоплением в процессе интенсивной деградации свободного ПОВ. Обращает на себя внимание относительное накопление азотсодержащих веществ в почве варианта пар. Возможно это объясняется тем, что при отсутствии свежих растительных остатков большинство продуктов трансформации ПОВ имеют микробное происхождение и, как следствие, обогащены азотом, особенно это выражено в СПОВ <1,6 – незащищенной фракции. В случае варианта лесополосы обогащение азотом, вероятно, объясняется активностью лигнинразлагающей грибной микрофлоры, более выраженной в этом ценозе (Брескина et al., 2017). Также заметно увеличение компонентов углеводов в почве варианта залежь по сравнению с паром, что связано с активным поступлением травянистого опада в почву.

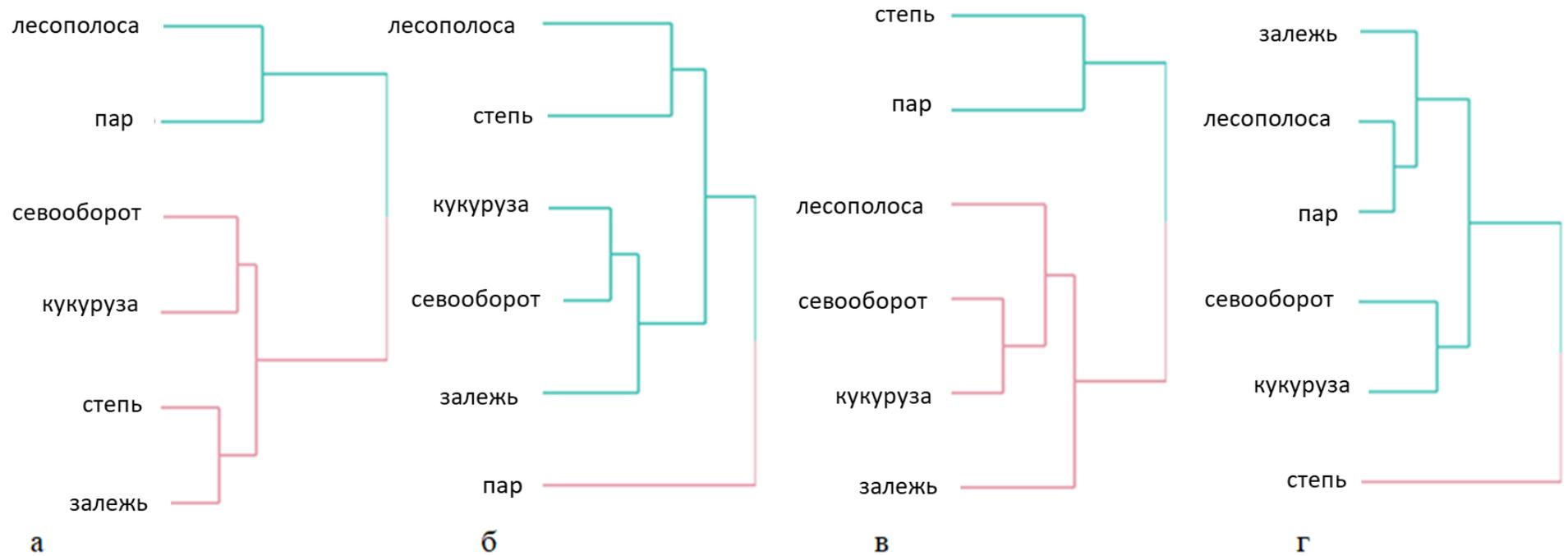


Рисунок 33 – Дендрограммы результатов кластерного анализа методом Варда типичных черноземов на основе состава ТЛ ОВ денсиметрических фракций (а - СПОВ <1,6, б - ОПОВ <1,6, в - ОПОВ 1,6–2,0, г - минеральный остаток >2,0)

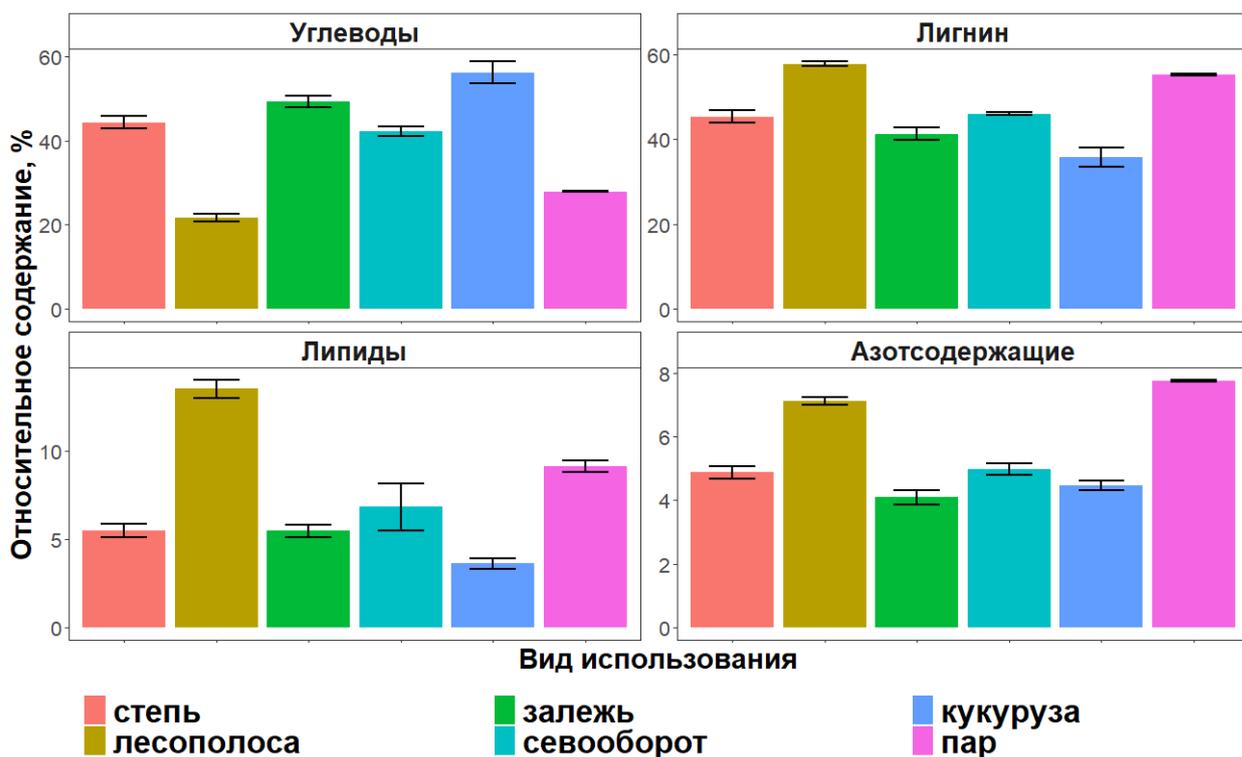


Рисунок 34 – Молекулярный состав СПОВ <1,6 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

По составу СПОВ <1,6 почва варианта пар сильно отличается от всех остальных вариантов (рисунок 33). По молекулярному составу ТЛ ОВ (рисунок 34) видно, что СПОВ <1,6 этого варианта характеризуется высоким содержанием липидов и низким содержанием углеводов, что объясняется высокой степенью трансформированности ПОВ. Высокая доля лигнина и азотсодержащих веществ в почвах непахотных вариантов (степь, лесополоса, залежь), вероятнее всего, связана с интенсивным поступлением опада, по сравнению с почвами пахотных вариантов (Gleichner et al., 1999). Состав СПОВ <1,6 почвы варианта залежь, по сравнению с паром, отличается увеличением доли углеводов, лигнина и азотсодержащих веществ, что связано с накоплением слаботрансформированного ПОВ.

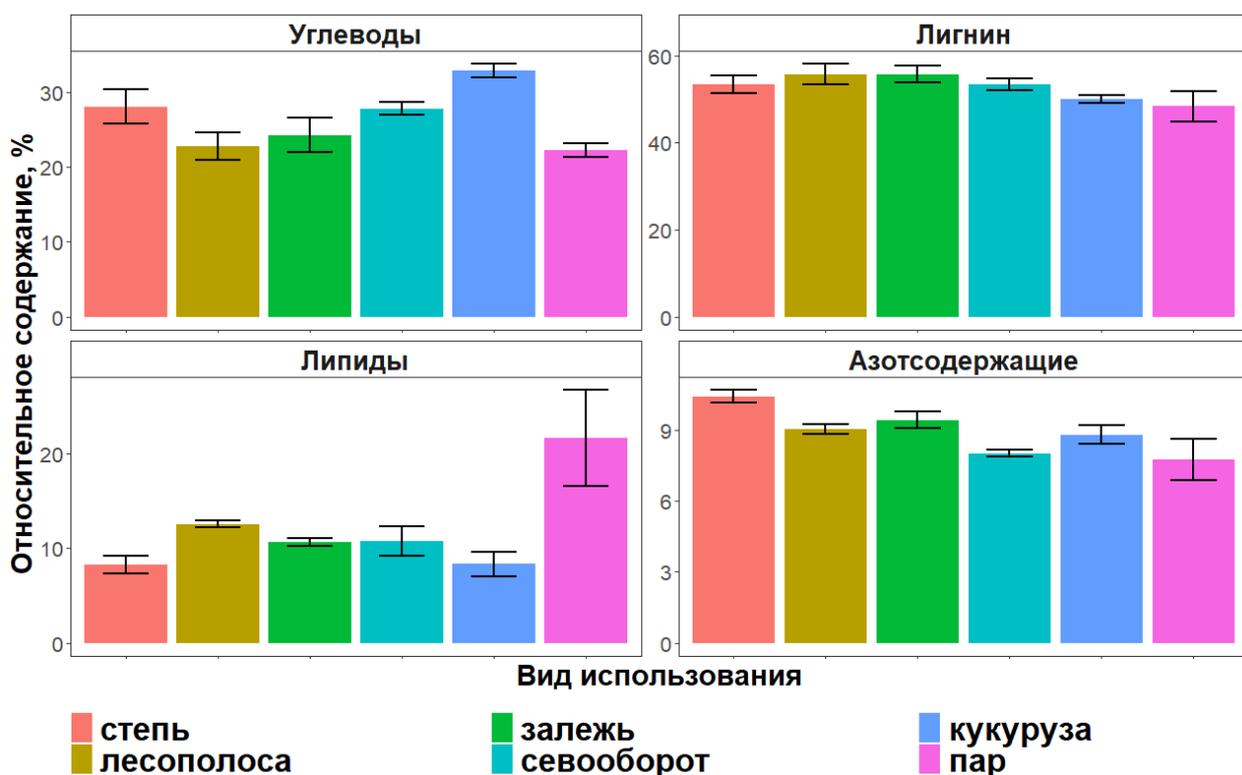


Рисунок 35 – Молекулярный состав ОПОВ <1,6 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

Состав ОПОВ 1,6–2,0 заметно отличает почвы вариантов пар и степь от остальных (рисунок 33). Для ПОВ этих почв характерна высокая доля липидов и азотсодержащих веществ. При этом видны различия в составе отдельных пиролизатов этих групп соединений, что указывает на различие состава ПОВ (рисунок 36). Для ПОВ варианта степь характерна высокая доля индолов и МЭЖК, что обусловлено поступлением растительных остатков. Для ПОВ варианта пар характерна высокая доля алканов, которые являются основными пиролизатами труднодеградируемых восков, а также метилпиролла, который является пиролизатом белков и аминокислот. Различие в относительном содержании пиролизатов липидов и азотсодержащих веществ ОПОВ 1,6–2,0 почв вариантов степь и пар связано с различным происхождением ПОВ. Для почвы пара – это трудноразлагаемое ПОВ, остатки микробного разложения, а для почвы варианта степь, наоборот, свежее, слаборазложенное ПОВ, что подтверждается результатами изотопного анализа углерода (таблица 4).

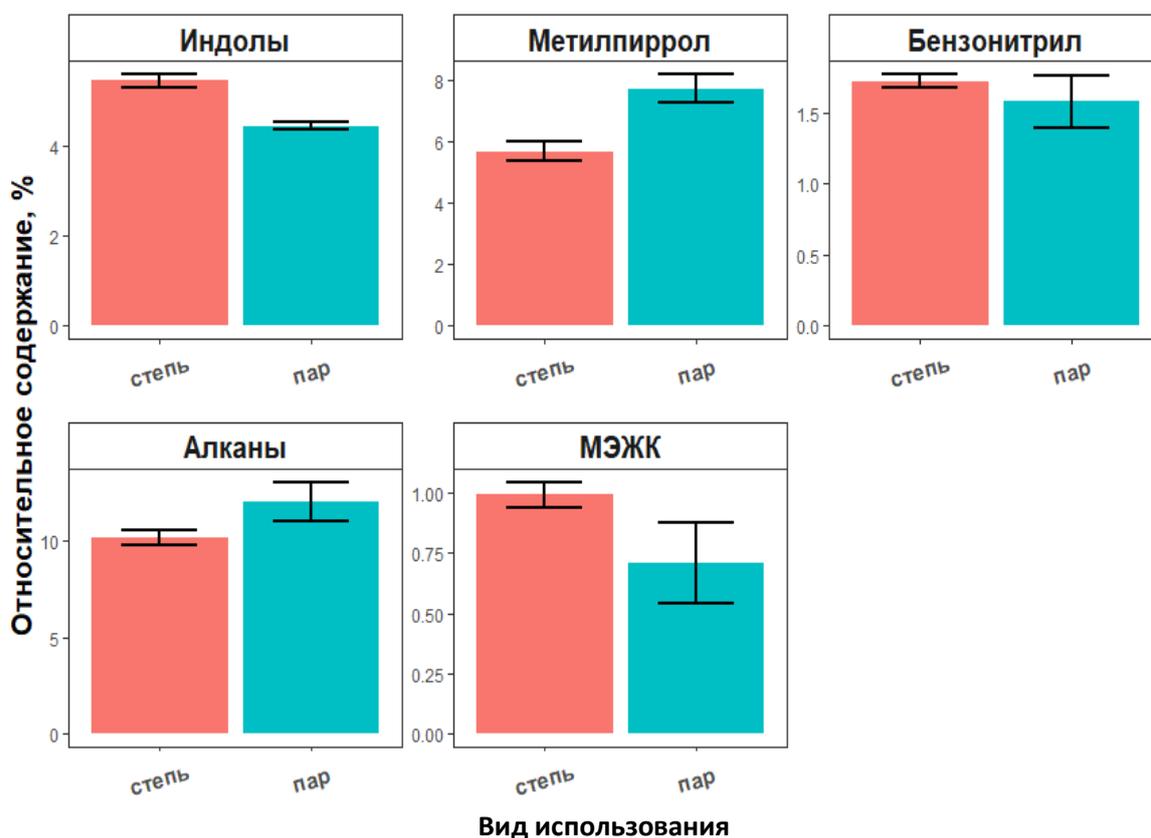


Рисунок 36 – Состав пиролизатов азотсодержащих соединений и липидов ОПОВ 1,6–2,0 типичных черноземов варианта степь и пар. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение ($n = 3$)

Содержание углеводов в ОПОВ 1,6–2,0 максимально для почв вариантов степь и залежь, что связано с травянистостью опада. Для почв пахотных вариантов и лесополосы характерна низкая доля углеводов. При этом распределение лигнина по черноземам различного использования зеркально отличается от распределения углеводов. Высокое содержание компонентов лигнина и низкое углеводов в ПОВ варианта лесополоса объясняется влиянием древесного опада (Moingt et al., 2016). Эта же закономерность для пахотных почв объясняется накоплением стойкого к минерализации лигнина в результате вспашки и ограниченного поступления растительных остатков (Berg, McClaugherty, 2003). Содержание липидных и азотсодержащих компонентов одинаково распределено по вариантам черноземов. Как было отмечено ранее, максимальная доля этих компонентов приходится на почвы вариантов пар и степь. Остальные варианты по данным показателям практически не отличаются. При сравнении молекулярного

состава ОПОВ 1,6–2,0 залежи и пара заметно увеличение доли углеводов в почве залежи, при этом содержание лигнина, липидов и азотсодержащих соединений выше в почве под паром. Это указывает, что восстановление запасов ПОВ происходит в результате формирования органоминеральных комплексов из компонентов растительных остатков (СПОВ <1,6), т. к. подобные изменения в структуре ОПОВ <1,6 выражены слабо. Закрепление углерода ТЛ ОВ идет преимущественно во фракции ОПОВ 1,6–2,0, а высокая доля углеводов в ОПОВ 1,6–2,0 почвы залежи объясняется высоким содержанием углеводов в СПОВ <1,6 почвы этого же варианта (рисунок 37).

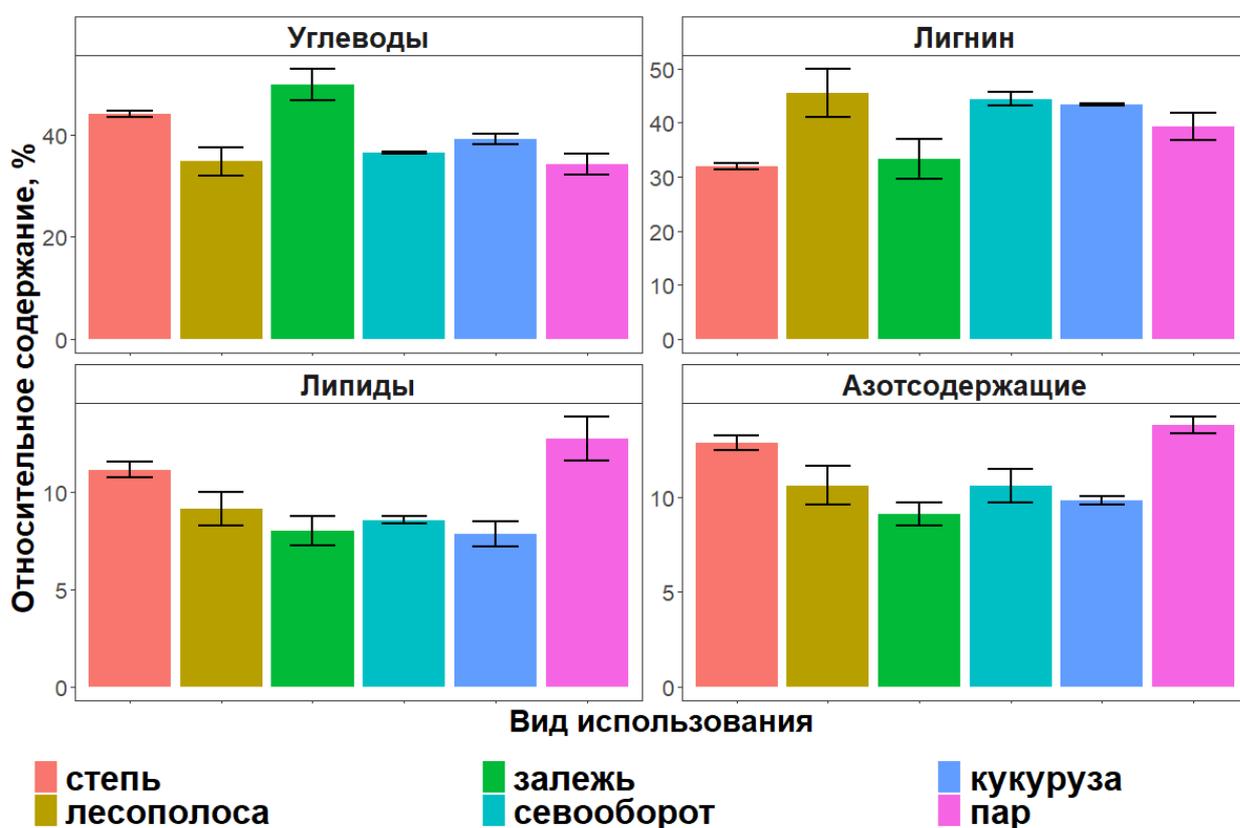


Рисунок 37 – Молекулярный состав ОПОВ 1,6–2,0 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

В соответствии с результатами кластерного анализа (рисунок 33), состав ПОВ минерального остатка варианта степь существенно отличается от остальных вариантов. Основные отличия его выражаются в высоком содержании пиролизатов липидов и азотсодержащих веществ, а также низкой доле углеводов (рисунок 38). Надо отметить, что для этой фракции

характерна максимальная степень трансформированности ПОВ среди всех остальных, поэтому на ее состав будут влиять не только состав свежего ОВ, но и различные процессы трансформации, реализуемые микробами, которые в свою очередь в качестве субстрата используют свежее ОВ. Поэтому накопление компонентов лигнина, липидов и азотсодержащих соединений в ПОВ минерального остатка почвы варианта степь предположительно связано с высокой микробной активностью этого варианта (Железова и др., 2017). Различия в составе ПОВ минерального остатка остальных вариантов слабо выражены. На уровне тенденции заметно увеличение азотсодержащих соединений в почвах пахотных вариантов (севооборот, кукуруза, пар), а также уменьшение доли лигнина, что предположительно связано с активным разложением компонентов лигнина и накоплением трудноразлагаемых азотсодержащих веществ. Для почвы варианта залежь, по сравнению с вариантом пар, характерна высокая доля лигнина в ПОВ минерального остатка, что указывает на накопление этих компонентов в процессе восстановления запасов ПОВ. В целом, невыраженные отличия закономерны для ТЛ ОВ. По своему физическому смыслу эта термическая фракция характеризует наиболее доступную для микробов часть ПОВ, в то же время минеральный остаток, наоборот, по большей части малодоступное, хорошо переработанное ПОВ.

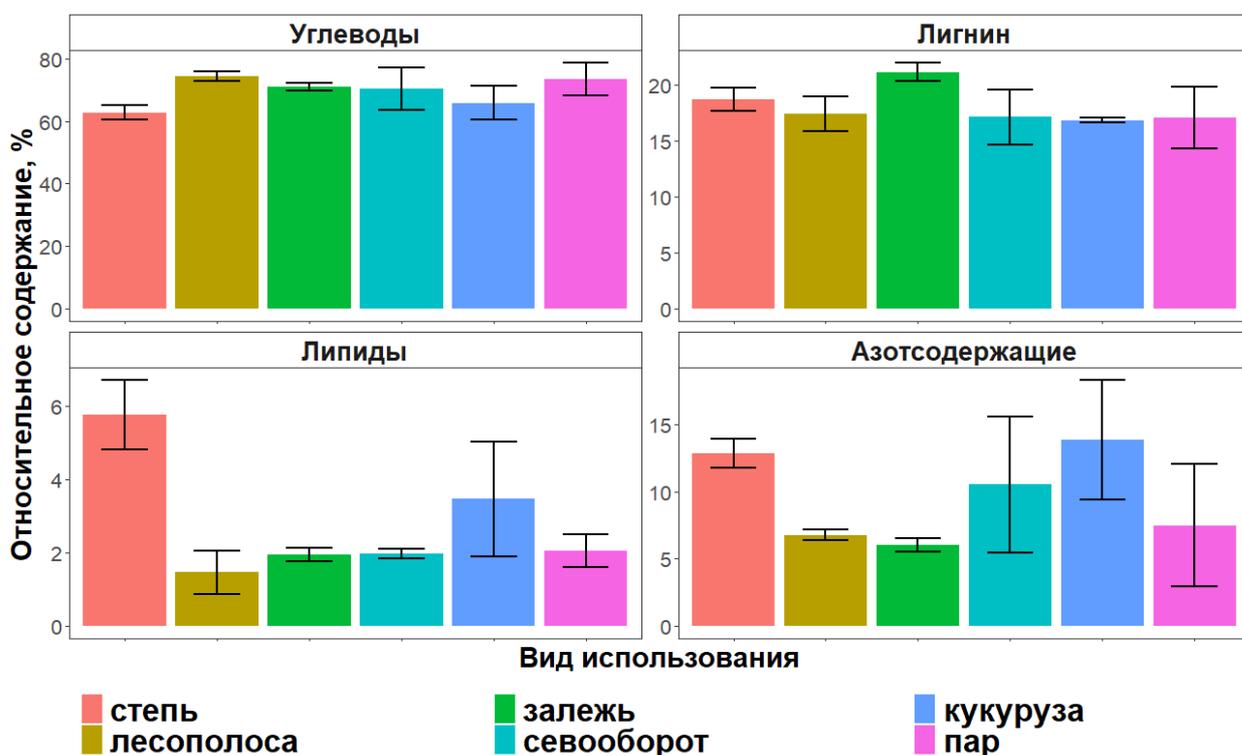


Рисунок 38 – Молекулярный состав ПОВ минерального остатка >2,0 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

Выше было показано, что отношения сирингола к метилгваяколу и эвгенола к изоэвгенолу хорошо характеризуют степень разложенности лигнина. На рисунке 39 приведены значения этих отношений. Видно, что эти показатели разделяют варианты чернозема по наличию или отсутствию обработки почвы. Наиболее явные отличия обрабатываемых от необрабатываемых почв выражены ОПОВ <1,6 и ОПОВ 1,6–2,0 по отношению сирингола к метилгваяколу. Отношение эвгенола к изоэвгенолу не позволило явно разделить черноземы по влиянию обработки, что, вероятнее всего, связано с особенностями строения растительного опада, который поступает в черноземы.

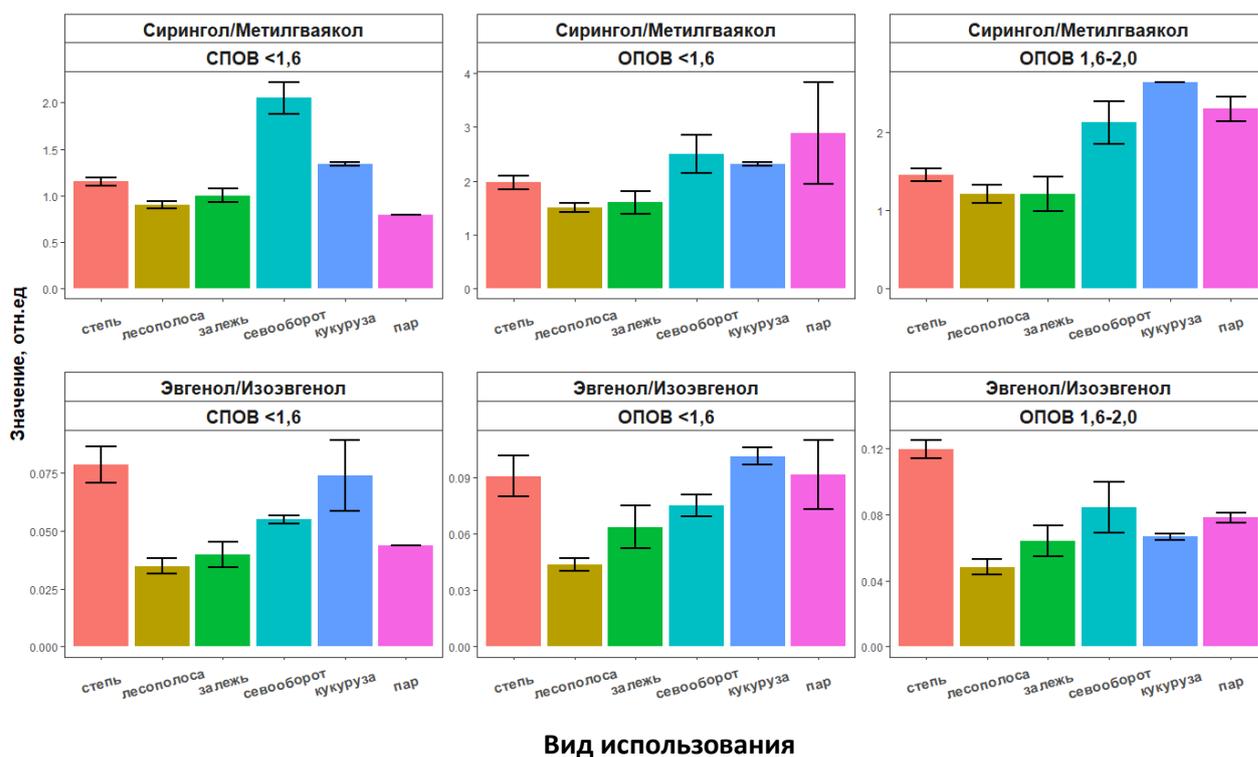


Рисунок 39 – Значения степени трансформированности лигнина в денсиметрических фракциях типичных черноземов. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение ($n = 3$)

Таким образом, по результатам изучения строения ТЛ ОВ денсиметрических фракций были показаны особенности строения, которые, в целом, характеризуют влияние молекулярного состава поступающего опада. Показана важная роль компонентов лигнина в формировании ПОВ лесополосы, а также липидов в формировании ПОВ пара. Восстановление запасов ПОВ в варианте залежь происходит в большей мере за счет накопления углеводов во фракции ОПОВ 1,6–2,0 и лигнина в ПОВ минерального остатка. По результатам первой стадии пиролиза денсиметрических фракций не удалось выделить характеристические (маркерные) пиролизаты или группы пиролизатов, что вероятнее всего связано с широким разнообразием процессов трансформации ПОВ опада в черноземах.

3.3.4. Молекулярный состав термостабильного органического вещества денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования

В приложении Г.2. представлены результаты оценки состава ТС ОВ денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования в виде теплокарты с кластеризацией объектов исследования методом Варда. В отличие от состава ТЛ ОВ денсиметрических фракций типичных черноземов, ТС ОВ позволяет разделить черноземы на пахотные и непахотные (рисунок 40). Вероятно, это связано с тем, что ТС ОВ в меньшей степени зависит от влияния свежего ОВ, состав которого сильно варьирует в зависимости от вида растительности и условий произрастания. Также отметим, что ранее выделенные показательные группы пиролизатов ТС ОВ для почвы, в целом выделяются и для ТС ОВ денсиметрических фракций.

На рисунке 41 представлено относительное содержание пиролизатов СПОВ <1,6. Повышенное содержание алканов характерно для необрабатываемых черноземов: степь, лесополоса и залежь. Обрабатываемые черноземы – севооборот, кукуруза, пар – характеризуются относительно низким содержанием алканов. Данная закономерность связана с выраженными процессами деградации почвенных липидов в процессе вспашки и низким поступлением опада. Доля фенолов, которые являются пиролизатами лигнина и других полифенольных соединений, наименьшая в СПОВ <1,6 варианта пар. Относительно высокое содержание фенолов наблюдается среди пиролизатов СПОВ <1,6 варианта степь и кукуруза. Различия в содержании алкилбензолов в СПОВ <1,6 среди черноземов не наблюдается. Максимальное содержание бензола характерно для варианта пар, что объясняется высокой степенью трансформированности ПОВ этого варианта. Содержание бензола в остальных вариантах значительно ниже по сравнению с вариантом пар. Содержание азотсодержащих веществ было минимальным в ТС ОВ варианта пар, по всем остальным вариантам они не различались. Содержание этих пиролизатов характеризует поступление

азотсодержащих веществ свежего опада. Высокое содержание бензонитрила, который характеризует сильно трансформированные азотсодержащие компоненты опада, наблюдается в ТС ОВ вариантов пар и кукуруза, по остальным вариантам различий не обнаружено. ПАУ в минимальном количестве содержится в ТС ОВ варианта пар, что связано с отсутствием поступления свежего опада. По остальным вариантам различия не выявлены. Высокое содержание суммы нафталина и бифенила характерно для ТС ОВ пахотных вариантов пар и кукуруза. Среди всех ПАУ они характеризуют сильно трансформированное ПОВ. В целом видно, что состав ТС ОВ СПОВ <1,6 отражает наличие или отсутствие поступления свежего опада. Именно поэтому не заметно четких различий (кроме содержания алканов) между пахотными черноземами, куда периодически поступают растительные остатки, и необрабатываемыми вариантами. Небольшие отличия обусловлены в первую очередь химическим составом растительных остатков. Наибольшие отличия видны в ТС ОВ СПОВ <1,6 варианта пар, куда опад не поступает.



Рисунок 40 – Дендрограммы результатов кластерного анализа методом Варда типичных черноземов на основе состава ТС ОВ денсиметрических фракций (а - СПОВ <1,6, б - ОПОВ <1,6, в - ОПОВ 1,6-2,0, г - минеральный остаток >2,0)

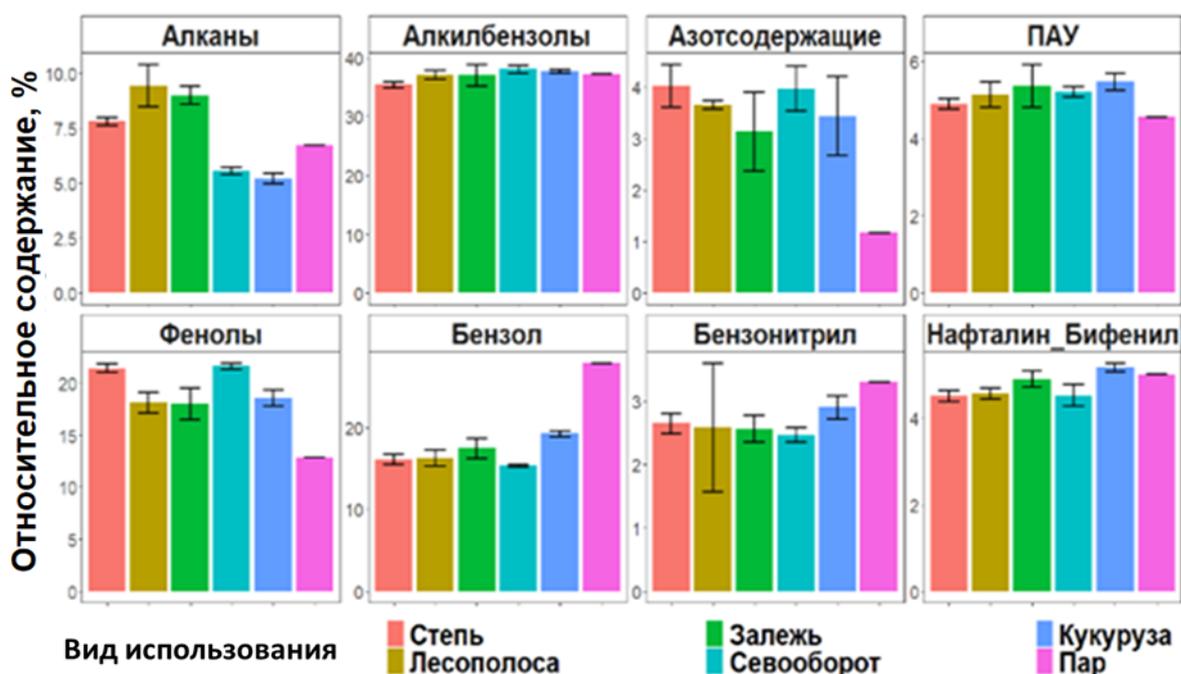


Рисунок 41 – Молекулярный состав СПОВ <math><1,6</math> черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение ($n = 3$)

Состав ТС ОВ ОПОВ <math><1,6</math> четко разделил варианты черноземов по наличию обработки (рисунок 40, 42). Высокое содержание алканов (производные липидов) и алкилбензолов характерно для непахотных вариантов степь и лесополоса. По содержанию алканов и алкилбензолов состав ТС ОВ ОПОВ <math><1,6</math> вариантов залежь и пар не различался, что напрямую связано с консервативностью фракции ОПОВ <math><1,6</math> в которой ОВ физически недоступна для микробной деструкции. Доля азотсодержащих соединений и фенолов уменьшалась в ряду почв вариантов: степь > лесополоса > залежь > севооборот > кукуруза > пар, что, вероятно, связано с увеличением доли сильно трансформированного ОВ за счет сокращения доли свежего ОВ. Напротив, содержание бензола, бензонитрила и суммы нафталина с бифенилом, которые являются показателями сильно трансформированного ПОВ, закономерно увеличивалось в ряду: степь < лесополоса < залежь \leq севооборот < кукуруза < пар. Интересно, что суммы нафталина и бифенила, а также остальные ПАУ (метилнафталины, антрацен, флуорен) ведут себя одинаково, хотя ранее, на примере пиролиза почв, эти

группы вели себя по-разному, в зависимости от наличия обработки. Вероятно, это связано с особенностями трансформации защищенного ПОВ в условиях недостатка кислорода, формирующихся внутри микроагрегатов (Puerta et al., 2019).

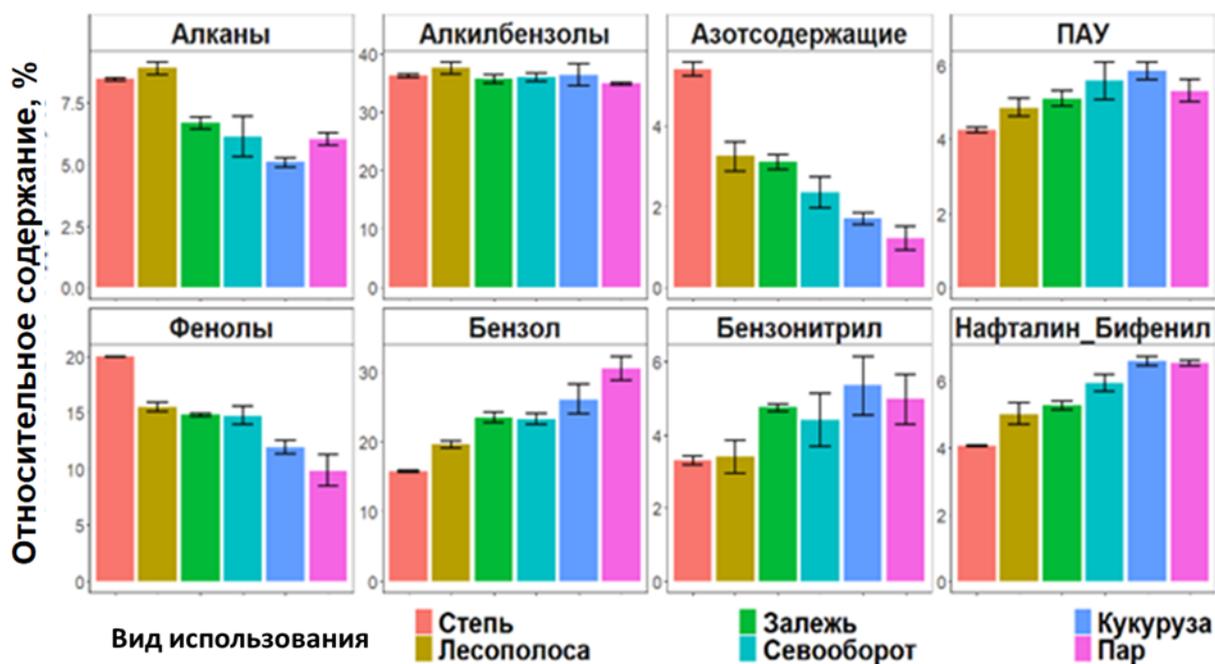


Рисунок 42 – Молекулярный состав ОПОВ <1,6 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

Молекулярный состав ОПОВ 1,6–2,0 позволяет разделить черноземы по наличию обработки почвы (рисунок 40, 43). Важную роль в разделении этих групп черноземов играют пиролизаты липидов – алканы и алкилбензолы. При этом важно отметить, что алкилбензолы и алканы изменяются по-разному, что может быть связано с тем, что они происходят из разных групп липидов. Для фенолов и ПАУ заметна тенденция к увеличению их доли в почвах непахотных вариантов (степь, лесополоса, залежь). Высокое содержание бензола и бензонитрила заметно для варианта пар, что указывает на высокую степень трансформированности ОПОВ 1,6–2,0 этого варианта. Для ПАУ и суммы нафталина и бифенила четких зависимостей от обработки не выявлено. Однако для ПОВ варианта пар заметна низкая доля ПАУ и высокая доля суммы нафталина и бифенила, что дополнительно указывает на сильную разложенность ОПОВ 1,6–2,0 этого варианта. В ОПОВ варианта

залежь, по сравнению с паром, заметно увеличение относительного содержания фенолов и алкилбензолов, что свидетельствует об изменении структуры ПОВ в процессе восстановления запасов ОВ в пользу увеличения доли липидов и фенольных соединений (полифенолы, лигнин) в структуре ОПОВ 1,6–2,0.

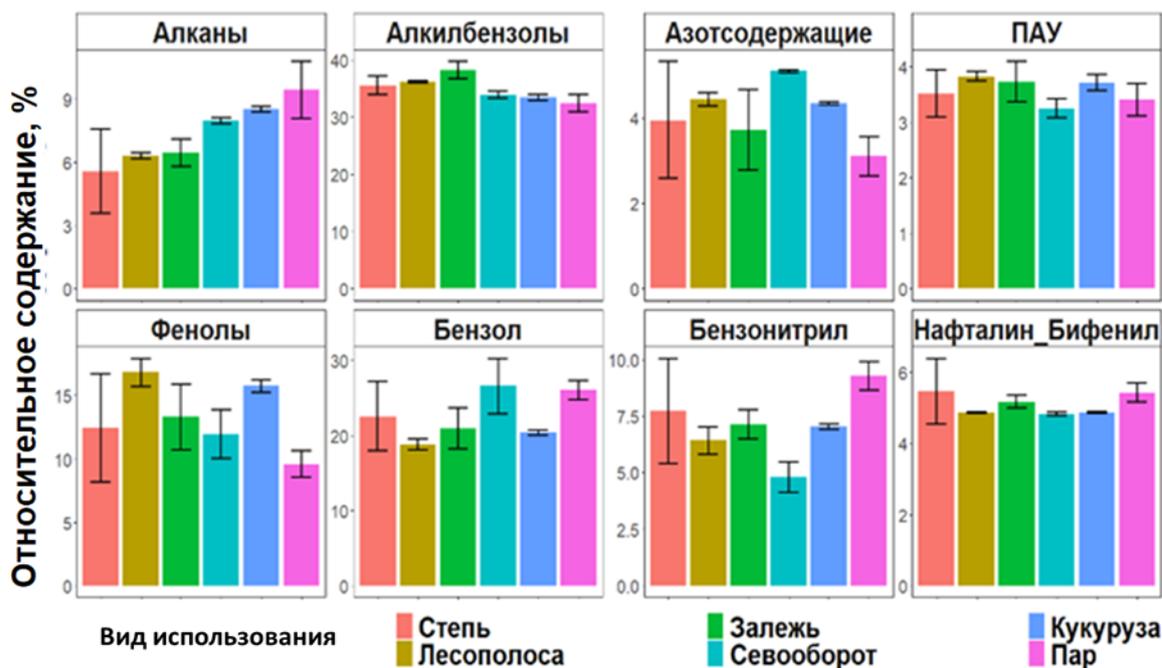


Рисунок 43 – Молекулярный состав ОПОВ 1,6–2,0 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

По результатам кластерного анализа среди исследованных фракций ОВ минерального остатка наиболее отличительный состав имеет ПОВ варианта степь (рисунок 40, 44), что проявляется в высоком содержании алканов, фенолов, алкилбензолов, азотсодержащих соединений, ПАУ. Вероятно, это указывает на высокое содержание слабогумифицированных фрагментов ПОВ в почве этого варианта. При этом в ПОВ остальных пахотных вариантов (лесополоса, залежь) доли этих пиролизатов были значительно меньше и практически не отличались от пахотных вариантов (севооборот, кукуруза, пар). Это может быть связано с тем, что почвы всех вариантов, кроме степи, когда-либо обрабатывались, что могло сказаться на составе ПОВ минерального остатка. Доля бензола закономерно выше в пахотных

вариантах, включая вариант залежь, который относительно недавно был под паром. Минимальное содержание бензонитрила выявлено в ПОВ варианта степь, максимальное в залежи, остальные варианты между собой не отличались. В рамках тенденции наблюдается снижение доли ПАУ и увеличение суммы нафталина и бифенила в ПОВ почв пахотных вариантов, что свидетельствует о высокой степени деградации ПОВ. В ПОВ залежи, по сравнению с паром, выявлено увеличение доли фенолов и ПАУ

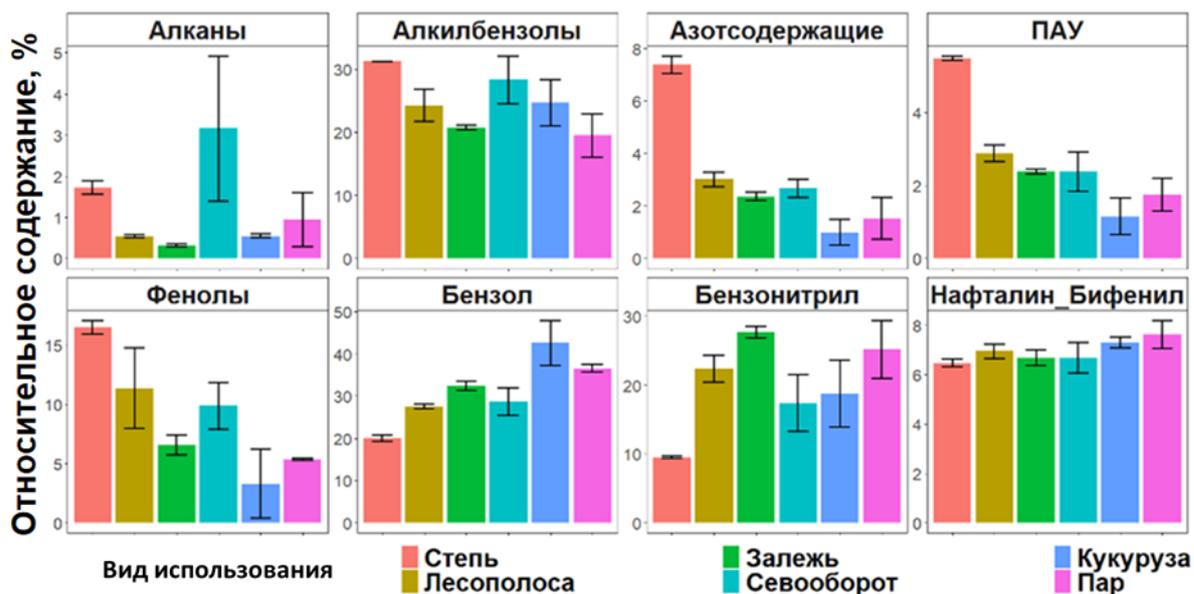


Рисунок 44 - Молекулярный состав ОВ минерального остатка >2,0 черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

Для оценки степени гумификации ПОВ денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования было рассчитано отношение бензола к толуолу (рисунок 45). По отношению бензола к толуолу в СПОВ <1,6 видно, что самое высокое значение характерно для ПОВ варианта пар, самое низкое для севооборота, индексы гумификации почв остальных вариантов не различались. Интересно отметить, что индексы гумификации ОПОВ 1,6–2,0 и СПОВ <1,6 по вариантам исследования практически одинаково изменяются по вариантам разного вида использования. Это косвенно указывает на то, что компоненты опада активно сорбируются на поверхностях минеральной матрицы, что дополнительно

подтверждает схему восстановления запасов ПОВ (рисунок 24). Индексы гумификации ОПОВ <1,6 и ОВ минерального остатка изменяются примерно одинаково, увеличиваясь в ряду: степь <лесополоса <залежь ≤севооборот <кукуруза ≤пар.

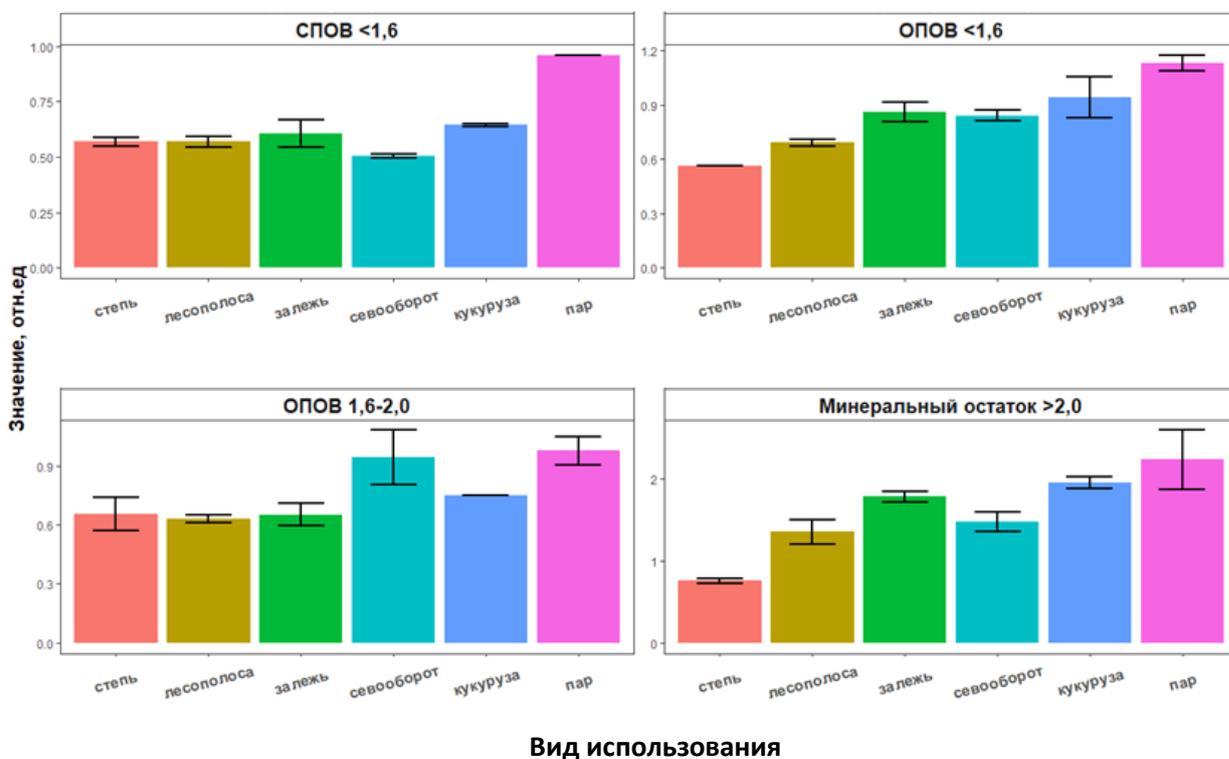


Рисунок 45 – Значения индекса гумификации ОВ денсиметрических фракциях черноземов разного вида использования. Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение (n = 3)

Таким образом, анализ результатов второй стадии пиролиза денсиметрических фракций черноземов разного вида использования позволили разделить их на пахотные и непахотные, при этом различия составов ПОВ в пределах этих выделенных групп связано с влиянием особенностей химического состава поступающего опада.

Состав ТС ОВ денсиметрических фракций черноземов, в отличие от ТЛ ОВ, в большей степени откликается на влияние обработки почвы. Наиболее разложенным ПОВ, вне зависимости от денсиметрической фракции, обладает чернозем под паром.

По результатам двухстадийного пиролиза денсиметрических фракций типичных черноземов разного использования показано определяющее влияние состава растительных остатков опада на состав всего ПОВ. Сложность выделения характерных (маркерных) пиролизатов трансформированного ПОВ, связана прежде всего с различием состава растительных остатков. Влияние обработки почвы больше отражается в ТС ОВ денсиметрических фракций, в то время как чрезвычайно высокая вариабельность ТЛ ОВ не позволяет выделить характеристические особенности ПОВ в зависимости от вида использования. Показатели степени разложения лигнина и степени гумификации, в целом, были выше в ПОВ пахотных вариантов. Восстановление запасов ПОВ в залежи после длительного парования сопровождается увеличением доли пиролизатов лигнина и полифенолов в денсиметрических фракциях.

Выводы

1. В ходе постагрогенной трансформации черноземов, в первую очередь, восстанавливаются запасы почвенного органического вещества (ПОВ), тесно связанного с минеральной матрицей (фракция минерального остатка с плотностью больше $2,0 \text{ г/см}^3$), за счет накопления компонентов лигнина.

2. Вид использования типичных черноземов влияет на состав термических фракций ПОВ. В непахотных черноземах термолабильное ПОВ характеризуется высокой долей левоглюкозенона, метоксифенолов и индолов, что указывает на большой вклад компонентов свежего опада, а термостабильное – высоким относительным содержанием компонентов, указывающих на присутствие слаборазложенного ПОВ: фенолов, алкилбензолов и азотсодержащих соединений. В пахотных черноземах в термолабильной фракции доминирует фурфурол – продукт пиролиза устойчивых к микробному разложению полисахаридных остатков, а в термостабильной возрастает относительное содержание пиролизатов глубоко

трансформированного ПОВ: бензола, бензонитрила и некоторых полиядерных ароматических углеводородов (нафталин и бифенил). Большой вклад глубоко трансформированного ПОВ в термостабильной фракции пахотных черноземов подтверждается высоким отношением бензол/толуол ($>1,2$), отвечающим степени гумификации и превышающим значения этого показателя для непахотных почв ($<1,0$).

3. В пахотных черноземах происходит накопление короткоцепочечных жирных кислот, а восстановление почвы после длительного парования приводит к увеличению содержания ненасыщенных жирных кислот, характеризующих накопление грибной биомассы. Для непахотных черноземов характерна высокая доля длинноцепочечных и разветвленных жирных кислот.

4. Вне зависимости от вида использования черноземов, в термолabileм ПОВ легких денсиметрических фракций с плотностью меньше $2,0 \text{ г/см}^3$ преобладают пиролизаты слаботрансформированных соединений растительного происхождения: алканы, метиловые эфиры жирных кислот, метоксифенолы, левоглюкозенон и индолы, а фракция минерального остатка с плотностью больше $2,0 \text{ г/см}^3$ содержит высокую долю пиролизатов, отвечающих устойчивым к микробной трансформации азотсодержащих компонентов (бензонитрил) и полисахаридных остатков (фурфурол). Наименее трансформированное ПОВ содержится в окклюзированной фракции с плотностью $<1,6 \text{ г/см}^3$.

5. Состав термостабильного ПОВ денсиметрических фракций черноземов зависит от наличия обработки почвы. В черноземе под многолетним паром во всех денсиметрических фракциях наблюдается высокая доля пиролизатов сильноразложенного ПОВ (фурфурол, бензонитрил), а в черноземе под степью – пиролизаты слаборазложенных компонентов (фенолы, алканы, алкилбензолы, полиядерные ароматические углеводороды и азотсодержащие соединения). Наиболее гумифицированное ПОВ содержится во фракции минерального остатка, что подтверждается

высокой долей ряда ароматических соединений: бензонитрил, бензол, бифенил, нафталин.

6. Оптимизированы условия проведения двухстадийного пиролиза, позволяющие надежно разделять ПОВ черноземов на термолабильную и термостабильную фракции: мобилизацию термолабильной фракции следует проводить в диапазоне температур 100–420°C при градиенте нагревания 30°C/мин, а для изучения термостабильной фракции необходимо проводить флэш-пиролиз при температуре 650°C. Установлено, что при отсутствии температурного градиента продолжительность пиролиза не влияет на результаты.

7. Установлены оптимальные условия проведения термохимического пиролиза черноземов, позволяющие определять жирнокислотный состав ПОВ: температура 300–500°C и концентрация дериватизирующего агента тетраметиламмония гидроксида (ТМАГ) 15–40 ммоль/г ОС. Время взаимодействия ТМАГ с почвой можно варьировать в диапазоне от нескольких минут до двух суток.

Список литературы

1. Аброськин Д. П., Фуентес М., Гарсиа-Мина Х. М., Кляйн О. И., Сеник С. В., Волков Д. С., Перминова И. В., Куликова Н. А. Влияние гуминовых кислот и их комплексов с железом на функциональное состояние растений, выращенных в условиях дефицита железа // Почвоведение. – 2016. – Т. 10. – С. 1167-1177.
2. Пиролитическая газовая хроматография. / Алексеева К. В.: Химия, 1985.
3. Артемьева З. С., Данченко Н. Н., Зазовская Э. П., Колягин Ю. Г., Кириллова Н. П., Когут Б. М. Изотопный состав углерода и химическая структура органического вещества типичного чернозема в условиях контрастного землепользования // Почвоведение. – 2021. – Т. 6. – С. 686-700.
4. Черноземы Среднерусской возвышенности. / Афанасьева Е. А. – Москва: Наука, 1966. – 214 с.
5. Почва и почвообразование. Почвоведение. / Белицина Г. Д., Васильевская В. Д., Гришина Л. А., Евдокимива Т. И., Зборищук Н. Г., Иванов В. В., Левин Ф. И., Николаева С. А., Розанов Б. Г., Самойлова Е. М., Тихомиров Ф. А.; Под ред. Ковда В. А., Розанов Б. Г. – Москва: Высшая школа, 1988. Почвоведение. – 400 с.
6. Брескина Г. М., Трутаева Н. Н., Чуян Н. А. Оценка биологического состояния чернозема типичного на различных видах угодий // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – Т. 5. – С. 24-28.
7. Бродский Е. С., Калинин Г. А., Лукашенко И. М., Шильников И. А., Хмельницкий Р. А. Изменение структуры органического вещества почвы при внесении минеральных удобрений и известковании // Известия ТСХА. – 1988. – Т. 6. – С. 180-183.
8. Тяжелые металлы и металлоиды в почвах. / Водяницкий Ю. Н. – М.: ГНУ Почвенный институт им. В.В. Докучаева РАСХН, 2008. – 86 с.

9. Гарбуз С. А., Ярославцева Н. В., Холодов В. А. Ферментативная активность внутри и снаружи водоустойчивых агрегатов в почвах разного вида использования // Почвоведение. – 2016. – Т. 3. – С. 398-407.
10. Органическая химия. / Грандберг И. И., Нам Н. Л. – Москва: Издательство Юрайт, 2016. – 608 с.
11. Метрология и обеспечение качества химического анализа. / Дворкин В. И. – Москва: ТЕХНОСФЕРА, 2020. – 318 с.
12. Железова А. Д., Тхакахова А. К., Ярославцева Н. В., Гарбуз С. А., Лазарев В. И., Когут Б. М., Кутовая О. В., Холодов В. А. Микробиологические показатели агрегатов типичных черноземов в многолетних полевых опытах // Почвоведение. – 2017. – Т. 6. – С. 711-717.
13. Заварзина А. Г., Данченко Н. Н., Демин В. В., Артемьева З. С., Когут Б. М. Гуминовые вещества–гипотезы и реальность (обзор) // Почвоведение. – 2021. – Т. 12. – С. 1449-1480.
14. Караванова Е. И. Водорастворимые органические вещества: фракционный состав и возможности их сорбции твердой фазой лесных почв (обзор литературы) // Почвоведение. – 2013. – Т. 8. – С. 924-936.
15. Классификация и диагностика почв СССР. Под ред. Егоров В. В. и др. – М: Колос, 1977.
16. Ковалева Н. О., Ковалев И. В. Биотрансформация лигнина в дневных и погребенных почвах горных ландшафтов // Почвоведение. – 2009. – Т. 11. – С. 1362-1373.
17. Когут Б. М., Артемьева З. С., Кириллова Н. П., Яшин М. А., Сошникова Е. И. Компонентный состав органического вещества воздушно-сухих и водоустойчивых макроагрегатов 2-1 мм типичного чернозема в условиях контрастного землепользования // Почвоведение. – 2019. – Т. 2. – С. 161-170.

18. Когут Б. М., Булкина Л. Ю. Сравнительная оценка воспроизводимости методов определения лабильных форм гумуса черноземов // Почвоведение. – 1987. – Т. 7. – С. 38–45.
19. Когут Б. М., Сысуев, С. А., & Холодов, В. А. . Водопрочность и лабильные гумусовые вещества типичного чернозема при разном землепользовании // Почвоведение. – 2012. – Т. 5. – С. 555-561.
20. Крылов В. А., Мамонтов В. Г., Лазарев В. И., Рыжков О. В. Влияние различного землепользования на элементный состав лабильных гумусовых веществ чернозема типичного Курской области // Почвоведение. – 2022. – Т. 8. – С. 981-989.
21. Физиология растений. / Кузнецов В. В., Дмитриева Г. А. – Москва: Абрис, 2012. – 784 с.
22. Динамика эффективного плодородия чернозема при его длительном сельскохозяйственном использовании. / Лазарев В. И., Айдиев, А.Ю., Золотарева, И. А., Трутаева, Н.Н. – Курск: Изд-во КГСХА, 2007.
23. Масс-спектрометрия в органической химии. / Лебедев А. Т. – Москва: Техносфера, 2015. – 704 с.
24. Макаров М. И. Изотопный состав азота в почвах и растениях: использование в экологических исследованиях (обзор) // Почвоведение. – 2009. – Т. 12. – С. 1432-1445.
25. Мамонтов В. Г., Артемьева З. С., Лазарев В. И., Родионова Л. П., Крылов В. А., Ахметзянова Р. Р. Сравнительная характеристика свойств целинного, пахотного и залежного чернозема типичного Курской области // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. – 2020. – Т. 101. – С. 182-201.
26. ГОСТ 34467-2018. ГРУНТЫ. Методы лабораторного определения содержания карбонатов. – Москва: Стандартинформ, 2019. – 10 с.
27. Милановский Е. Ю., Шеин, Е.В., Степанов, А.А. Лиофильно-лиофобные свойства органического вещества и структура почвы // Почвоведение. – 1993. – Т. 6. – С. 122-126.

28. Минкина Т. М., Мотузова, Г. В., Назаренко, О. Г. . Взаимодействие тяжелых металлов с органическим веществом чернозема обыкновенного // Почвоведение. – 2006. – Т. 7. – С. 804-811.
29. Овсепян Л. А., Курганова, И. Н., Русаков, А. В., Кузяков, Я. В. . Изменение денситометрического фракционного состава органического вещества почв лесостепной зоны в процессе постагрогенной эволюции. // Почвоведение. – 2020. – Т. 1. – С. 56-68.
30. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. / Орлов Д. С. – М: Изд-во МГУ, 1990. – 325 с.
31. Органическое вещество почв Российской федерации. / Орлов Д. С., Бирюкова О. Н., Суханова Н. И. – Москва: Наука, 1996. – 256 с.
32. Химия почв. / Орлов Д. С., Садовникова Л.К., Суханова Н.И. – М: Высш. шк., 2005. – 558 с.
33. Перминова И. В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот. дис. д-р хим. наук. – М., 2000. – 360 с.
34. Розанова М. С. Влияние органического вещества на формирование спектральной отражательной способности почв: автореф. дис. канд. биол. наук. – М., 2000. – 128 с.
35. Почвенное органическое вещество. / Семенов В. М., Когут Б. М. – Москва: ГЕОС, 2015. – 236 с.
36. Семенов В. М., Когут Б. М., Зинякова Н. Б., Масютенко Н. П., Малюкова Л. С., Лебедева Т. Н., Тулина А. С. Биологически активное органическое вещество в почвах европейской части России // Почвоведение. – 2018. – Т. 4. – С. 457-472.
37. Семенов В. М., Паутова, Н. Б., Лебедева, Т. Н., Хромьчкина, Д. П., & Семенова, Н. А. . Разложение растительных остатков и формирование активного органического вещества в почве инкубационных экспериментов. // Почвоведение. – 2019. – Т. 10. – С. 1172-1184.
38. Основы теории магнитного резонанса. / Сликтер Ч. – М.: Мир, 1981. – 448 с.

39. Смагин А. В. Современные проблемы черноземной зоны и возможные пути их решения // Экол. Вестник Сев. Кавказа. . – 2011. – Т. 7 № 4. – С. 8-24.
40. Соколов Д. А., Дмитриевская, И.И., Паутова, Н.Б., Лебедева, Т.Н., Черников, В.А., Семенов, В.М. Исследование стабильности почвенного органического вещества методами дериватографии и длительной инкубации // Почвоведение. – 2021. – Т. 4. – С. 407-419.
41. Почвенная кислотность. Кислотно-основная буферность почв. Соединения алюминия в твердой фазе почвы и в почвенном растворе. / Соколова Т. А., Толпешта И. И., Трофимов С. Я. – Тула: Гриф и К, 2012. – 124 с.
42. Старцев В. В., Мазур, А. С., Дымов, А. А. . Содержание и состав органического вещества почв Приполярного Урала // Почвоведение. – 2020. – Т. 12. – С. 1478-1488.
43. Теория и практика химического анализа почв. Под ред. Воробьева Л. А. – М.: ГЕОС, 2006. – 400 с.
44. Тихонов В. В., Якушев, А. В., Завгородняя, Ю. А., Бызов, Б. А., Демин, В. В. Действие гуминовых кислот на рост бактерий // Почвоведение. – 2010. – Т. 3. – С. 333-341.
45. Травникова Л. С., Артемьева З. С., Сорокина Н. П. Распределение гранулоденсиметрических фракций в дерново-подзолистых почвах, подверженных плоскостной эрозии // Почвоведение. – 2010. – Т. 4. – С. 495–504.
46. Тулина А. С., Семенов, В. М., Цыбулька, Н. Н., Шапшеева, Т. П., Зайцев, А. А., & Арастович, Т. В. . Роль минерализации органического вещества дерново-подзолистых и торфяно-болотных почв в накоплении ^{137}Cs растениями. // Почвоведение. – 2010. – Т. 10. – С. 1197-1207.

47. Фарходов Ю. Р., Ярославцева Н. В., Холодов В. А. Методические аспекты определения жирных кислот в почве методом термохимического пиролиза // Почвоведение. – 2021. – Т. 8. – С. 927-934.
48. Фарходов Ю. Р., Ярославцева Н. В., Яшин М. А., Хохлов С. Ф., Ильин Б. С., Лазарев В. И., Холодов В. А. Выход денсиметрических фракций из типичных черноземов разного землепользования // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2020. – Т. 103. – С. 85-107.
49. Пиролитическая масс-спектрометрия высокомолекулярных соединений. / Хмельницкий Р. А., Лукашенко И. М., Бродский Е. С. – М: Химия, 1980. – 280 с.
50. Холодов В. А. Механизмы восстановления структуры и органического вещества гумусовых горизонтов почв на разных уровнях иерархической организации: дис. д-р с.-х. наук. – М., 2020. – 240 с.
51. Холодов В. А., Константинов, А. И., Кудрявцев, А. В., Перминова, И. В. . Строение гуминовых кислот почв зонального ряда по данным спектроскопии ЯМР ¹³C // Почвоведение. – 2011. – Т. 9. – С. 1064-1073.
52. Холодов В. А., Фарходов Ю. Р., Жеребкер А. Я., Ярославцева Н. В. Оценка возможности применения аналитического двухстадийного пиролиза с хроматомасс-спектрометрией для изучения гуминовых веществ *in situ*. // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. – 2018. – Т. 94. – С. 3-18.
53. Холодов В. А., Фарходов Ю. Р., Ярославцева Н. В., Айдиев А. Ю., Лазарев В. И., Ильин Б. С., Иванов А.Л., Куликова Н. А. Термолабильное и термостабильное органическое вещество черноземов разного землепользования // Почвоведение. – 2020. – Т. 8. – С. 970-982.
54. Холодов В. А., Ярославцева Н. В., Фарходов Ю. Р., Белобров В. П., Юдин С. А., Айдиев А. Я., Лазарев В. И., Фрид А. С. Изменение соотношения фракций агрегатов в гумусовых горизонтах черноземов в

- различных условиях землепользования // Почвоведение. – 2019. – Т. 2. – С. 184-193.
55. Холодов В. А., Ярославцева, Н. В., Лазарев, В. И., Фрид, А. С. . Интерпретация данных агрегатного состава типичных черноземов разного вида использования методами кластерного анализа и главных компонент // Почвоведение. – 2016. – Т. 9. – С. 1093-1100.
56. Холодов В. А., Ярославцева, Н. В., Фарходов, Ю. Р., Яшин, М. А., Лазарев, В. И., Ильин, Б. С., Филлипова, О.А., Воликов А.Б., Иванов, А. Л. . Оптические характеристики экстрагируемых фракций органического вещества типичных черноземов в многолетних полевых опытах // Почвоведение. – 2020. – Т. 6. – С. 691-702.
57. Чуков С. Н. Исследование физико-химических параметров органического вещества почв (по данным ЭПР и ¹³С-ЯМР): дис. док. биол. наук. – Спб., 1998. – 309 с.
58. Чуков С. Н., Лодыгин, Е. Д., Абакумов, Е. В. Использование ¹³С ЯМР-спектроскопии в исследовании органического вещества почв (обзор) // Почвоведение. – 2018. – Т. 8. – С. 952-964.
59. Шаймухаметов М. Ш., Воронина К. А. Методика фракционирования органо-глинных комплексов с помощью лабораторных центрифуг // Почвоведение. – 1972. – Т. 8. – С. 134-138.
60. Антропогенная эволюция черноземов. Под ред. Щербаков А. П., Васенев И. И. – Воронеж, 2000.
61. Курс физики почв. / Шеин Е. В. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 432 с.
62. Шеин Е. В., Милановский Е. Ю. Роль и значение органического вещества в образовании и устойчивости почвенных агрегатов // Почвоведение. – 2003. – Т. 1. – С. 53-61.
63. Коллоидная химия. / Щукин Е. Д., Перцов А. В., Амелина Е. А. – М.: ЮРАЙТ, 2017. – 444 с.
64. Энциклопедия полимеров. – 1 изд. – М., 1974 – Т. 2. – С. 367.

65. Adamakis I.-D., Lazaridis P. A., Terzopoulou E., Torofias S., Valari M., Kalaitzi P., Rousonikolos V., Gkoutzikostas D., Zouboulis A., Zalidis G., Triantafyllidis K. S. Cultivation, characterization, and properties of *Chlorella vulgaris* microalgae with different lipid contents and effect on fast pyrolysis oil composition // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2018. – T. 25, № 23. – C. 23018-23032.
66. Ainsworth E. A., Long S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy // *New Phytologist*. – 2005. – T. 165, № 2. – C. 351-371.
67. Akoueson F., Chbib C., Monchy S., Paul-Pont I., Doyen P., Dehaut A., Duflos G. Identification and quantification of plastic additives using pyrolysis-GC/MS: A review // *Science of the Total Environment*. – 2021. – T. 773.
68. Allard B. A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit - Bound lipid, carbohydrate and amino acid distributions // *Geoderma*. – 2006. – T. 130, № 1-2. – C. 77-96.
69. Soil organic matter and its role in crop production. / Allison F. E. – Amsterdam: Elsevier, 1973. – 634 c.
70. Andersen S. K., White D. M. Determining soil organic matter quality under anaerobic conditions in arctic and subarctic soils // *Cold Regions Science and Technology*. – 2006. – T. 44, № 2. – C. 149-158.
71. Andretta A., Macci C., Giansoldati V., Masciandaro G., Carnicelli S. Microbial activity and organic matter composition in Mediterranean humus forms // *Geoderma*. – 2013. – T. 209. – C. 198-208.
72. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014, International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. / Anjos L., Gaistardo C., Deckers J., Dondeyne S., Eberhardt E., Gerasimova M., Harms B., Jones A., Krasilnikov P., Reinsch

- T., Vargas R., Zhang G.; Под ред. Schad P. и др. – Rome: FAO, 2015. – 203 с.
73. Bahureksa W., Tfaily M. M., Boiteau R. M., Young R. B., Logan M. N., McKenna A. M., Borch T. Soil Organic Matter Characterization by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry (FTICR MS): A Critical Review of Sample Preparation, Analysis, and Data Interpretation // *Environmental science & technology*. – 2021. – Т. 55, № 14. – С. 9637-9656.
74. Baisden W. T., Amundson R., Cook A. C., Brenner D. L. Turnover and storage of C and N in five density fractions from California annual grassland surface soils // *Global Biogeochemical Cycles*. – 2002. – Т. 16, № 4.
75. Balesdent J., Mariotti A., Boisgontier D. Effect of tillage on soil organic-carbon mineralization estimated from C-13 abundance in maize fields // *Journal of Soil Science*. – 1990. – Т. 41, № 4. – С. 587-596.
76. Balogun A. O., Lasode O. A., McDonald A. G. Thermo-Analytical and Physico-Chemical Characterization of Woody and Non-Woody Biomass from an Agro-ecological Zone in Nigeria // *Bioresources*. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 5099-5113.
77. Bandick A. K., Dick R. P. Field management effects on soil enzyme activities // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1999. – Т. 31, № 11. – С. 1471-1479.
78. Barreto M. S. C., Ramlogan M., Oliveira D. M. S., Verburg E. E. J., Elzinga E. J., Rouff A. A., Jemo M., Alleoni L. R. F. Thermal stability of soil organic carbon after long-term manure application across land uses and tillage systems in an oxisol // *Catena*. – 2021. – Т. 200.
79. Becker J. N., Dippold M. A., Hemp A., Kuzyakov Y. Ashes to ashes: Characterization of organic matter in Andosols along a 3400 m elevation transect at Mount Kilimanjaro using analytical pyrolysis // *Catena*. – 2019. – Т. 180. – С. 271-281.
80. Plant litter. / Berg B., McClaugherty C. – Berlin: Springer, 2003. – 341 с.

81. Bijaysingh, Ryden J. C., Whitehead D. C. Some relationships between denitrification potential and fractions of organic-carbon in air-dried and field-moist soils // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1988. – T. 20, № 5. – С. 737-741.
82. Bol R., Poirier N., Balesdent J., Gleixner G. Molecular turnover time of soil organic matter in particle-size fractions of an arable soil // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. – 2009. – T. 23, № 16. – С. 2551-2558.
83. Boocock D. G. B., Konar S. K., Leung A., Ly L. D. Fuels and chemicals from sewage sludge: 1. The solvent extraction and composition of a lipid from a raw sewage sludge // *Fuel*. – 1992. – T. 71, № 11. – С. 1283-1289.
84. Bracewell J. M., Robertson G. W. Quantitative comparison of the nitrogen-containing pyrolysis products and amino-acid-composition of soil humic acids // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 1984. – T. 6, № 1. – С. 19-29.
85. Bremer E., Janzen H. H., Johnston A. M. Sensitivity of total, light fraction and mineralizable organic-matter to management-practices in a lethbridge soil // *Canadian Journal of Soil Science*. – 1994. – T. 74, № 2. – С. 131-138.
86. Bustamante M. M. C., Martinelli L. A., Silva D. A., Camargo P. B., Klink C. A., Domingues T. F., Santos R. V. N-15 natural abundance in woody plants and soils of central Brazilian savannas (cerrado) // *Ecological Applications*. – 2004. – T. 14, № 4. – С. S200-S213.
87. Buurman P., Nierop K. G. J., Kaal J., Senesi N. Analytical pyrolysis and thermally assisted hydrolysis and methylation of EUROSOIL humic acid samples - A key to their source // *Geoderma*. – 2009. – T. 150, № 1-2. – С. 10-22.
88. Buurman P., Roscoe R. Different chemical composition of free light, occluded light and extractable SOM fractions in soils of Cerrado and tilled and untilled fields, Minas Gerais, Brazil: a pyrolysis-GC/MS study // *European Journal of Soil Science*. – 2011. – T. 62, № 2. – С. 253-266.

89. Buurman P., Schellekens J., Fritze H., Nierop K. G. J. Selective depletion of organic matter in mottled podzol horizons // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2007. – T. 39, № 2. – C. 607-621.
90. Ceccanti B., Alcaniz-Baldellou, J.M., Gispert-Negrell, M. and Gassiot-Matas, M. Characterization of organic matter from two different soils by pyrolysis-gas chromatography and isoelectric focusing // *Soil Science*. – 1986. – T. 142. – C. 83-90.
91. Ceccanti B., Masciandaro G., Macci C. Pyrolysis-gas chromatography to evaluate the organic matter quality of a mulched soil // *Soil & Tillage Research*. – 2007. – T. 97, № 1. – C. 71-78.
92. Celik I., Barut Z. B., Ortas I., Gok M., Demirbas A., Tulun Y., Akpinar C. Impacts of different tillage practices on some soil microbiological properties and crop yield under semi-arid Mediterranean conditions // *International Journal of Plant Production*. – 2011. – T. 5, № 3. – C. 237-254.
93. Cepáková, Frouz J. Changes in chemical composition of litter during decomposition: a review of published ¹³C NMR spectra // *Journal of soil science and plant nutrition*. – 2015. – T. 15. – C. 805-815.
94. Cerli C., Celi L., Kalbitz K., Guggenberger G., Kaiser K. Separation of light and heavy organic matter fractions in soil - Testing for proper density cut-off and dispersion level // *Geoderma*. – 2012. – T. 170. – C. 403-416.
95. Challinor J. M. The scope of pyrolysis methylation reactions // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 1991. – T. 20. – C. 15-24.
96. Chan K. Y., Roberts W. P., Heenan D. P. Organic-carbon and associated soil properties of a red earth after 10 years of rotation under different stubble and tillage practices // *Australian Journal of Soil Research*. – 1992. – T. 30, № 1. – C. 71-83.
97. Chefetz B., Hatcher P. G., Hadar Y., Chen Y. N. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste // *Journal of Environmental Quality*. – 1996. – T. 25, № 4. – C. 776-785.

98. Chen D., Li Y., Cen K., Luo M., Li H., Lu B. Pyrolysis polygeneration of poplar wood: Effect of heating rate and pyrolysis temperature // *Bioresource Technology*. – 2016. – T. 218. – C. 780-788.
99. Chorover J., Amistadi M. K. Reaction of forest floor organic matter at goethite, birnessite and smectite surfaces // *Geochimica Et Cosmochimica Acta*. – 2001. – T. 65, № 1. – C. 95-109.
100. Christensen B. T. Matching Measurable Soil Organic Matter Fractions with Conceptual Pools in Simulation Models of Carbon Turnover: Revision of Model Structure // *Evaluation of Soil Organic Matter Models / Powlson D.S. S. P., Smith J.U. .* – Berlin, Heidelberg: Springer, 1996. – C. 143-159.
101. Collard F.-X., Blin J. A review on pyrolysis of biomass constituents: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicelluloses and lignin // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2014. – T. 38. – C. 594-608.
102. Collins H. P., Elliott E. T., Paustian K., Bundy L. C., Dick W. A., Huggins D. R., Smucker A. J. M., Paul E. A. Soil carbon pools and fluxes in long-term corn belt agroecosystems // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2000. – T. 32, № 2. – C. 157-168.
103. Dai X. Y., White D., Ping C. L. Comparing bioavailability in five Arctic soils by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2002. – T. 62, № 2. – C. 249-258.
104. Dalal R. C., Mayer R. J. Long-term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in southern queensland .1. overall changes in soil properties and trends in winter cereal yields // *Australian Journal of Soil Research*. – 1986. – T. 24, № 2. – C. 265-279.
105. Danchenko N. N., Artemyeva Z. S., Kolyagin Y. G., Kogut B. M. Features of the chemical structure of different organic matter pools in Haplic Chernozem of the Streletskaya steppe: C-13 MAS NMR study // *Environmental Research*. – 2020. – T. 191.

106. de Assis C. P., Gonzalez-Perez J. A., Maria de la Rosa J., Jucksch I., Mendonca E. d. S., Gonzalez-Vila F. J. Analytical pyrolysis of humic substances from a Latosol (Typic Hapludox) under different land uses in Minas Gerais, Brazil // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2012. – T. 93. – C. 120-128.
107. De la Rosa J. M., Gonzalez-Perez J. A., Gonzalez-Vazquez R., Knicker H., Lopez-Capel E., Manning D. A. C., Gonzalez-Vila F. J. Use of pyrolysis/GC-MS combined with thermal analysis to monitor C and N changes in soil organic matter from a Mediterranean fire affected forest // *Catena*. – 2008. – T. 74, № 3. – C. 296-303.
108. De la Rosa J. M., Knicker H., Lopez-Capel E., Manning D. A. C., Gonzalez-Perez J. A., Gonzalez-Vila F. J. Direct detection of black carbon in soils by Py-GC/MS, carbon-13 NMR spectroscopy and thermogravimetric techniques // *Soil Science Society of America Journal*. – 2008. – T. 72, № 1. – C. 258-267.
109. de Oliveira C. M. B., Erich M. S., Gatiboni L. C., Ohno T. Phosphorus fractions and organic matter chemistry under different land use on Humic Cambisols in Southern Brazil // *Geoderma Regional*. – 2015. – T. 5. – C. 140-149.
110. Dell'Abate M. T., Benedetti A., Sequi P. Thermal methods of organic matter maturation monitoring during a composting process // *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. – 2000. – T. 61, № 2. – C. 389-396.
111. Derenne S., Quenea K. Analytical pyrolysis as a tool to probe soil organic matter // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2015. – T. 111. – C. 108-120.
112. Dignac M. F., Houot S., Francou C., Derenne S. Pyrolytic study of compost and waste organic matter // *Organic Geochemistry*. – 2005. – T. 36, № 7. – C. 1054-1071.
113. Dorado J., Gonzalez-Vila F. J., Zancada M. C., Almendros G., Lopez-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*. – 2003. – T. 68-9. – C. 299-314.
114. Dorodnikov M., Fangmeier A., Kuzyakov Y. Thermal stability of soil organic matter pools and their delta C-13 values after C-3-C-4 vegetation change // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2007. – T. 39, № 5. – C. 1173-1180.
115. dos Santos L. H., Loss A., Canton L., dos Santos Júnior E., Kurtz C., Brunetto G., Comin J. J. Carbón of humic substances in soil aggregates cultivated with onion under no-till and conventional tillage systems // *Idesia (Arica)*. – 2018. – T. 36, № 1. – C. 15-25.
116. Downing D. T., Greene R. S. Methylation of fatty acids by pyrolysis of their tetramethylammonium salts in the gas chromatograph // *Analytical chemistry*. – 1968. – T. 40, № 4. – C. 827-8.
117. Escudey M., Diaz P., Galindo G., Chang A. C. Differential thermogravimetric analysis of oxalate in hydrogen peroxide-treated allophanic soils // *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. – 1999. – T. 30, № 7-8. – C. 937-946.
118. Estournel-Pelardy C., Delarue F., Grasset L., Laggoun-Defarge F., Ambles A. Tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis for the analysis of cellulose and free carbohydrates in a peat bog // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2011. – T. 92, № 2. – C. 401-406.
119. European Network of Fourier-Transform Ion-Cyclotron-Resonance Mass Spectrometry Centers. // URL: <https://www.eu-fticr-ms.eu/>.
120. Fang C. M., Smith P., Moncrieff J. B., Smith J. U. Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to changes in temperature // *Nature*. – 2005. – T. 433, № 7021. – C. 57-59.
121. Farquhar G. D., Oleary M. H., Berry J. A. On the relationship between carbon isotope discrimination and the inter-cellular carbon-dioxide

- concentration in leaves // *Australian Journal of Plant Physiology*. – 1982. – T. 9, № 2. – C. 121-137.
122. Fernandez J. M., Plaza C., Polo A., Plante A. F. Use of thermal analysis techniques (TG-DSC) for the characterization of diverse organic municipal waste streams to predict biological stability prior to land application // *Waste Management*. – 2012. – T. 32, № 1. – C. 158-164.
123. Filley T. R., Nierop K. G. J., Wang Y. The contribution of polyhydroxyl aromatic compounds to tetramethylammonium hydroxide lignin-based proxies // *Organic Geochemistry*. – 2006. – T. 37, № 6. – C. 711-727.
124. 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*. – 2002. – T. 62, № 1. – C. 35-43.
125. Frank S., Havlik P., Stehfest E., van Meijl H., Witzke P., Perez-Dominguez I., van Dijk M., Doelman J. C., Fellmann T., Koopman J. F. L., Tabeau A., Valin H. Agricultural non-CO₂ emission reduction potential in the context of the 1.5 degrees C target // *Nature Climate Change*. – 2019. – T. 9, № 1. – C. 66-+.
126. Franzluebbers A. J., Haney R. L., Honeycutt C. W., Schomberg H. H., Hons F. M. Flush of carbon dioxide following rewetting of dried soil relates to active organic pools // *Soil Science Society of America Journal*. – 2000. – T. 64, № 2. – C. 613-623.
127. Garcia D., Cegarra J., Bernal M. P., Navarro A. Comparative-evaluation of methods employing alkali and sodium pyrophosphate to extract humic substances from peat // *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. – 1993. – T. 24, № 13-14. – C. 1481-1494.
128. Giannetta B., Plaza C., Vischetti C., Cotrufo M. F., Zaccone C. Distribution and thermal stability of physically and chemically protected organic matter fractions in soils across different ecosystems // *Biology and Fertility of Soils*. – 2018. – T. 54, № 5. – C. 671-681.

129. Gillespie A. W., Walley F. L., Farrell R. E., Leinweber P., Schlichting A., Eckhardt K. U., Regier T. Z., Blyth R. I. R. Profiling Rhizosphere Chemistry: Evidence from Carbon and Nitrogen K-Edge XANES and Pyrolysis-FIMS // *Soil Science Society of America Journal*. – 2009. – T. 73, № 6. – C. 2002-2012.
130. Gleixner G., Bol R., Balesdent J. Molecular insight into soil carbon turnover // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. – 1999. – T. 13, № 13. – C. 1278-1283.
131. Gleixner G., Poirier N., Bol R., Balesdent J. Molecular dynamics of organic matter in a cultivated soil // *Organic Geochemistry*. – 2002. – T. 33, № 3. – C. 357-366.
132. Gobé V., Lemée L., Amblès A. Structure elucidation of soil macromolecular lipids by preparative pyrolysis and thermochemolysis // *Organic Geochemistry*. – 2000. – T. 31, № 5. – C. 409-419.
133. Golchin A., Oades J. M., Skjemstad J. O., Clarke P. Soil-structure and carbon cycling // *Australian Journal of Soil Research*. – 1994. – T. 32, № 5. – C. 1043-1068.
134. Golchin A., Oades J. M., Skjemstad J. O., Clarke P. Study of free and occluded particulate organic-matter in soils by solid-state c-13 cp/mas nmr-spectroscopy and scanning electron-microscopy // *Australian Journal of Soil Research*. – 1994. – T. 32, № 2. – C. 285-309.
135. Gonzalez Perez M., Martin-Neto L., Saab S. C., Novotny E. H., Milori D., Bagnato V. S., Colnago L. A., Melo W. J., Knicker H. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, C-13 NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy // *Geoderma*. – 2004. – T. 118, № 3-4. – C. 181-190.
136. Granada E., Blasco J., Comellas L., Gassiot M. Pyrolysis—gas chromatographic analyses of organic matter in soils using nitrogen-selective detection // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 1991. – T. 19. – C. 193-202.

137. Grandy A. S., Neff J. C., Weintraub M. N. Carbon structure and enzyme activities in alpine and forest ecosystems // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2007. – T. 39, № 11. – C. 2701-2711.
138. Grandy A. S., Salam D. S., Wickings K., McDaniel M. D., Culman S. W., Snapp S. S. Soil respiration and litter decomposition responses to nitrogen fertilization rate in no-till corn systems // *Agriculture Ecosystems & Environment*. – 2013. – T. 179. – C. 35-40.
139. Grandy A. S., Strickland M. S., Lauber C. L., Bradford M. A., Fierer N. The influence of microbial communities, management, and soil texture on soil organic matter chemistry // *Geoderma*. – 2009. – T. 150, № 3-4. – C. 278-286.
140. Gregorich E. G., Beare M. H., McKim U. F., Skjemstad J. O. Chemical and biological characteristics of physically uncomplexed organic matter // *Soil Science Society of America Journal*. – 2006. – T. 70, № 3. – C. 975-985.
141. Gregorich E. G., Beare M. H., Stoklas U., St-Georges P. Biodegradability of soluble organic matter in maize-cropped soils // *Geoderma*. – 2003. – T. 113, № 3-4. – C. 237-252.
142. Gregorich E. G., Gillespie A. W., Beare M. H., Curtin D., Sanei H., Yanni S. F. Evaluating biodegradability of soil organic matter by its thermal stability and chemical composition // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2015. – T. 91. – C. 182-191.
143. Gregorich E. G., Kachanoski R. G., Voroney R. P. Ultrasonic dispersion of aggregates - distribution of organic-matter in size fractions // *Canadian Journal of Soil Science*. – 1988. – T. 68, № 2. – C. 395-403.
144. Griepentrog M., Schmidt M. W. I. Discrepancies in utilization of density fractionation along with ultrasonic dispersion to obtain distinct pools of soil organic matter // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2013. – T. 176, № 4. – C. 500-504.
145. Gruenewald G., Kaiser K., Jahn R., Guggenberger G. Organic matter stabilization in young calcareous soils as revealed by density fractionation

- and analysis of lignin-derived constituents // *Organic Geochemistry*. – 2006. – T. 37, № 11. – C. 1573-1589.
146. Guignard C., Lemee L., Ambles A. Lipid constituents of peat humic acids and humin. Distinction from directly extractable bitumen components using TMAH and TEAAc thermochemolysis // *Organic Geochemistry*. – 2005. – T. 36, № 2. – C. 287-297.
147. Guigue J., Harir M., Mathieu O., Lucio M., Ranjard L., Leveque J., Schmitt-Kopplin P. Ultrahigh-resolution FT-ICR mass spectrometry for molecular characterisation of pressurised hot water-extractable organic matter in soils // *Biogeochemistry*. – 2016. – T. 128, № 3. – C. 307-326.
148. Guimaraes D. V., Silva Gonzaga M. I., da Silva T. O., da Silva T. L., Dias N. d. S., Silva Matias M. I. Soil organic matter pools and carbon fractions in soil under different land uses // *Soil & Tillage Research*. – 2013. – T. 126. – C. 177-182.
149. Han M., Yi W., Wu Q., Liu Y., Hong Y., Wang D. Preparation of biodiesel from waste oils catalyzed by a Bronsted acidic ionic liquid // *Bioresource Technology*. – 2009. – T. 100, № 7. – C. 2308-2310.
150. Harman-Ware A. E., Sparks S., Addison B., Kalluri U. C. Importance of suberin biopolymer in plant function, contributions to soil organic carbon and in the production of bio-derived energy and materials // *Biotechnology for Biofuels*. – 2021. – T. 14, № 1.
151. Hartgers W. A., Damste J. S. S., Deleeuw J. W. Geochemical significance of alkylbenzene distributions in flash pyrolysates of kerogens, coals, and asphaltenes // *Geochimica Et Cosmochimica Acta*. – 1994. – T. 58, № 7. – C. 1759-1775.
152. Hayes M. H. B., Mylotte R., Swift R. S. Humin: Its Composition and Importance in Soil Organic Matter // *Advances in Agronomy*, Vol 143. – 2017. – T. 143. – C. 47-138.
153. He Y., Buch A., Szopa C., Williams A. J., Millan M., Guzman M., Freissinet C., Malespin C., Glavin D. P., Eigenbrode J. L., Coscia D., Teinturier S., Lu

- P., Cabane M., Mahaffy P. R. The search for organic compounds with TMAH thermochemolysis: From Earth analyses to space exploration experiments // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. – 2020. – T. 127.
154. Helfrich M., Flessa H., Dreves A., Ludwig B. Is thermal oxidation at different temperatures suitable to isolate soil organic carbon fractions with different turnover? // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2010. – T. 173, № 1. – C. 61-66.
155. Helfrich M., Ludwig B., Buurman P., Flessa H. Effect of land use on the composition of soil organic matter in density and aggregate fractions as revealed by solid-state C-13 NMR spectroscopy // *Geoderma*. – 2006. – T. 136, № 1-2. – C. 331-341.
156. Hendriksen N. B., Creamer R. E., Stone D., Winding A. Soil exo-enzyme activities across Europe-The influence of climate, land-use and soil properties // *Applied Soil Ecology*. – 2016. – T. 97. – C. 44-48.
157. Hobbie E. A., Macko S. A., Williams M. Correlations between foliar delta N-15 and nitrogen concentrations may indicate plant-mycorrhizal interactions // *Oecologia*. – 2000. – T. 122, № 2. – C. 273-283.
158. Hsieh Y. P., Bugna G. C. Analysis of black carbon in sediments and soils using multi-element scanning thermal analysis (MESTA) // *Organic Geochemistry*. – 2008. – T. 39, № 11. – C. 1562-1571.
159. Huang Y., Eglinton G., Van der Hage E. R. E., Boon J. J., Bol R., Ineson P. Dissolved organic matter and its parent organic matter in grass upland soil horizons studied by analytical pyrolysis techniques // *European Journal of Soil Science*. – 1998. – T. 49, № 1. – C. 1-15.
160. Ikeya K., Yamamoto S., Watanabe A. Semiquantitative GC/MS analysis of thermochemolysis products of soil humic acids with various degrees of humification // *Organic Geochemistry*. – 2004. – T. 35, № 5. – C. 583-594.
161. ISO 10694:95. Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). – Geneve: ISO, 1995. – 7 c.

162. Jandl G., Leinweber P., Schulten H. R. Origin and fate of soil lipids in a Phaeozem under rye and maize monoculture in Central Germany // *Biology and Fertility of Soils*. – 2007. – T. 43, № 3. – C. 321-332.
163. Jandl G., Leinweber P., Schulten H. R., Eusterhues K. The concentrations of fatty acids in organo-mineral particle-size fractions of a Chernozem // *European Journal of Soil Science*. – 2004. – T. 55, № 3. – C. 459-469.
164. Jansen B., Nierop K. G. J., Hageman J. A., Cleef A. M., Verstraten J. M. The straight-chain lipid biomarker composition of plant species responsible for the dominant biomass production along two altitudinal transects in the Ecuadorian Andes // *Organic Geochemistry*. – 2006. – T. 37, № 11. – C. 1514-1536.
165. Jastrow J. D. Soil aggregate formation and the accrual of particulate and mineral-associated organic matter // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1996. – T. 28, № 4-5. – C. 665-676.
166. Jenkinson D. S., Rayner J. H. Turnover of soil organic-matter in some of rothamsted classical experiments // *Soil Science*. – 1977. – T. 123, № 5. – C. 298-305.
167. Jiang G., Nowakowski D. J., Bridgwater A. V. Effect of the Temperature on the Composition of Lignin Pyrolysis Products // *Energy & Fuels*. – 2010. – T. 24, № 8. – C. 4470-4475.
168. Jimenez-Gonzalez M. A., Almendros G., Waggoner D. C., Alvarez A. M., Hatcher P. G. Assessment of the molecular composition of humic acid as an indicator of soil carbon levels by ultra-high-resolution mass spectrometric analysis // *Organic Geochemistry*. – 2020. – T. 143.
169. Jimenez-Morillo N. T., Gonzalez-Perez J. A., Almendros G., De la Rosa J. M., Waggoner D. C., Jordan A., Zavala L. M., Gonzalez-Vila F. J., Hatcher P. G. Ultra-high resolution mass spectrometry of physical speciation patterns of organic matter in fire-affected soils // *Journal of Environmental Management*. – 2018. – T. 225. – C. 139-147.

170. Joergensen R. G., Wichern F. Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2008. – T. 40, № 12. – C. 2977-2991.
171. John B., Yamashita T., Ludwig B., Flessa H. Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use // *Geoderma*. – 2005. – T. 128, № 1-2. – C. 63-79.
172. Kaal J., Cortizas A. M., Nierop K. G. J. Characterisation of aged charcoal using a coil probe pyrolysis-GC/MS method optimised for black carbon // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2009. – T. 85, № 1-2. – C. 408-416.
173. Kaal J., Martinez-Cortizas A., Nierop K. G. J., Buurman P. A detailed pyrolysis-GC/MS analysis of a black carbon-rich acidic colluvial soil (Atlantic ranker) from NW Spain // *Applied Geochemistry*. – 2008. – T. 23, № 8. – C. 2395-2405.
174. Kabuyah R., van Dongen B. E., Bewsher A. D., Robinson C. H. Decomposition of lignin in wheat straw in a sand-dune grassland // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2012. – T. 45. – C. 128-131.
175. Kalbitz K., Schmerwitz J., Schwesig D., Matzner E. Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties // *Geoderma*. – 2003. – T. 113, № 3-4. – C. 273-291.
176. Katsumi N., Yonebayashi K., Okazaki M., Nishiyama S., Nishi T., Hosaka A., Watanabe C. Characterization of soil organic matter with different degrees of humification using evolved gas analysis-mass spectrometry // *Talanta*. – 2016. – T. 155. – C. 28-37.
177. Kawamoto H. Lignin pyrolysis reactions // *Journal of Wood Science*. – 2017. – T. 63, № 2. – C. 117-132.
178. Kharitonova G. V., Shein E. V., Shesterkin V. P., Yudina A. V., Dembovetsky A. V., Ostrouhov A. V., Berdnikov N. V., Yakubovskaya A. Y. The texture of Bureya bottom sediments in the area of the Nizhne-Bureiskaya HPP; Granulometricheskii sostav donnykh otlozhenii r. Burei

- raiona Nizhne-Bureiskoi GES // Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 17: Pochvovedenie. – 2017. № 1. – C. 24-34.
179. Kiersch K., Kruse J., Regier T. Z., Leinweber P. Temperature resolved alteration of soil organic matter composition during laboratory heating as revealed by C and N XANES spectroscopy and Py-FIMS // *Thermochimica Acta*. – 2012. – T. 537. – C. 36-43.
180. Kim S. W., Kaplan L. A., Benner R., Hatcher P. G. Hydrogen-deficient molecules in natural riverine water samples - evidence for the existence of black carbon in DOM // *Marine Chemistry*. – 2004. – T. 92, № 1-4. – C. 225-234.
181. Kim Y. M., Han T. U., Lee B., Watanabe A., Teramae N., Kim J. H., Park Y. K., Park H., Kim S. Analytical pyrolysis reaction characteristics of *Porphyra tenera* // *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*. – 2018. – T. 32. – C. 60-69.
182. Kogelknaber I., Ziegler F. Carbon distribution in different compartments of forest soils // *Geoderma*. – 1993. – T. 56, № 1-4. – C. 515-525.
183. Kolb K. J., Evans R. D. Implications of leaf nitrogen recycling on the nitrogen isotope composition of deciduous plant tissues // *New Phytologist*. – 2002. – T. 156, № 1. – C. 57-64.
184. Lal R. Carbon sequestration // *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. – 2008. – T. 363, № 1492. – C. 815-830.
185. Lal R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security // *Science*. – 2004. – T. 304, № 5677. – C. 1623-1627.
186. Leifeld J., Kogel-Knabner I. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land-use? // *Geoderma*. – 2005. – T. 124, № 1-2. – C. 143-155.
187. Leinweber P., Jandl G., Baum C., Eckhardt K.-U., Kandeler E. Stability and composition of soil organic matter control respiration and soil enzyme activities // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2008. – T. 40, № 6. – C. 1496-1505.

188. Leinweber P., Schulten H. R. Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 1999. – T. 49, № 1-2. – C. 359-383.
189. Leinweber P., Schulten H. R. Composition, Stability and Turnover of Soil Organic-Matter - Investigations by Off-Line Pyrolysis and Direct Pyrolysis Mass-Spectrometry // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 1995. – T. 32. – C. 91-110.
190. Leinweber P., Schulten H. R. Differential thermal-analysis, thermogravimetry and in-source pyrolysis-mass spectrometry studies on the formation of soil organic-matter // *Thermochimica Acta*. – 1992. – T. 200. – C. 151-167.
191. Leng L. J., Yang L. H., Chen J. F., Leng S. Q., Li H. L., Li H., Yuan X. Z., Zhou W. G., Huang H. J. A review on pyrolysis of protein-rich biomass: Nitrogen transformation // *Bioresource Technology*. – 2020. – T. 315.
192. Lian F., Xing B. Black Carbon (Biochar) In Water/Soil Environments: Molecular Structure, Sorption, Stability, and Potential Risk // *Environmental Science & Technology*. – 2017. – T. 51, № 23. – C. 13517-13532.
193. Lodygin E., Abakumov E. The Impact of Agricultural Use of Retisols on the Molecular Structure of Humic Substances // *Agronomy*. – 2022. – T. 12, № 1. – C. 144.
194. Lucas S. T., D'Angelo E. M., Williams M. A. Improving soil structure by promoting fungal abundance with organic soil amendments // *Applied Soil Ecology*. – 2014. – T. 75. – C. 13-23.
195. Ludwig M., Achtenhagen J., Miltner A., Eckhardt K. U., Leinweber P., Emmerling C., Thiele-Bruhn S. Microbial contribution to SOM quantity and quality in density fractions of temperate arable soils // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2015. – T. 81. – C. 311-322.
196. Madan R., Pankhurst C., Hawke B., Smith S. Use of fatty acids for identification of AM fungi and estimation of the biomass of AM spores in soil // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2002. – T. 34, № 1. – C. 125-128.

197. Maduskar S., Maliekkal V., Neurock M., Dauenhauer P. J. On the Yield of Levoglucosan from Cellulose Pyrolysis // *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*. – 2018. – T. 6, № 5. – C. 7017-7025.
198. Mahieu N., Powlson D. S., Randall E. W. Statistical analysis of published carbon-13 CPMAS NMR spectra of soil organic matter // *Soil Science Society of America Journal*. – 1999. – T. 63, № 2. – C. 307-319.
199. Mamontov V. G., Chinilin A. V., Rogova O. B., Varlamov Y. B., Panova P. Y. Chemical and mineralogical composition of different particle size fractions of typical chernozems in Kursk region; Khimicheskii i mineralogicheskii sostav fraktsii granulometricheskikh elementov chernozema tipichnogo Kurskoi oblasti // *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*. – 2018. № 6. – C. 5-16.
200. Marin-Spiotta E., Silver W. L., Swanston C. W., Ostertag R. Soil organic matter dynamics during 80 years of reforestation of tropical pastures // *Global Change Biology*. – 2009. – T. 15, № 6. – C. 1584-1597.
201. Marschner B., Kalbitz K. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils // *Geoderma*. – 2003. – T. 113, № 3-4. – C. 211-235.
202. Marschner B., Noble A. D. Chemical and biological processes leading to the neutralisation of acidity in soil incubated with litter materials // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2000. – T. 32, № 6. – C. 805-813.
203. Marshall A. G., Hendrickson C. L. Fourier transform ion cyclotron resonance detection: principles and experimental configurations // *International Journal of Mass Spectrometry*. – 2002. – T. 215, № 1-3. – C. 59-75.
204. Martel Y. A., Paul E. A. The use of radiocarbon dating of organic matter in the study of soil genesis // *Soil Science Society of America Journal*. – 1974. – T. 38. – C. 501-506.

205. Martin F., Saizjimenez C., Cert A. Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of soil humic fractions .2. high boiling-point compounds // Soil Science Society of America Journal. – 1979. – T. 43, № 2. – C. 309-312.
206. Martinez J. M., Galantini J. A., Duval M. E., Lopez F. M. Tillage effects on labile pools of soil organic nitrogen in a semi-humid climate of Argentina: A long-terin field study // Soil & Tillage Research. – 2017. – T. 169. – C. 71-80.
207. McFarren E. F., Lishka R. J., Parker J. H. Criterion for judging acceptability of analytical methods // Analytical chemistry. – 1970. – T. 42, № 3. – C. 358-65.
208. McGrath S. P., Sanders J. R., Shalaby M. H. The effects of soil organic-matter levels on soil solution concentrations and extractabilities of manganese, zinc and copper // Geoderma. – 1988. – T. 42, № 2. – C. 177-188.
209. McLauchlan K. K., Hobbie S. E. Comparison of labile soil organic matter fractionation techniques // Soil Science Society of America Journal. – 2004. – T. 68, № 5. – C. 1616-1625.
210. Mentler A., Schomakers J., Kloss S., Zechmeister-Boltenstern S., Schuller R., Mayer H. Calibration of ultrasonic power output in water, ethanol and sodium polytungstate // International Agrophysics. – 2017. – T. 31, № 4. – C. 583-588.
211. Mertz C., Kleber M., Jahn R. Soil organic matter stabilization pathways in clay sub-fractions from a time series of fertilizer deprivation // Organic Geochemistry. – 2005. – T. 36, № 9. – C. 1311-1322.
212. Mikhailova E. A., Bryant R. B., Vassenev, II, Schwager S. J., Post C. J. Cultivation effects on soil carbon and nitrogen contents at depth in the Russian Chernozem // Soil Science Society of America Journal. – 2000. – T. 64, № 2. – C. 738-745.

213. Moingt M., Lucotte M., Paquet S. Lignin biomarkers signatures of common plants and soils of Eastern Canada // *Biogeochemistry*. – 2016. – Т. 129, № 1-2. – С. 133-148.
214. *Pyrolysis of Organic Molecules: Applications to Health and Environmental Issues.* / Moldoveanu S. C. – 2 изд. – Amsterdam: Elsevier Science Bv, 2019. – 711 с.
215. Monreal C. M., Schnitzer M., Schulten H. R., Campbell C. A., Anderson D. W. Soil organic structures in macro and microaggregates of a cultivated brown chernozem // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1995. – Т. 27, № 6. – С. 845-853.
216. Monreal C. M., Sultan Y., Schnitzer M. Soil organic matter in nano-scale structures of a cultivated Black Chernozem // *Geoderma*. – 2010. – Т. 159, № 1-2. – С. 237-242.
217. Morel J. L., Habib L., Plantureux S., Guckert A. Influence of maize root mucilage on soil aggregate stability // *Plant and Soil*. – 1991. – Т. 136, № 1. – С. 111-119.
218. Motavalli P. P., Palm C. A., Parton W. J., Elliott E. T., Frey S. D. Comparison of laboratory and modeling simulation methods for estimating soil carbon pools in tropical forest soils // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1994. – Т. 26, № 8. – С. 935-944.
219. Murphy B. W. D. o. t. E. C. Soil organic matter and soil function-review of the literature and underlying data. // *Australia*. – 2014.
220. Nardi S., Pizzeghello D., Muscolo A., Vianello A. Physiological effects of humic substances on higher plants // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2002. – Т. 34, № 11. – С. 1527-1536.
221. Nichols P. C., Holman R. T. Pyrolysis of saturated triglycerides // *Lipids*. – 1972. – Т. 7, № 12. – С. 773-779.
222. Nierop K. G. J. Origin of aliphatic compounds in a forest soil // *Organic Geochemistry*. – 1998. – Т. 29, № 4. – С. 1009-1016.

223. Nierop K. G. J. Temporal and vertical organic matter differentiation along a vegetation succession as revealed by pyrolysis and thermally assisted hydrolysis and methylation // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2001. – T. 61, № 1-2. – C. 111-132.
224. Nierop K. G. J., Verstraten J. M. Organic matter formation in sandy subsurface horizons of Dutch coastal dunes in relation to soil acidification // *Organic Geochemistry*. – 2003. – T. 34, № 4. – C. 499-513.
225. Quantitative analysis by gas chromatography. / Novak J. – New York: M. Dekker, 1975. – 160 c.
226. Nowakowski D. J., Bridgwater A. V., Elliott D. C., Meier D., de Wild P. Lignin fast pyrolysis: Results from an international collaboration // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2010. – T. 88, № 1. – C. 53-72.
227. Oades J. M. An introduction to organic matter in mineral soils // *Minerals in soil environments 1* / Dixon J. B., Weed, S. B. . – USA: Soil Science Society of America, 1989. – C. 89-159.
228. Orsini S., Parlanti F., Bonaduce I. Analytical pyrolysis of proteins in samples from artistic and archaeological objects // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2017. – T. 124. – C. 643-657.
229. Pastorova I., Botto R. E., Arisz P. W., Boon J. J. Cellulose char structure - a combined analytical PY-GC-MS, FTIR, and NMR-study // *Carbohydrate Research*. – 1994. – T. 262, № 1. – C. 27-47.
230. Paul E. A., Follett R. F., Leavitt S. W., Halvorson A., Peterson G. A., Lyon D. J. Radiocarbon dating for determination of soil organic matter pool sizes and dynamics // *Soil Science Society of America Journal*. – 1997. – T. 61, № 4. – C. 1058-1067.
231. Pecha J., Sanek L., Fuerst T., Kolomaznik K. A kinetics study of the simultaneous methanolysis and hydrolysis of triglycerides // *Chemical Engineering Journal*. – 2016. – T. 288. – C. 680-688.
232. Peltre C., Fernandez J. M., Craine J. M., Plante A. F. Relationships between Biological and Thermal Indices of Soil Organic Matter Stability Differ with

- Soil Organic Carbon Level // Soil Science Society of America Journal. – 2013. – T. 77, № 6. – C. 2020-2028.
233. Pinto O., Romero R., Carrier M., Appelt J., Segura C. Fast pyrolysis of tannins from pine bark as a renewable source of catechols // Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. – 2018. – T. 136. – C. 69-76.
234. Plante A. F., Beaupre S. R., Roberts M. L., Baisden T. Distribution of radiocarbon ages in soil organic matter by thermal fractionation // Radiocarbon. – 2013. – T. 55, № 2-3. – C. 1077-1083.
235. Plante A. F., Fernandez J. M., Haddix M. L., Steinweg J. M., Conant R. T. Biological, chemical and thermal indices of soil organic matter stability in four grassland soils // Soil Biology & Biochemistry. – 2011. – T. 43, № 5. – C. 1051-1058.
236. Plante A. F., Fernandez J. M., Leifeld J. Application of thermal analysis techniques in soil science // Geoderma. – 2009. – T. 153, № 1-2. – C. 1-10.
237. Poeplau C., Don A., Six J., Kaiser M., Benbi D., Chenu C., Cotrufo M. F., Derrien D., Gioacchini P., Grand S., Gregorich E., Griepentrog M., Gunina A., Haddix M., Kuzyakov Y., Kuhnelt A., Macdonald L. M., Soong J., Trigalet S., Vermeire M. L., Rovira P., van Wesemael B., Wiesmeier M., Yeasmin S., Yevdokimov I., Nieder R. Isolating organic carbon fractions with varying turnover rates in temperate agricultural soils - A comprehensive method comparison // Soil Biology & Biochemistry. – 2018. – T. 125. – C. 10-26.
238. Poirier N., Derenne S., Rouzaud J. N., Largeau C., Mariotti A., Balesdent J., Maquet J. Chemical structure and sources of the macromolecular, resistant, organic fraction isolated from a forest soil (Lacadee, south-west France) // Organic Geochemistry. – 2000. – T. 31, № 9. – C. 813-827.
239. Puerta V. L., Pereira E. P., Huang P., Wittwer R., Six J. Soil microhabitats mediate microbial response in organic reduced tillage cropping // Applied Soil Ecology. – 2019. – T. 137. – C. 39-48.

240. Purton K., Pennock D., Leinweber P., Walley F. Will changes in climate and land use affect soil organic matter composition? Evidence from an ecotonal climosequence // *Geoderma*. – 2015. – T. 253. – C. 48-60.
241. Qiao Y. Y., Wang B., Ji Y. Y., Xu F. F., Zong P. J., Zhang J. H., Tian Y. Y. Thermal decomposition of castor oil, corn starch, soy protein, lignin, xylan, and cellulose during fast pyrolysis // *Bioresource Technology*. – 2019. – T. 278. – C. 287-295.
242. Quenea K., Derenne S., Gonzalez-Vila F. J., Gonzalez-Perez J. A., Mariotti A., Largeau C. Double-shot pyrolysis of the non-hydrolyzable organic fraction isolated from a sandy forest soil (Landes de Gascogne, South-West France) - Comparison with classical Curie point pyrolysis // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2006. – T. 76, № 1-2. – C. 271-279.
243. Quenea K., Derenne S., Largeau C., Rumpel C., Mariotti A. Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil // *Organic Geochemistry*. – 2004. – T. 35, № 11. – C. 1355-1370.
244. Quenea K., Derenne S., Largeau C., Rumpel C., Mariotti A. Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil // *Organic Geochemistry*. – 2004. – T. 35, № 11-12. – C. 1355-1370.
245. Ranalli G., Bottura G., Taddei P., Marchetti R., Sorlini C. Composting of solid and sludge residues from agricultural and food industries. Bioindicators of monitoring and compost maturity // *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*. – 2001. – T. 36, № 4. – C. 415-436.
246. Rasmussen C., Torn M. S., Southard R. J. Mineral assemblage and aggregates control carbon dynamics in a California conifer forest // *Soil Science Society of America Journal*. – 2005. – T. 69, № 6. – C. 1711-1721.

247. Raven J. A., Handley L. L., Andrews M. Global aspects of C/N interactions determining plant-environment interactions // *Journal of Experimental Botany*. – 2004. – T. 55, № 394. – C. 11-25.
248. Reis M. G., dos Reis M. M., Leath S., Stelwagen K. Direct analysis of fatty acid profile from milk by thermochemolysis-gas chromatography-mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. – 2011. – T. 1218, № 2. – C. 316-323.
249. Romero C. M., Engel R. E., D'Andrilli J., Chen C., Zabinski C., Miller P. R., Wallander R. Patterns of change in permanganate oxidizable soil organic matter from semiarid drylands reflected by absorbance spectroscopy and Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // *Organic Geochemistry*. – 2018. – T. 120. – C. 19-30.
250. Roscher C., Schumacher J., Lipowsky A., Gubsch M., Weigelt A., Schmid B., Buchmann N., Schulze E. D. Functional groups differ in trait means, but not in trait plasticity to species richness in local grassland communities // *Ecology*. – 2018. – T. 99, № 10. – C. 2295-2307.
251. Rosenberg W., Nierop K. G. J., Knicker H., de Jager P. A., Kreutzer K., Weiss T. Liming effects on the chemical composition of the organic surface layer of a mature Norway spruce stand (*Picea abies* L. Karst.) // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2003. – T. 35, № 1. – C. 155-165.
252. RStudio. // URL: <https://www.rstudio.com>.
253. Ruess L., Haggblom M. M., Zapata E. J. G., Dighton J. Fatty acids of fungi and nematodes - possible biomarkers in the soil food chain? // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2002. – T. 34, № 6. – C. 745-756.
254. Saizjimenez C. Analytical pyrolysis of humic substances - pitfalls, limitations, and possible solutions // *Environmental Science & Technology*. – 1994. – T. 28, № 11. – C. 1773-1780.
255. Schiedung M., Don A., Wordell-Dietrich P., Alcantara V., Kuner P., Guggenberger G. Thermal oxidation does not fractionate soil organic carbon

- with differing biological stabilities // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2017. – T. 180, № 1. – C. 18-26.
256. Schulten H. R., Leinweber P. Characterization of humic and soil particles by analytical pyrolysis and computer modeling // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 1996. – T. 38. – C. 1-53.
257. Schulten H. R., Leinweber P. Thermal stability and composition of mineral-bound organic matter in density fractions of soil // *European Journal of Soil Science*. – 1999. – T. 50, № 2. – C. 237-248.
258. Schulten H. R., Schnitzer M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review // *Biology and Fertility of Soils*. – 1997. – T. 26, № 1. – C. 1-15.
259. Schulze D. G., Nagel J. L., Vanscoyoc G. E., Henderson T. L., Baumgardner M. F., Stott D. E. Significance of organic-matter in determining soil colors // *Soil Color*. – 1993. – T. 31. – C. 71-90.
260. Schwarzinger B., Feichtinger M., Blank-Landeshammer B., Weghuber J., Schwarzinger C. Quick determination of erucic acid in mustard oils and seeds // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2022. – T. 164. – C. 105523.
261. Seifert A.-G., Roth V.-N., Dittmar T., Gleixner G., Breuer L., Houska T., Marxsen J. Comparing molecular composition of dissolved organic matter in soil and stream water: Influence of land use and chemical characteristics // *Science of the Total Environment*. – 2016. – T. 571. – C. 142-152.
262. Shadkami F., Helleur R. Recent applications in analytical thermochemolysis // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. – 2010. – T. 89, № 1. – C. 2-16.
263. Shen X. L., Meng H. B., Shen Y. J., Ding J. T., Zhou H. B., Cong H. B., Li L. J. A comprehensive assessment on bioavailability, leaching characteristics and potential risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in biochars produced by a continuous pyrolysis system // *Chemosphere*. – 2022. – T. 287.

264. Siewert C., Demyan M. S., Kucerik J. Interrelations between soil respiration and its thermal stability // *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. – 2012. – T. 110, № 1. – C. 413-419.
265. Simpson M. J., Preston C. Soil organic matter analysis by solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. // *Soil sampling and methods of analysis*. – Boca Raton: CRC Press, 2008. – C. 681-692.
266. Six J., Conant R. T., Paul E. A., Paustian K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils // *Plant and Soil*. – 2002. – T. 241, № 2. – C. 155-176.
267. Six J., Elliott E. T., Paustian K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2000. – T. 32, № 14. – C. 2099-2103.
268. Six J., Guggenberger G., Paustian K., Haumaier L., Elliott E. T., Zech W. Sources and composition of soil organic matter fractions between and within soil aggregates // *European Journal of Soil Science*. – 2001. – T. 52, № 4. – C. 607-618.
269. Six J., Jastrow J. D. Soil Organic Matter (SOM): Turnover // *Encyclopedia of Soil Science, Vols I-III, 3rd Edition*. – 2017. – C. 2186-2191.
270. Six J., Schultz P. A., Jastrow J. D., Merckx R. Recycling of sodium polytungstate used in soil organic matter studies // *Soil Biology & Biochemistry*. – 1999. – T. 31, № 8. – C. 1193-1196.
271. Sleutel S., Kader M. A., Leinweber P., D'Haene K., De Neve S. Tillage management alters surface soil organic matter composition: A pyrolysis mass Spectroscopy study // *Soil Science Society of America Journal*. – 2007. – T. 71, № 5. – C. 1620-1628.
272. Sleutel S., Leinweber P., Begum S. A., Kader M. A., De Neve S. Shifts in soil organic matter composition following treatment with sodium hypochlorite and hydrofluoric acid // *Geoderma*. – 2009. – T. 149, № 3-4. – C. 257-266.

273. Smith J. L., Paul E. A. The Significance of Soil Microbial Biomass Estimation // Soil biochemistry. – New York: Routledge, 2017. – C. 357-398.
274. Sobeih K. L., Baron M., Gonzalez-Rodriguez J. Recent trends and developments in pyrolysis-gas chromatography // Journal of Chromatography A. – 2008. – T. 1186, № 1-2. – C. 51-66.
275. Sodium Polytungstate (SPT). // URL: <http://www.sometu.de/>.
276. Solihat N. N., Yustiawati, Kim S. Elucidating molecular level impact of peat fire on soil organic matter by laser desorption ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2019. – T. 411, № 27. – C. 7303-7313.
277. Sollins P., Glassman C., Paul E. A., Swanston C., Lajtha K., Heil J. W., Elliott E. T. Soil carbon and nitrogen: Pools and fractions // Standard soil methods for long term ecological research / Robertson G. – New York: Oxford Univ. Press, 1999. – C. 89–105.
278. Sollins P., Swanston C., Kleber M., Filley T., Kramer M., Crow S., Caldwell B. A., Lajtha K., Bowden R. Organic C and N stabilization in a forest soil: Evidence from sequential density fractionation // Soil Biology & Biochemistry. – 2006. – T. 38, № 11. – C. 3313-3324.
279. Sorge C., Schnitzer M., Leinweber P., Schulten H. R. Molecular-chemical characterization of organic-matter in whole soil and particle-size fractions of a spodosol by pyrolysis field-ionization mass-spectrometry // Soil Science. – 1994. – T. 158, № 3. – C. 189-203.
280. Straka P., Havelcova M. Polycyclic aromatic hydrocarbons and other organic compounds in ashes from biomass combustion // Acta Geodynamica Et Geomaterialia. – 2012. – T. 9, № 4. – C. 481-490.
281. Strezov V., Moghtaderi B., Lucas J. A. Computational calorimetric investigation of the reactions during thermal conversion of wood biomass // Biomass & Bioenergy. – 2004. – T. 27, № 5. – C. 459-465.

282. Subedi K. D., Ma B. L. Wheat Development, Productivity, and Nitrogen Use Are Unaffected by Stable Isotope Form of the Nitrogen Source // *Crop Science*. – 2010. – Т. 50, № 4. – С. 1490-1495.
283. Swift R. S. Organic Matter Characterization // *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods* / Sparks D. L. и др. – USA: Soil Science Society of America, 1996. – С. 1011-1069.
284. Tabatabai M. A. Soil enzymes // *Methods of soil analysis: Part 2 Microbiological and biochemical properties*. – USA: Soil Science Society of America, 1994. – С. 775-833.
285. Tang J., Mo Y., Zhang J., Zhang R. Influence of biological aggregating agents associated with microbial population on soil aggregate stability // *Applied Soil Ecology*. – 2011. – Т. 47, № 3. – С. 153-159.
286. Tegelaar E. W., Deleeuw J. W., Saizjimenez C. Possible origin of aliphatic moieties in humic substances // *Science of the Total Environment*. – 1989. – Т. 81-2. – С. 1-17.
287. Thevenot M., Dignac M.-F., Rumpel C. Fate of lignins in soils: A review // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2010. – Т. 42, № 8. – С. 1200-1211.
288. Thomas G. W. Relationship between organic-matter content and exchangeable aluminum in acid soil // *Soil Science Society of America Journal*. – 1975. – Т. 39, № 3. – С. 591-591.
289. Tiunov A. V. Stable isotopes of carbon and nitrogen in soil ecological studies // *Izvestiia Akademii nauk. Serii biologicheskaja*. – 2007. № 4. – С. 475-89.
290. Valkova D., Grasset L., Ambles A. Molecular compounds generated by ruthenium tetroxide oxidation and preparative off line thermochemolysis of lignite humic acids from South Moravia: Implications for molecular structure // *Fuel*. – 2009. – Т. 88, № 11. – С. 2113-2121.
291. Vallini G., Pera A., Agnolucci M., Valdrighi M. M. Humic acids stimulate growth and activity of in vitro tested axenic cultures of soil autotrophic

- nitrifying bacteria // *Biology and Fertility of Soils*. – 1997. – T. 24, № 3. – C. 243-248.
292. Vallini G., Pera A., Avio L., Valdrighi M., Giovannetti M. Influence of humic acids on laurel growth, associated rhizospheric microorganisms, and mycorrhizal fungi // *Biology and Fertility of Soils*. – 1993. – T. 16, № 1. – C. 1-4.
293. Vestal J. R., White D. C. Lipid analysis in microbial ecology - quantitative approaches to the study of microbial communities // *Bioscience*. – 1989. – T. 39, № 8. – C. 535-541.
294. Vinhal-Freitas I. C., Correa G. F., Wendling B., Bobul'ska L., Ferreira A. S. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators // *Ecological Indicators*. – 2017. – T. 74. – C. 182-190.
295. Viret F., Grand S. Combined Size and Density Fractionation of Soils for Investigations of Organo-Mineral Interactions // *Jove-Journal of Visualized Experiments*. – 2019. № 144.
296. Volkov D. S., Rogova O. B., Proskurnin M. A., Farkhodov Y. R., Markeeva L. B. Thermal stability of organic matter of typical chernozems under different land uses // *Soil & Tillage Research*. – 2020. – T. 197.
297. von Lutzow M., Kogel-Knabner I., Ludwig B., Matzner E., Flessa H., Ekschmitt K., Guggenberger G., Marschner B., Kalbitz K. Stabilization mechanisms of organic matter in four temperate soils: Development and application of a conceptual model // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2008. – T. 171, № 1. – C. 111-124.
298. Wagai R., Mayer L. M., Kitayama K. Nature of the "occluded" low-density fraction in soil organic matter studies: A critical review // *Soil Science and Plant Nutrition*. – 2009. – T. 55, № 1. – C. 13-25.
299. Waggoner D. C., Chen H. M., Willoughby A. S., Hatcher P. G. Formation of black carbon-like and alicyclic aliphatic compounds by hydroxyl radical

- initiated degradation of lignin // *Organic Geochemistry*. – 2015. – T. 82. – C. 69-76.
300. Wan D., Ye T. H., Lu Y., Chen W. L., Cai P., Huang Q. Y. Iron oxides selectively stabilize plant-derived polysaccharides and aliphatic compounds in agricultural soils // *European Journal of Soil Science*. – 2019. – T. 70, № 6. – C. 1153-1163.
301. Wander M. Soil organic matter fractions and their relevance to soil function // *Soil organic matter in sustainable agriculture* / Magdoff F. – Boca Raton: CRC Press Inc, 2004. – C. 67-102.
302. Wander M. M., Yang X. M. Influence of tillage on the dynamics of loose- and occluded-particulate and humified organic matter fractions // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2000. – T. 32, № 8-9. – C. 1151-1160.
303. Wiesenberg G. L. B., Lehndorff E., Schwark L. Thermal degradation of rye and maize straw: Lipid pattern changes as a function of temperature // *Organic Geochemistry*. – 2009. – T. 40, № 2. – C. 167-174.
304. Williams M. G., Macgee J. Quantitative recovery of poly-unsaturated fatty-acids on pyrolytic methylation of their trimethylphenylammonium salts // *Journal of Chromatography*. – 1982. – T. 234, № 2. – C. 468-471.
305. Wilson M. A. Applications of nuclear magnetic-resonance spectroscopy to the study of the structure of soil organic-matter // *Journal of Soil Science*. – 1981. – T. 32, № 2. – C. 167-186.
306. *NMR Techniques & Applications in Geochemistry & Soil Chemistry*. / Wilson M. A. – NY.: Pergamon Press, 2013. – 352 c.
307. Wright S. F., Upadhyaya A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi // *Plant and Soil*. – 1998. – T. 198, № 1. – C. 97-107.
308. Xu J. M., Cheng H. H., Koskinen W. C., Molina J. A. E. Characterization of potentially bioreactive soil organic carbon and nitrogen by acid hydrolysis // *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. – 1997. – T. 49, № 1-3. – C. 267-271.

309. Yassir I., Buurman P. Soil organic matter chemistry changes upon secondary succession in Imperata Grasslands, Indonesia: A pyrolysis-GC/MS study // *Geoderma*. – 2012. – T. 173. – C. 94-103.
310. Zhao C., Jiang E., Chen A. Volatile production from pyrolysis of cellulose, hemicellulose and lignin // *Journal of the Energy Institute*. – 2017. – T. 90, № 6. – C. 902-913.
311. Zotarelli L., Alves B. J. R., Urquiaga S., Boddey R. M., Six J. Impact of tillage and crop rotation on light fraction and intra-aggregate soil organic matter in two Oxisols // *Soil & Tillage Research*. – 2007. – T. 95, № 1-2. – C. 196-206.
312. Zou X. M., Ruan H. H., Fu Y., Yang X. D., Sha L. Q. Estimating soil labile organic carbon and potential turnover rates using a sequential fumigation-incubation procedure // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2005. – T. 37, № 10. – C. 1923-1928.
313. Zuber S. M., Villamil M. B. Meta-analysis approach to assess effect of tillage on microbial biomass and enzyme activities // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2016. – T. 97. – C. 176-187.
314. Zvomuya F., Janzen H. H., Larney F. J., Olson B. M. A long-term field bioassay of soil quality indicators in a semiarid environment // *Soil Science Society of America Journal*. – 2008. – T. 72, № 3. – C. 683-692.

Приложение

Приложение А.1. Протокол денсиметрического фракционирования лаборатории биологии и биохимии почв Почвенного института им. В. В. Докучаева.

Приготовление растворов ТЖ с плотностью 1.6 г/см³ и 2.0 г/см³ (с точностью 0.01 г/см³) проводят согласно (Six et al., 1999b). Вначале готовят маточный раствор ТЖ с плотностью 2.0 г/см³, далее часть ТЖ разбавляют до плотности 1.6 г/см³. Для приготовления 1 литра ТЖ с плотностью 2.0 г/см³ к 1250 г соли полифольфрамата натрия приливают 750 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают. Плотность полученного раствора определяют ареометром или пикнометром и при необходимости добавляют соль или разбавляют дистиллированной водой, для доведения плотности ТЖ до необходимого значения.

Объем воды, который потребуется для разбавления маточного раствора ТЖ, чтобы приготовить раствор ТЖ с плотностью 1.6 г/см³ рассчитывают по формуле:

$$V_{\text{вода}} = \frac{(d_{\text{SPT}} - d_{\text{треб}}) * V_{\text{SPT}}}{d_{\text{треб}} - d_{\text{вода}}}$$

Где d_{SPT} – плотность маточного раствора ТЖ, V_{SPT} – объем маточного раствора ТЖ, $d_{\text{треб}}$ – требуемая плотность ТЖ, $d_{\text{вода}}$ – плотность воды при температуре окружающей среды. Для предотвращения взаимодействия полифольфрамата натрия с кальцием, который может присутствовать в составе стеклянной посуды, приготовленные растворы хранят в пластиковых емкостях.

Выделение fPOM <1.6 г/см³. Перед фракционированием из образца почвы отбирают видимые глазом растительные остатки, далее образец почвы растирают пестиком с резиновым наконечником и пропускают через сито с размером ячейки 1 мм. Для выделения fPOM <1.6 г/см³ в центрифужную полипропиленовую пробирку с закручивающейся крышкой объемом 50 мл вносят 5 г почвы, взятых на аналитических весах, приливают 25 мл ТЖ с

плотностью $<1.6 \text{ г/см}^3$, закрывают крышкой, интенсивно встряхивают 5 раз и оставляют на 30 минут в покое. Далее, надосадочный раствор переливают в отдельную центрифужную пробирку и центрифугируют 30 минут при 2906 g. После центрифугирования при помощи пипетки Пастера всплывший материал порционно собирают и переносят в другую пробирку для сбора целевой фракции ($fPOM <1.6 \text{ г/см}^3$), а осадок возвращают в центрифужную пробирку с основным осадком. Операцию повторяют несколько раз до того момента, когда перестает всплывать флотированный материал. Пробирку с осадком оставляют для выделения $oPOM <1.6 \text{ г/см}^3$. Суспензию с выделенной фракцией фильтруют. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой до полного избавления от остатков ТЖ. Полноту отмывки контролируют с помощью кондуктометра. Для этого в процессе отмывки препарата от ТЖ измеряют электропроводность фильтрата. Процесс отмывки продолжают до достижения значений электропроводности дистиллированной воды. Осадок высушивают на водяной бане при 60 C° и взвешивают на аналитических весах. Фильтрат собирают в ёмкость для восстановления ТЖ.

Выделение $oPOM <1.6 \text{ г/см}^3$. В пробирку с осадком, оставшимся после выделения $fPOM <1.6 \text{ г/см}^3$, приливают 25 мл ТЖ с плотностью 1.6 г/см^3 , помещают в воду со льдом и озвучивают с помощью зондового УЗ генератора с передачей энергии суспензии 500 Дж/мл. Для достижения заданной энергии диспергации и предотвращения перегрева раствора, УЗ обработку следует проводить в два подхода с равным временем озвучивания, не давая нагреться суспензии. После обработки, пробирку с суспензией центрифугируют в течение 30 минут при 2906 g. Затем всплывший материал переносят с помощью пипетки Пастера в пробирку для сбора фракции $oPOM <1.6 \text{ г/см}^3$. Осадок на дне центрифужной пробирки ресуспендируют интенсивным встряхиванием или кратковременным озвучиванием (5-10 сек) и вновь центрифугируют. Флотированный материал собирают с помощью пипетки Пастера. Ресуспендирование и центрифугирование проводят до

полного отсутствия выхода флотуруемого материала. Суспензию с полученной фракцией $\rho_{\text{РОМ}} < 1.6 \text{ г/см}^3$ фильтруют. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой до полного избавления от соли ТЖ, полноту отмывания контролируют с помощью кондуктометра как описано выше. Далее осадок высушивают при 60 C° , взвешивают. Фильтрат собирают в ёмкость для восстановления ТЖ.

Выделение $\rho_{\text{РОМ}} 1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$. В пробирку с осадком, оставшимся от выделения $\rho_{\text{РОМ}} < 1.6 \text{ г/см}^3$, приливают 25 мл ТЖ с плотностью 2.0 г/см^3 . ТЖ перемешивают с осадком почвы интенсивным встряхиванием или кратковременной (5-10 сек) обработкой ультразвуком, затем центрифугируют в течение 30 минут при 2906 g. После центрифугирования всплывший материал переносят пипеткой Пастера в пробирку для сбора целевой фракции ($\rho_{\text{РОМ}} 1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$). Осадок на дне центрифужной пробирки ресуспендируют интенсивным встряхиванием или кратковременным озвучиванием (5-10 сек). Суспензию центрифугируют 30 мин. при 2906 g. Флотуруемый материал собирают с помощью пипетки Пастера. Цикл ресуспендирования-центрифугирования продолжают до прекращения выделения фракции. Далее суспензию с целевой фракцией ($\rho_{\text{РОМ}} 1.6\text{--}2.0 \text{ г/см}^3$) фильтруют. Осадок на фильтре промывают дистиллированной водой, высушивают и взвешивают. Фильтрат собирают в ёмкость для восстановления. На дне основной пробирки остается осадок, представленный минеральной фракцией ($\text{Mineral} > 2.0 \text{ г/см}^3$).

Фракцию $\text{Mineral} > 2.0 \text{ г/см}^3$ промывают раствором соляной кислоты. Для этого к осадку добавляют небольшое количество дистиллированной воды, несколько капель 0.1 M HCl до pH 3.0, озвучивают несколько секунд и центрифугируют 30 мин. при 2906 g. По окончании центрифугирования проверяют надосадочную жидкость на наличие соли ТЖ с помощью кондуктометра. Отработанный раствор переносят в ёмкость для восстановления ТЖ. Процесс отмывки продолжают до прекращения

изменения значений электропроводности. Фракцию высушивают при 60 С° и взвешивают.

Приложение Б.1. Влияние времени нагрева образца на состав пиролизатов

data: Значение by Время

Kruskal-Wallis chi-squared = 0.36569, df = 3, p-value = 0.9472

	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F	Pr(>F)
Эффект (Время)	3	8.923e+19	2.974e+19	0.002	1
Ошибка	68	1.041e+24	1.531e+22		

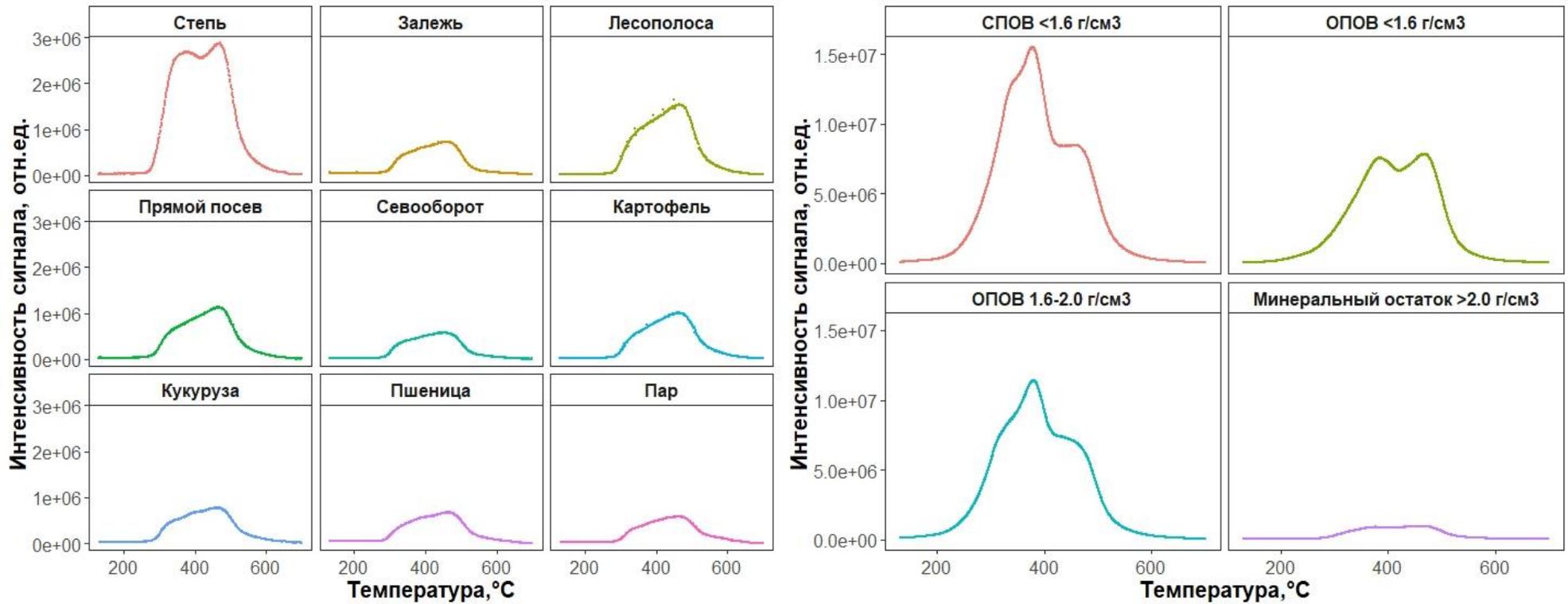
Приложение Б.2. Влияние скорости нагрева образца на значение границы термических фракций

data: Температура by Скорость.нагрева

Kruskal-Wallis chi-squared = 10.385, df = 3, p-value = 0.01556

	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F	Pr(>F)
Эффект(Скорость)	3	2255,5	751,8	68,15	0
Ошибка	8	88,3	11		

Приложение Б.3. Термограммы почв и денсиметрических фракций.



Приложение Б.4. Перечень выявленных пиролизатов ТЛ ОВ

Пиролизат	m/z фрагментного иона	Группа	Происхождение	Ссылка
эруковая кислота	74	ЖК	Липиды	(Quenea et al., 2004; Schwarzinger et al., 2022)
н-тетрадекан	57	Алканы	Липиды	(Nichols, Holman, 1972; Nierop, 1998; Gobé et al., 2000; Adamakis et al., 2018)
н-пентадекан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-гексадекан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-гептадекан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-октадекан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-нонадекан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-эйкозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-генийкозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-докозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-трикозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-тетракозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-пентакозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-гексакозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-гептакозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-октакозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-нонакозан	57	Алканы	Липиды	—//—
н-триаконтан	57	Алканы	Липиды	—//—
метилпентадеканат	74	МЭЖХ	Липиды	(Nichols, Holman, 1972; Boocock et al., 1992)
метилпальмитат	74	МЭЖХ	Липиды	—//—

метилстеарат	74	МЭЖХ	Липиды	—//—
метилнонадеканат	74	МЭЖХ	Липиды	—//—
метилбегенат	74	МЭЖХ	Липиды	—//—
метилпиррол	81	Азотсодержащие	Азотсодержащие	(Granada et al., 1991; Bol et al., 2009; Orsini et al., 2017)
фенол	94	Фенолы	Лигнин	(Jiang et al., 2010; Kawamoto, 2017)
фурфурол	96	Карбонильные соединения	Углеводы	(Collard, Blin, 2014; Zhao et al., 2017)
левоглюкозенон	98	Карбонильные соединения	Углеводы	—-/—/—
этилфенол	107	Фенолы	Лигнин	(Jiang et al., 2010; Kawamoto, 2017)
крезол1	108	Фенолы	Лигнин	—//—
крезол2	108	Фенолы	Лигнин	—//—
метилфурфурол	110	Карбонильные соединения	Углеводы	(Collard, Blin, 2014; Zhao et al., 2017)
бензонитрил	103	Азотсодержащие	Азотсодержащие	(Granada et al., 1991; Bol et al., 2009; Orsini et al., 2017)
индол	117	Азотсодержащие	Азотсодержащие	(Granada et al., 1991; Bol et al., 2009; Orsini et al., 2017)
дигидробензофуран	120	Кислородсодержащий гертероцикл	Углеводы	(Collard, Blin, 2014; Zhao et al., 2017)
метилиндол	130	Азотсодержащие	Азотсодержащие	(Granada et al., 1991; Bol et al., 2009; Orsini et al., 2017)
этилгваякол	137	Метоксифенолы	Лигнин	(Jiang et al., 2010; Nowakowski et al., 2010; Kawamoto, 2017)
метилгваякол	138	Метоксифенолы	Лигнин	—//—
апоцинин	151	Метоксифенолы	Лигнин	—//—

сирингол	154	Метоксифенолы	Лигнин	—//—
эвгенол	164	Метоксифенолы	Лигнин	—//—
изоэвгенол	164	Метоксифенолы	Лигнин	—//—
метоксиэвгенол	194	Метоксифенолы	Лигнин	—-/-/—

Приложение Б.5. Перечень выявленных пиролизатов ТС ОБ

Пиролизат	m/z фрагментного иона	Группа
н-ундекан	57	Алканы
н-додекан	57	Алканы
н-тридекан	57	Алканы
н-тетрадекан	57	Алканы
н-пентадекан	57	Алканы
н-гексадекан	57	Алканы
н-гептадекан	57	Алканы
н-октадекан	57	Алканы
н-нонадекан	57	Алканы
н-эйкозан	57	Алканы
н-генийкозан	57	Алканы
н-докозан	57	Алканы
н-трикозан	57	Алканы
н-тетракозан	57	Алканы
н-пентакозан	57	Алканы
н-гексакозан	57	Алканы
н-гептакозан	57	Алканы
н-октакозан	57	Алканы
н-нонакозан	57	Алканы
н-триаконтан	57	Алканы
бензол	78	Бензол
метилпиррол_1	81	Азотсодержащие
метилпиррол_2	81	Азотсодержащие
толуол	91	Алкилбензолы
ксилол	91	Алкилбензолы
пропилбензол	91	Алкилбензолы
метилпиридин	93	Азотсодержащие
фенол	94	Фенолы
диметилпиррол	94	Азотсодержащие
бензонитрил	103	Бензонитрил
этилтолуол	105	Алкилбензолы
метилфенол	108	Фенолы
нафталин	128	ПАУ
метилнафталин_1	142	ПАУ
метилнафталин_2	142	ПАУ
бифенил	154	ПАУ
диметилнафталин_1	156	ПАУ
диметилнафталин_2	156	ПАУ
флуорен	166	ПАУ

бензофуран	118	ПАУ
антрацен	178	ПАУ

Приложение Б.6. Результаты дисперсионного анализа по влиянию температуры и количества ТМАГ на содержание МЭЖК

Метилпальмитолеат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	0,01	0,01	0	0,983
ТМАГ	1	16,5	16,5	1,288	0,265
Температура:ТМАГ	1	376,6	376,6	29,374	0.0000058*
Ошибка	32	410,3	12,8		
Метилпальметат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	32,4	32,4	1,487	0,2315
ТМАГ	1	147,9	147,9	6,790	0.0138*
Температура:ТМАГ	1	460,2	460,2	21,136	0.00006*
Ошибка	32	696,8	21,8		
Метилолеат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	1857	1857	1,99	0,168032
ТМАГ	1	18262	18262	19,57	0.000105*
Температура:ТМАГ	1	27541	27541	29,51	0.000006*
Ошибка	32	29863	933		
Сумма МЭЖК					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	46460	46460	1.918	0.176000
ТМАГ	1	539716	539716	22.281	0,000040*
Температура:ТМАГ	1	735825	735825	30.377	0,000004*
Ошибка	32	775137	24223		

Приложение Б.7. Результаты дисперсионного анализа по влиянию температуры и количества ТМАГ на относительное содержание МЭЖК.

Метилпальмитолеат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	0,436	0,436	2,99	0,093400
ТМАГ	1	4,075	4,075	27,95	0.000009*
Температура:ТМАГ	1	3,175	3,175	21,78	0.000050*
Ошибка	32	4,665	0,146		
Метилолеат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	0,162	0,162	1,127	0,296400
ТМАГ	1	1,218	1,218	8,456	0.006560*
Температура:ТМАГ	1	1,443	1,443	10,016	0.003390*
Ошибка	32	4,609	0,144		
Метилпальметат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	13,09	13,09	1,906	0,176981
ТМАГ	1	70,69	70,69	10,291	0.003033*
Температура:ТМАГ	1	91,34	91,34	130296	0.000935*
Ошибка	32	219,82	6,87		
Метилстеарат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Температура	1	0,613	0,613	3,277	0,079671
ТМАГ	1	3,052	3,052	16,318	0.000313*
Температура:ТМАГ	1	0,002	0,002	0,009	0.924016
Ошибка	32	5,986	0,1871		

Приложение Б.8. Результаты дисперсионного анализа по влиянию времени инкубирования почвы с ТМАГ на относительное содержание МЭЖК.

Метилпальмитолеат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Время	1	0.0315	0.03149	0,256	0,619
Ошибка	19	2.3362	0.12296		
Метилпальметат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Время	1	0.7	0.661	0,022	0,884
Ошибка	19	570.4	30.021		
Метилолеат					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Время	1	0.0035	0.00348	0,022	0,884
Ошибка	19	3.0015	0.15797		
Сумма МЭЖК					
	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F value	Pr(>F)
Время	1	132	132,5	0,437	0,516
Ошибка	19	5759	303,1		

Приложение Б.9. Перечень выявленных ЖК

Обозначение	Название ЖК	m/z фрагментного иона	Группа
C16:1	гексадеценовая	55	Ненасыщенные
C18:2	октадекадиеновая	55	Ненасыщенные
C18:1	октадеценовая	55	Ненасыщенные
C18:1_2	октадеценовая (2)	55	Ненасыщенные
C10:0	декановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C12:0	додекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C12-Me	метилдодекановая	74	Метилразветвленные
C13:0	тридекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C13-Me	метилтридекановая	74	Метилразветвленные
C14:0	тетрадекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C14-Me	метилтетрадекановая	74	Метилразветвленные
C14-Me-2	метилтетрадекановая (2)	74	Метилразветвленные
C15:0	пентадекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C15-Me-1	метилпентадекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C16:0	гексадекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C16-Me	метилгексадекановая	74	Метилразветвленные
C16-Me-2	метилгексадекановая (2)	74	Метилразветвленные
C16-Me-3	метилгексадекановая (3)	74	Метилразветвленные
C17:0	гептадекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C17-Me	метилгептадекановая	74	Метилразветвленные
C18:0	октадекановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C18-Me	метилоктадекановая	74	Метилразветвленные

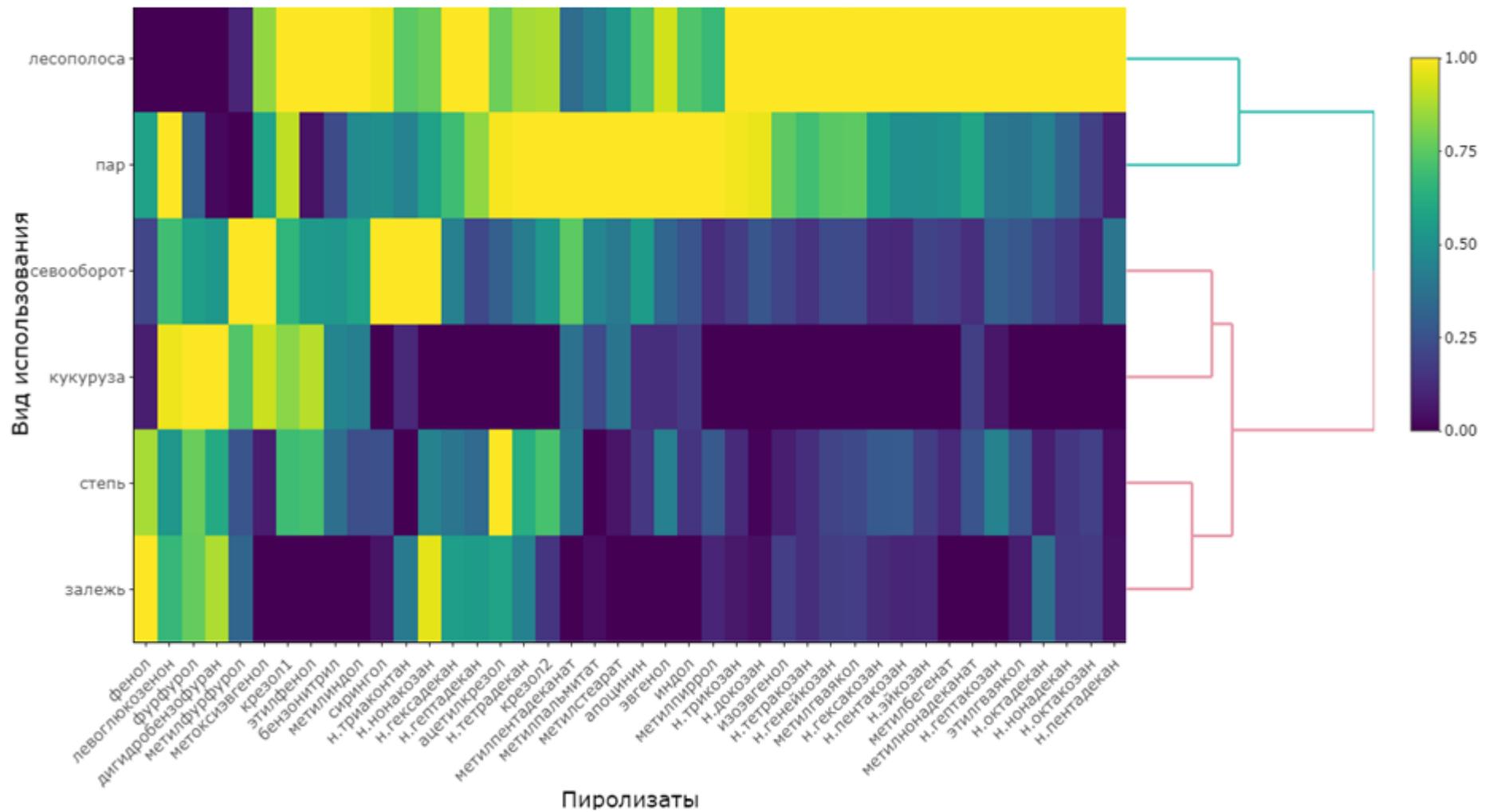
C20:0	генэйкозановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C21:0	докозановая	74	Насыщенные (C10-C21)
C22:0	трикозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C23:0	тетракозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C24:0	тетракозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C25:0	пентакозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C26:0	гексакозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C27:0	гептакозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C28:0	октакозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C29:0	нонакозановая	74	Насыщенные (C22-C30)
C30:0	триаконтановая	74	Насыщенные (C22-C30)

Приложение В.1. Характеристика денсиметрических фракций типичных черноземов разного вида использования

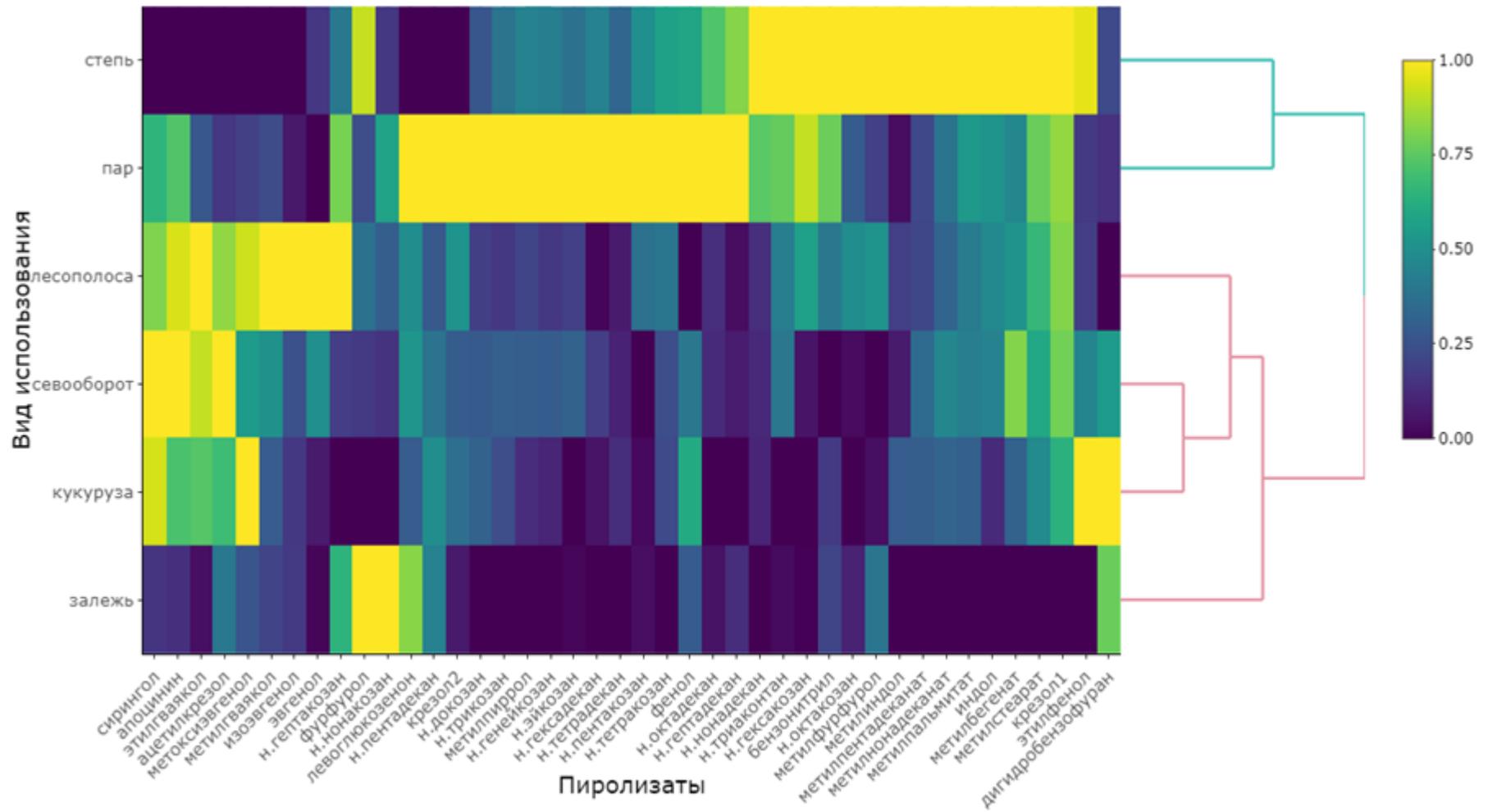
Фракция	Тип землепользования	Массовая доля фракции (%)	C(%) во фракции	N(%) во фракции	C:N во фракции	C(г/100г почвы)	N(г/100г почвы)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
СПОВ <1,6 г/см ³	Степь	1,3(0,2) ^a	23,6(0,6) ^a	1,59(0,07)	14,9(0,8) ^a	0,31(0,05) ^b	0,021(0,004) ^a	-27,84	1,04
	Залежь	0,3(0,3) ^{бг}	30,2(0,8) ^б	1,75(0,05)	17,3(0,9) ^б	0,08(0,08) ^a	0,005(0,005) ^б	-27,29	1,03
	Лесополоса	1,35(0,08) ^a	35(1) ^б	1,82(0,09)	19,1(0,3) ^б	0,47(0,02)	0,0245(0,0004) ^a	-28,42	2,91
	Пар	0,09(0,07) ^{бг}	16,2(0,2)	2,03(0,02)	7,9(0,2)	0,01(0,02) ^a	0,002(0,002) ^б	NA	NA
	Кукуруза	0,23(0,07) ^{бгд}	37(1) ^б	2,1(0,3)	18(2) ^б	0,08(0,03) ^a	0,005(0,001) ^б	-16,71	4,21
	Севооборот	0,4(0,2) ^{бс}	30(4) ^б	2,1(0,6)	15(2) ^a	0,11(0,04) ^a	0,007(0,002) ^б	-27,22	4
ОПОВ <1,6 г/см ³	Степь	3,6(0,7)	39(2) ^a	2,7(0,3)	14,7(0,7)	1,4(0,3)	0,09(0,02)	-27,71	0,54
	Залежь	0,9(0,5) ^a	44(4) ^б	2,1(0,2) ^a	20,5(0,5) ^{аб}	0,4(0,2) ^a	0,02(0,01) ^a	-27,28	2,74
	Лесополоса	1,8(0,3) ^a	43(5) ^б	2,2(0,2) ^a	19,9(0,9) ^{аб}	0,78(0,09) ^a	0,04(0,01) ^a	-27,65	2,51
	Пар	0,9(0,4) ^a	46,1(0,3) ^б	1,95(0,07) ^a	23,6(0,8) ^{бв}	0,4(0,2) ^a	0,02(0,01) ^a	-27,06	2,03
	Кукуруза	1,1(0,2) ^a	48,6(0,8) ^б	2,1(0,2) ^a	23(2) ^{бв}	0,52(0,09) ^a	0,022(0,003) ^a	-26,27	2,59
	Севооборот	1,5(0,3) ^a	45(4) ^б	2,1(0,3) ^a	21,7(0,6) ^{бвa}	0,7(0,2) ^a	0,031(0,008) ^a	-27,4	2,47
ОПОВ 1,6–2,0 г/см ³	Степь	9,06(2,29)	9(6) ^a	0,9(0,6) ^a	10,0(0,5) ^a	0,7(0,2) ^a	0,07(0,02)	-26,97	2,61
	Залежь	1,72(0,64) ^a	23(6) ^б	1,8(0,4) ^б	13(1) ^{аб}	0,36(0,07) ^б	0,028(0,007) ^a	-26,67	3,4
	Лесополоса	1,03(0,57) ^a	26(9) ^б	2,0(0,6) ^б	13(1) ^б	0,3(0,2) ^б	0,02(0,02) ^a	-26,73	4,54
	Пар	1,09(0,24) ^a	34(8) ^б	2,1(0,2) ^б	16(2) ^б	0,36(0,04) ^б	0,02(0,02) ^a	-26,07	3,65
	Кукуруза	1,57(0,15) ^a	32(6) ^б	2,0(0,2) ^б	15(2) ^б	0,50(0,05) ^{аб}	0,032(0,001) ^a	-24,28	3,88
	Севооборот	1,7(0,5) ^a	32(6) ^б	2,1(0,2) ^б	15(2) ^б	0,5(0,2) ^{аб}	0,034(0,009) ^a	-26,56	4,36
Минеральный остаток >2,0 /см ³	Степь	85(1)	3,5(0,6)	0,39(0,01)	8,9(0,4) ^a	2,8(0,5)	0,33(0,12)	-26,19	4,24
	Залежь	91,9(0,6) ^a	2,42(0,09) ^б	0,26(0,02) ^{аб}	9,4(0,2) ^a	2,2(0,1) ^{ав}	0,23(0,02) ^{аб}	-25,59	3,58
	Лесополоса	90,8(0,2) ^a	2,73(0,05) ^б	0,28(0,04) ^б	10(1) ^a	2,48(0,05) ^{бг}	0,26(0,04) ^б	-25,53	4,5
	Пар	93(3) ^a	2,04(0,07) ^a	0,220(0,001) ^a	9,6(0,2) ^a	1,9(0,2) ^б	0,20(0,03) ^a	-25,36	3,52
	Кукуруза	95(5) ^a	2,21(0,03) ^{аб}	0,25(0,02) ^{аб}	9,0(0,7) ^a	2,09(0,09) ^{аб}	0,23(0,03) ^{аб}	-24,28	4,61
	Севооборот	94(2) ^a	2,2(0,2) ^{аб}	0,22(0,03) ^a	9,9(0,8) ^a	2,1(0,2) ^{бг}	0,21(0,03) ^{аб}	-25,33	4,36

Для проверки гипотез о равенстве средних при $p < 0.05$ применялся критерий Тьюки. $N=3$, среднее значение \pm стандартное отклонение. Индексы указывают на различия средних

Приложение Г.1.1. Тепловая карта относительного содержания пиролизатов ТЛ ОВ СПОВ <1,6 по вариантам опыта



Приложение Г.1.3. Тепловая карта относительного содержания пиролизатов ТЛ ОВ ОПОВ 1,6-2,0 по вариантам опыта



Приложение Г.2.4. Тепловая карта относительного содержания пиролизатов ТС ОВ минерального остатка по вариантам опыта

