

УДК 631.417

## ТЕРМОЛАБИЛЬНОЕ И ТЕРМОСТАБИЛЬНОЕ ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО ЧЕРНОЗЕМОВ РАЗНОГО ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ

© 2020 г. В. А. Холодов<sup>а,\*</sup>, Ю. Р. Фарходов<sup>а,б</sup>, Н. В. Ярославцева<sup>а</sup>, А. Ю. Айдиев<sup>с</sup>, В. И. Лазарев<sup>с</sup>, Б. С. Ильин<sup>с</sup>, А. Л. Иванов<sup>а</sup>, Н. А. Куликова<sup>б,д</sup>

<sup>а</sup>Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Пыжжевский пер., 7, Москва, 119017 Россия

<sup>б</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

<sup>с</sup>Курский ФАНЦ, Курский район, пос. Черемушки, 10, Курская область, 305526 Россия

<sup>д</sup>Институт биохимии РАН им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Ленинский пр., 33, Москва, 119071 Россия

\*e-mail: vkholod@mail.ru

Поступила в редакцию 23.09.2019 г.

После доработки 21.11.2019 г.

Принята к публикации 30.01.2020 г.

Для сравнительного изучения молекулярного состава термолабильной (мобилизующейся – переходящей в газовую фазу при 300°C) и термостабильной (мобилизующейся при 500°C) фракций органического вещества гумусовых горизонтов типичных черноземов был применен двухстадийный пиролиз с последующим газохроматографическим разделением и масс-детекцией продуктов. Объектами исследования служили типичные черноземы различного землепользования, отличающиеся преобладающим направлением трансформации органического вещества. Установлено, что максимальный вклад в продукты пиролиза термолабильного вещества черноземов вносили соединения группы полисахаридов, фурфурол и метилфурфурол. Наибольшая доля продуктов пиролиза термостабильного вещества принадлежала азотсодержащим соединениям. Впервые продемонстрировано, что применение метода главных компонент к данным по молекулярному составу термолабильного органического вещества позволяет разделять исследованные черноземы разного землепользования на группы, отражающие квазиравновесное состояние почвенного органического вещества, его деградацию или накопление.

**Ключевые слова:** двухстадийный пиролиз, газовая хроматография, масс-детекция, молекулярное строение, метод главных компонент, Naplic Chernozem (Loamic, Pachic)

DOI: 10.31857/S0032180X20080080

### ВВЕДЕНИЕ

Почвенное органическое вещество (ОВ) играет ключевую роль в поддержании плодородия почв. Оно определяет большинство почвенных характеристик, включая почвенную структуру, водоудерживающие свойства, эродлируемость и др. [1, 2]. Специфические и неспецифические почвенные органические соединения: простые и сложные углеводы, фенолы, лигнин, липиды, гуминовые вещества и др. – влияют на многие экосистемные функции почв: круговорот питательных веществ, депонирование углерода и связывание загрязняющих веществ [15, 16, 23, 35, 39, 47]. Фактически, изменение состава почвенного ОВ во время биотической и абиотической трансформации является ключевой переменной в процессах взаимодействия почвы с окружающей средой [37].

Почвенное ОВ представляет собой комбинацию всех органических соединений, поступающих из растений и животных и находящихся на

разных стадиях разложения и степени ассоциации с минеральной матрицей [14, 44]. Это определяет высокую структурную неоднородность почвенного ОВ. Поэтому его анализ на молекулярном уровне возможен только при сочетании современных методов фракционирования с методами детекции высокого разрешения [37].

Одним из перспективных подходов фракционирования почвенного ОВ является его разделение на термолабильный (ТЛ) и термостабильный (ТС) пулы, осуществляемое методами термического анализа, такими как термогравиметрия и аналитический пиролиз [17, 22, 42]. Данные методы позволяют изучать пулы ТЛ и ТС ОВ в одном образце без их предварительного выделения [41]. Испаряющиеся продукты пиролиза подвергаются газохроматографическому разделению и идентификации с помощью масс-спектрометрии (ГХ–МС) по отношению массы иона к его заряду ( $m/z$ ). Преимуществами данного подхода являются

быстрота проведения анализа и простота подготовки образцов, а также высокая воспроизводимость, что сделало его важным инструментом при исследовании почвенных образцов для решения задач, связанных с необходимостью установления между образцами достоверного сходства или различия [36]. Применение пиролиза с последующим газохроматографическим разделением и масс-детекцией продуктов позволяет достигать глубокого понимания сложных органических матриц с точки зрения источников происхождения ОВ, степени его разложения и стабильности [44]. В настоящее время поиск набора характеристических особенностей (“химической подписи”) почвенного ОВ с помощью пиролиза в сочетании с ГХ–МС является наиболее эффективным методом изучения химического состава ОВ [31, 37].

Для разделения на ТЛ и ТС пулы в настоящее время используют процесс двухстадийного пиролиза, разработанный для оценки качества полимеров. При медленном нагреве образца на первой стадии до 250–390°C происходит возгонка низкомолекулярного ОВ, при последующем быстром нагреве до 500–700°C – разрыв ковалентных связей в полимерах и мобилизация их структурных фрагментов. Температурную границу между ТЛ и ТС ОВ авторы описывают по-разному: 247°C [11], 300°C [18, 20, 22, 42] и 390°C [30]. Это связано с особенностями эксперимента, типа прибора, цели исследования, почвы, грунта или фракции ОВ.

ТЛ фракцию ОВ обычно относят к легкодоступному для биоразложения пулу ОВ, а ТС – долгоживущему. Несмотря на то, что не весь пул ТЛ веществ легкодоступен микроорганизмам и не все легкодоступные вещества являются компонентами ТЛ фракции, связь между этими группами часто отмечается в литературе [22, 42]. Вероятно, и ТЛ, и биодоступным являются плохо растворимые ОВ с относительно небольшой молекулярной массой (не полимеры).

В целом исходят из предположения, что ТЛ легкокипящая фракция представляет собой низкомолекулярные соединения, для которых для перехода в газовую фазу требуется относительно небольшая энергия, значительно меньшая, чем для разрыва ковалентных связей в полимерах. Это предположение хорошо согласуется с существующими данными о наличии прямых корреляционных связей между количеством легкодоступного углерода, определяемого непосредственно в ходе экспериментов с инкубацией, и содержанием ТЛ ОВ. Кроме того, в литературе приводятся сведения о взаимосвязи содержания ТЛ ОВ с количеством легких фракций ОВ в почве [22, 33, 39, 40].

В свою очередь, ТС ОВ обычно относят к малодоступной для биodeградации части ОВ. Есть сведения, что при пиролизе почв может происходить мобилизация составляющих пассивного негидролизующего пула ОВ [45, 46].

Целью настоящего исследования было сравнительное изучение молекулярного состава ТЛ и ТС пулов ОВ типичных черноземов разных видов землепользования методом двухстадийного пиролиза с последующим газохроматографическим разделением и масс-детекцией продуктов. Объектами исследования были типичные черноземы различного землепользования многолетних полевых опытов, отличающиеся преобладающим направлением трансформации ОВ. В качестве объектов, где преобладающим процессом является накопление ОВ вследствие непрерывного поступления органических остатков в течение вегетационного сезона, рассматривали ненарушенный чернозем и чернозем, находящийся в состоянии залежи после бесменного чистого пара в течение 33 лет. Примерами почв, в которых происходит накопление ОВ при поступлении свежих органических остатков и его деградации при отчуждении ОВ, были черноземы, вовлеченные в сельскохозяйственное использование. В качестве почвы, в которой преобладающим процессом трансформации ОВ является его деградация, исследовали чернозем, находящийся 50 лет в состоянии бесменного черного пара.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

**Отбор и характеристика почвенных образцов.** Образцы почв отбирали в Курской области в 2014 г. на участках многолетних полевых опытов ФГБНУ “Курский ФАНЦ” (рядом с пос. Черемушки) и Центрально-черноземного биосферного заповедника им. В.В. Алехина, заложенных на черноземе типичном [3] на лёссовидном суглинке (Haplic Chernozem (Loamic, Pachic)) [25] из гумусовых горизонтов с глубины 0–15 см. Всего отобрано 42 почвенных образца из шести разных вариантов землепользования. Варианты: бесменный черный пар с 1964 г. (далее обозначен как “пар”); залежь с 1998 г. после бесменного чистого пара с 1964 г. (“залежь”); бесменный картофель с 1964 г. (“картофель”); бесменная кукуруза с 1964 г. (“кукуруза”); пятипольный зернопаропропашной севооборот по схеме чистый пар–озимая пшеница–сахарная свекла–кукуруза–ячмень с 1964 г. (“севооборот”); участок ненарушенного чернозема типичного ежегодной косимой степи (“степь”). Подробное описание объектов исследования и отбора образцов представлено ранее [10].

Актуальную кислотность почв определяли согласно [7]. Содержание органического углерода (С) и азота (N) в почве исследовали каталитическим сжиганием при 960°C [24] в токе кислорода на элементном анализаторе Vario Macro Cube (Elementar Analysen Systeme GmbH, Германия). Основные агрохимические характеристики исследованных почв приведены в табл. 1.

Гранулометрический состав исследуемых почв – тяжелый суглинок [5, 8].

**Таблица 1.** Основные агрохимические характеристики типичных черноземов разного землепользования (среднее  $\pm$  стандартное отклонение,  $n = 5$ )

Вариант	pH H <sub>2</sub> O	C, %	N, %	C/N
Степь	6.60 <sup>a*</sup> $\pm$ 0.07	5.72 <sup>d</sup> $\pm$ 0.28	0.48 <sup>d</sup> $\pm$ 0.05	12.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.1
Залежь	6.65 <sup>a</sup> $\pm$ 0.20	3.69 <sup>c</sup> $\pm$ 0.27	0.29 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.02	12.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.3
Севооборот	6.32 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11	3.48 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	0.29 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.01	12.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.3
Кукуруза	6.29 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08	3.27 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.27 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	12.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1
Картофель	6.37 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06	3.44 <sup>c</sup> $\pm$ 0.08	0.30 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	11.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.5
Пар	6.42 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09	2.79 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.23 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	11.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.3

\* Одинаковые буквы указывают на принадлежность к одной группе по результатам дисперсионного анализа ( $p < 0.05$ ).

По значению актуальной кислотности исследованные черноземы не различались, а колебания показателя pH (6.32–6.60) характерны для рассматриваемых почв [6]. Содержание углерода убывало в ряду почв вариантов: степь > залежь  $\approx$   $\approx$  севооборот  $\approx$  картофель > кукуруза > пар. Максимум содержания азота наблюдали в черноземе варианта степь, минимум – варианта пар, остальные черноземы были близки между собой по этому показателю. По величине отношения C/N почвы разного землепользования образовывали ряд: залежь  $\approx$  степь  $\approx$  севооборот > кукуруза > > картофель > пар. Так как показатель C/N отражает уровень разложения ОБ [48], можно предположить, что в рассматриваемом ряду использования черноземов наименьшая разложенность ОБ характерна для почвы варианта залежь, а наибольшая – для варианта картофель.

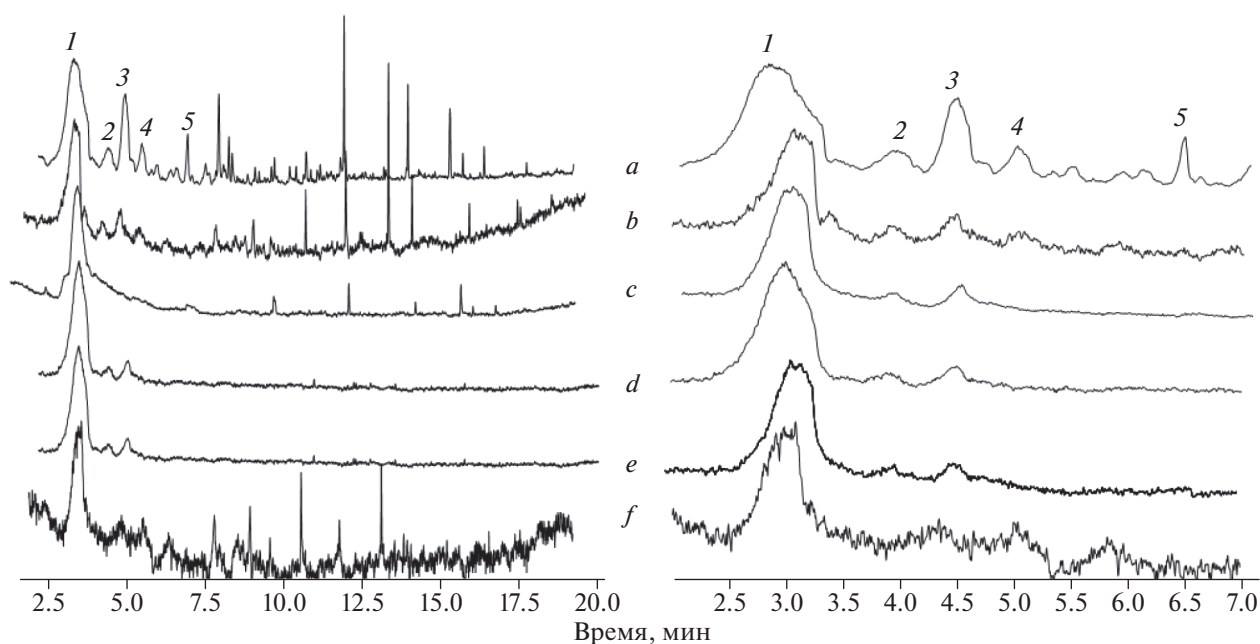
**Оценку молекулярного состава термических пулов ОБ** проводили с помощью двухстадийного пиролиза и ГХ–МС. Навеску почвы для анализа массой около 10 мг отбирали на весах Ohaus Discovery DV215CD (Ohaus Corporation, США) с наименьшим пределом взвешивания 1 мг с дискретностью до 0.01 мг. Двухстадийный пиролиз проводили на приборе Multi-Shot Pyrolyzer EGA/PY-3030D (Frontier Lab Ltd., Fukushima, Япония). В процессе первой стадии для мобилизации ТЛ ОБ образец нагревали в инертной атмосфере от 100 до 300°C со скоростью 30°C/мин и проводили минутную экспозицию при 300°C. Для анализа ТС пула ОБ, проводимого в ходе второй стадии, тот же образец подвергали пиролизу при 500°C в течение 1 мин [9, 42].

Разделение и анализ выделившихся пиролизатов проводили на газовом хроматографе с масс-детектором GCMS-QP2010Ultra (Shimadzu, Япония) на капиллярной неполярной колонке DB5 MS (длина колонки 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм). Параметры хроматографирования пиролизатов следующие: начальную температуру 50°C поддерживали в течение 5 мин, затем повышали до 150°C со скоростью 10°C/мин, удерживали при 150°C в течение 7 мин, далее повышали до 280°C со скоростью 5°C/мин и удерживали в течение 5 мин, далее до 300°C со скоростью 10°C/мин и временем

удерживания 7 мин. Масс-детектор сканировал молекулярные массы от 50 до 600  $m/z$ .

Идентификацию соединений проводили с использованием программного обеспечения GCMS Postrun Analysis с предустановленной библиотекой Mass Spectral Library (NIST 11). Молекулярную структуру ТЛ и ТС ОБ оценивали внутренней нормализацией идентифицированных пиролизатов [17]. Содержание веществ оценивали на основе соответствующих пиков на пиелограммах – зависимость общего ионного тока (ОИТ) от времени. В расчет не принимали пики, для которых отношение сигнал/шум было меньше 3. В связи с тем, что хроматограммы ТЛ ОБ содержали хорошо обособленные, но широкие пики, оценку содержания проводили по площади ОИТ. Хроматограммы ТС ОБ, напротив, содержали много выраженных узких, но плохо разрешенных пиков, поэтому в этом случае, оценку содержания пиролизатов проводили по высоте [29]. При расчетах из рассмотрения исключали пики, обусловленные соединениями силоксанов, связанные с частичным разрушением материала хроматографической колонки, и фталатов, поступающих из пластиковой тары. Следует обратить внимание, что полученные значения относительного содержания продуктов пиролиза представляют собой количественную оценку обилия фрагментов, а не процент веса соединения. Так как молекулярная масса продуктов пиролиза не одинакова, а варьирует в диапазоне от 60 до 450 Да, то рассчитываемое относительное содержание соединения не прямо пропорционально содержанию С, представленного конкретным продуктом пиролиза [19].

Идентифицированные продукты пиролиза объединяли согласно их происхождению и сходству химической структуры в несколько групп согласно [37]: полисахариды, ациклические углеводороды (алканы, алкены, метилкетоны), ароматические углеводороды, полиядерные ароматические углеводороды (ПАУ) и N-содержащие соединения. При необходимости проводили дополнительное деление групп соединений на подгруппы или выделяли индивидуальные соединения. Все идентифицированные вещества и группы, к ко-



**Рис. 1.** Пирограммы ТЛ ОВ типичных черноземов, варианты землепользования: *a* – степь, *b* – залежь, *c* – севооборот, *d* – кукуруза, *e* – картофель, *f* – пар; цифрами обозначенные пики следующих веществ: 1 – фурфурол, 2 – 1,4,5-триметилимидазол, 3 – 5-метил-2-фуранкарбоксальдегид (метилфурфурол), 4 – пирролкарбоксальдегид, 5 – левоглюкозенон. Интенсивности ОИТ выровнены по высоте пика 1.

торым они были отнесены, приводятся в сопроводительном материале [26].

Результаты были собраны в матрицу данных, упорядоченную по составу (относительное содержание соединений различных групп) и типу образцов (вариант землепользования). Для ТЛ ОВ матрица содержала 58 образцов и 7 переменных, для ТС ОВ – 47 образцов и 25 переменных. Данные проанализированы методом главных компонент с использованием свободного ПО Gretl (<http://gretl.sourceforge.net/ru.html>).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Молекулярные наборы термолабильного органического вещества типичных черноземов разного землепользования.** Пирограммы ТЛ ОВ типичных черноземов разного землепользования приведены на рис. 1. Из представленным пирограммам видно, что чернозем варианта степь содержит максимальное количество пиков, что свидетельствует о наибольшем разнообразии состава его ТЛ ОВ. Далее следуют почвы вариантов залежь и севооборот, затем вариантов кукуруза, картофель и пар, которые характеризуются сравнительно бедным молекулярным составом ТЛ ОВ. Полные списки определенных веществ для черноземов разного землепользования, площади и высоты полученных пиков и использованные навески приводятся в [27].

Пирограммы чернозема варианта пар характеризовались низким отношением сигнал/шум. Это связано с низким содержанием ТЛ ОВ в этой

почве, что подтверждается низкими величинами ОИТ пиков пирограмм по сравнению с другими вариантами (см. [27]). Например, среднее значение содержания фурфурола, оцениваемое по высоте пика, для чернозема варианта степь составило  $2.9 \times 10^9$  ОИТ/г, для варианта севооборот  $2.1 \times 10^9$  ОИТ/г, а для варианта пар на порядок меньше:  $2.2 \times 10^8$  ОИТ/г. Низкое содержание ТЛ ОВ в варианте пар можно объяснить отсутствием поступления свежих растительных остатков. Кроме почвы варианта пар, низкое отношение сигнал/шум отмечали для чернозема варианта залежь. Выход ТЛ ОВ в этом случае также был относительно низким, так средняя оценка содержания фурфурола составила  $6.3 \times 10^8$  ОИТ/г [27].

Основными полисахаридными соединениями, обнаруженными в пиролизатах ТЛ ОВ черноземов типичных разного землепользования, оказались фурфурол, метилзамещенный фурфурол и левоглюкозенон (пики 1, 3, 5, рис. 1). Ранее другие исследователи также отмечали, что эти соединения наиболее часто идентифицируются в продуктах пиролиза почвенного ОВ [12, 21, 37]. То, что эти соединения обнаруживаются именно в ТЛ фракции черноземов, в нашей работе показано впервые.

Фурфурол (пик 1, рис. 1) встречался во всех исследованных черноземах, а метилзамещенный фурфурол (пик 3) обнаружен во всех вариантах, за исключением почвы варианта пар. Появление в продуктах пиролиза фуранов и их производных, в том числе фурфуролов, обусловлено присутстви-

**Таблица 2.** Доля (%) некоторых групп соединений и индивидуальных веществ термолабильного органического вещества черноземов типичных различно землепользования (среднее  $\pm$  стандартное отклонение,  $n = 5$ )

Вещества	Степь	Залежь	Севооборот	Кукуруза	Картофель	Пар
<b>Группы веществ</b>						
полисахариды	72 $\pm$ 9	73 $\pm$ 20	94 $\pm$ 9	94 $\pm$ 7	95 $\pm$ 9	63 $\pm$ 160
ациклические	11 $\pm$ 11	20 $\pm$ 20	4 $\pm$ 4	2 $\pm$ 2	3 $\pm$ 3	37 $\pm$ 29
ароматические	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0	0	0	0
ПАУ	0.1 $\pm$ 0.1	1 $\pm$ 1	0.1 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 1.2	0.1 $\pm$ 0.1	0
N-содержащие	15 $\pm$ 3	5 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2	3 $\pm$ 3	0
<b>Индивидуальные вещества</b>						
фурфурол	46 $\pm$ 13	65 $\pm$ 20	88 $\pm$ 9	90 $\pm$ 7	89 $\pm$ 9	63 $\pm$ 16
метилфурфурол	11 $\pm$ 4	7 $\pm$ 4	6 $\pm$ 4	4 $\pm$ 3	5 $\pm$ 5	0
триметилимидазол	6 $\pm$ 2	6 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	4 $\pm$ 0.5	4 $\pm$ 3	0

ем в ОВ полисахаридов растительного происхождения [37, 48]. Поэтому обнаружение фурфурола в почве варианта пар, где исключено поступление значительного количества свежих органических остатков растительного происхождения, может свидетельствовать о наличии в этой почве труднорастворимых почвенных полисахаридов. Ранее наличие фуранов (в том числе фурфурола и метилфурфурола) среди пиролизатов ОВ было предложено использовать в качестве диагностического признака присутствия труднорастворимых полисахаридных фрагментов растительной клетки или новообразованных полисахаридов микробного происхождения для коричневых почв (Turic Xerochrept) [43]. С другой стороны, присутствие фурфурола при одновременном преобладании его доли над долей левоглюкозенона, являющегося продуктом пиролиза целлюлозы, указывает на микробное происхождение фурфурола [37]. Такая картина наблюдалась только для чернозема варианта степь (рис. 1).

Левоглюкозенон (пик 5, рис. 1) был обнаружен только для почвы варианта степь. Поэтому это соединение можно рассматривать как маркер ненарушенной почвы. В пользу этого предположения свидетельствуют данные, приводимые в сопроводительном материале к работе [21], где показана значимая отрицательная взаимосвязь между содержанием левоглюкозенона и активностью  $\beta$ -1,4-глюкозидазы, участвующей в гидролизе целлюлозы [21].

Полученные результаты показали, что в качестве маркера поступления в почву свежих органических остатков можно использовать пирролкарбоксальдегид. Он был обнаружен на пирограммах черноземов вариантов степь и залежь (пик 4, рис. 1). Ранее для дерново-карбонатной почвы (Rendzic Leptosol) многолетних опытов присутствие этого N-содержащего вещества было показано в почве при ежегодном мульчировании и отсутствие — при ежегодном выжигании [28].

Среди пиролизатов N-содержащих компонентов ТЛ ОВ черноземов разного землепользования еще следует выделить триметилимидазол (пик 2,

рис. 1), пик которого хорошо различим и идентифицировался в образцах чернозема всех видов землепользования вариантов, кроме варианта пар. Так как наличие этого соединения в продуктах пиролиза обычно связывают с пептидами и аминсахарами [32], полученные результаты указывают на низкое содержание этих веществ в варианте пар.

Относительное содержание групп соединений продуктов пиролиза ТЛ ОВ для каждого варианта использования приведено в табл. 2. Максимальный вклад в продукты пиролиза ТЛ ОВ черноземов вносили соединения группы полисахаридов, что хорошо согласуется с данными предыдущих исследователей [38]. Относительное содержание полисахаридов варьировало от 95 (вариант картофель) до 63% (вариант пар). Хотя продукты пиролиза углеводов могут иметь как растительное, так и микробное происхождение, в большинстве почв полисахаридные продукты являются основными соединениями в пиролизатах из свежего растительного материала [37]. При этом группа полисахаридных фрагментов в образцах варианта пар представлена исключительно фурфуролом, а в почвах вариантов севооборот и монокультуры (кукуруза, картофель) — фурфуролом и метилфурфуролом; доля других полисахаридных фрагментов в ТЛ ОВ незначительна.

Доля азотсодержащих пиролизатов наибольшая в черноземе варианта степь (15%), затем следует залежь (5%), севооборот и монокультуры (кукуруза и картофель) — около 3%. В почве варианта пар органических соединений азота не обнаружено. Очевидно, в этом варианте весь органический азот сохранился только в термостабильном веществе. Среди всех пиролизатов N-содержащих компонентов ТЛ ОВ черноземов разного землепользования следует выделить триметилимидазол (пик 2, рис. 1), пик которого хорошо различим и идентифицировался во всех почвах, кроме почвы варианта пар. Наличие этого соединения в продуктах пиролиза обычно связывают с пептидами и аминсахарами [32], полученные результаты указывают на низкое содержание этих веществ в почва варианта пар.

Доля ациклических углеводов, происхождение которых связано, главным образом, с растительными восками и суберином [34], убывала в ряду: пар > залежь > степь > севооборот > > картофель > кукуруза. Следует отметить вариант пар: состав ТЛ ОВ этого варианта представлен только фурфуролом (63%) и ациклическими соединениями (37%). Если высокая доля фурфуrolа объясняется его устойчивостью в почве, большое относительное содержание ациклических фрагментов, вероятно, связано с отсутствием соединений других групп, прежде всего, ароматических и N-содержащих. Известно, что кутин и суберин, продуктами пиролиза которых являются нормальные алканы и алкены, в почве гораздо более устойчивы к разложению, чем предшественники ароматических и N-содержащих пиролизатов, такие как лигнин, аминокислоты и аминсахара [36]. Поэтому увеличение доли ациклических соединений в продуктах пиролиза является одним из индикаторов уменьшения разнообразия почвенного ОВ с относительным сохранением устойчивых фрагментов как преимущественного направления его трансформации [19]. Верность указанной тенденции увеличения относительного содержания в пиролизатах ациклических соединений при интенсивной деградации почвенного ОВ именно для ТЛ фракции нами показана впервые.

ПАУ присутствовали в небольших количествах в большинстве образцов за исключением варианта пар.

Анализ данных методом главных компонент с использованием значений распределения пиролизатов по основным группам соединений не позволил получить удовлетворительную классификацию черноземов в зависимости от состава их ТЛ ОВ. Поэтому дополнительно в качестве переменных ввели доли индивидуальных соединений, по содержанию которых между вариантами были обнаружены значимые различия: фурфурол, метилфурфурол и триметилимидазол. При построении матриц в этом случае из общего содержания полисахаридных пиролизатов вычитали количество фурфуrolа и метилфурфуrolа, а из азотсодержащих – триметилимидазола. При составлении матрицы в качестве долей индивидуальных соединений использовали не площади этих соединений, определяемые по ОИТ, а относительное содержание, рассчитываемое по площадям характеристических ионов (для фурфуrolа  $m/z$  96, для метилфурфуrolа  $m/z$  110 в присутствии пика  $m/z$  53, для триметилимидазола  $m/z$  110 в присутствии пика  $m/z$  56). Это позволило избежать образования композитных данных (т.е. данных, сумма которых равняется одному и тому же числу, в данном случае 100%) [13]. В результате черноземы разного землепользования были успешно классифицированы в пространстве главных компонент (рис. 2).

Первые две компоненты описывают 63% различий в элементах опробования, и вклад компонент почти равный: первая описывает 32% различий, вторая – 31%. В пространстве первых двух компонент по молекулярному составу ТЛ ОВ хорошо разделяются варианты степь, залежь и пар. От них также хорошо отделимы картофель, севооборот и кукуруза, но между собой эти варианты не различаются. Введение третьей главной компоненты (доля 13%) не улучшает разделение этих вариантов друг от друга.

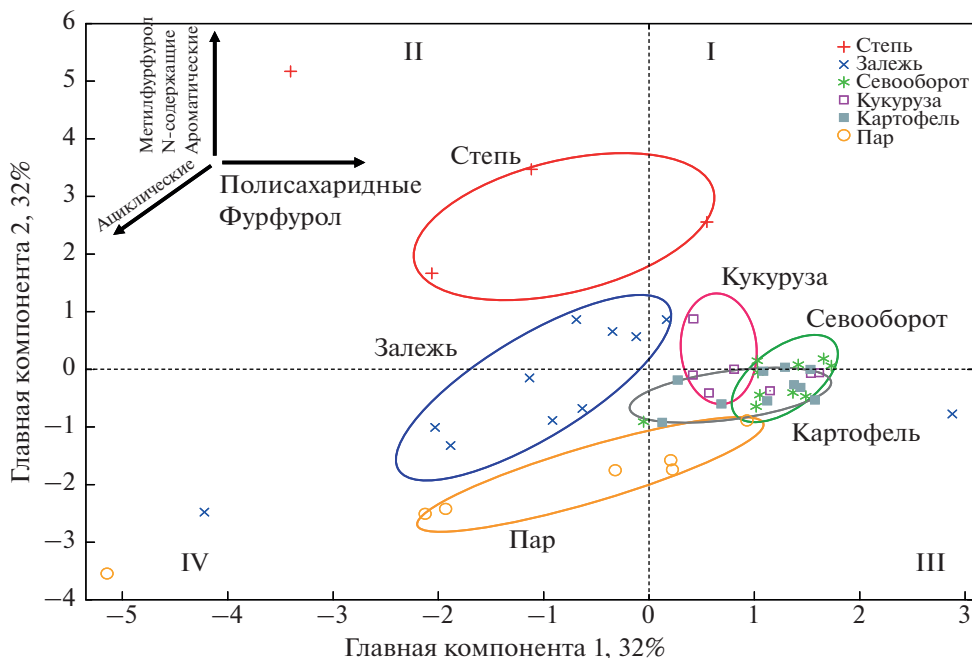
Анализ собственных векторов (табл. 3) показал, что максимальный вклад в различия по первой компоненте вносят (в порядке убывания): доля полисахаридов без фурфуrolа и метилфурфуrolа > > доля фурфуrolа > доля ациклических соединений. Для второй главной компоненты аналогичный ряд выглядит следующим образом: доля метилфурфуrolа > доля N-содержащих соединений без триметилимидазола > доля ароматических соединений.

Анализ пространства главных компонент показывает, что состав ТЛ ОВ хорошо отражает режим поступления и отчуждения растительных остатков в почву: в их пространстве хорошо обособлены ценозы с квазиравновесным состоянием ОВ (вариант степь), деградированным – осталось только стабильное – ОВ (вариант пар) и накоплением ОВ (вариант залежь). От них отделены агроценозы (варианты севооборот, кукуруза, картофель), которые друг от друга практически не отличаются.

На рис. 2 стрелками показаны смещения в пространстве главных компонент в зависимости от содержания различных продуктов пиролиза ТЛ ОВ. Доля полисахаридных фрагментов и фурфуrolа увеличивается при переходе от вариантов степь, залежь пар к севообороту и монокультурам. Режимы деградации, накопления и квазиравновесного режима ОВ последовательно разделяются при увеличении доли азотсодержащих фрагментов, ароматических фрагментов и метилфурфуrolа.

**Молекулярные наборы термостабильного органического вещества типичных черноземов разного землепользования.** В отличие от ТЛ ОВ, ТС ОВ представлено соединениями, более устойчивыми в окружающей среде и имеющими большее время оборота в почве [33]. Пирограммы ТС ОВ черноземов разного вида использования представлены на рис. 3. В целом пирограммы имели форму, характерную для продуктов пиролиза ОВ почв, получаемую на слабополярных колонках типа DB5 MS [42]. Большее количество веществ выходило в начале колонки, что указывает на общую полярность пиролизатов ТС ОВ. Для черноземов вариантов степь и залежь наблюдается заметно большее количество пиков по сравнению со всеми другими видами использования этих почв.

Всего в пиролизатах ТС ОВ исследуемых черноземов обнаружено около двух тысяч соедине-



**Рис. 2.** Распределение гумусовых горизонтов типичных черноземов разного землепользования в пространстве главных компонент в зависимости от состава термолabileного ОВ.

ний [26]. Идентифицированные соединения были распределены на группы веществ аналогично группам, ранее выделенным при анализе ТЛ ОВ. Большое разнообразие определяемых продуктов пиролиза ТС ОВ позволило дополнительно практически в каждой группе выделить подгруппы (табл. 4). В полисахаридах была обособлена подгруппа инданов (производные индана и индена), в группе ароматических соединений – лигниновые производные: кумаровые (нет метокси-группы), гваяколовые (одна метокси-группа при фенольном кольце) и синаповые (две метокси-группы) согласно [4]. Азотсодержащие пиролизаты дополнительно подразделяли на азолы, диазины, пирролы, пиридины, индолы, хинолины, амины. Кроме того, рассчитывали долю соединений, содержащих гетероциклический N (сумма азолов,

диазинов, пиридинов, пирролов и хинолинов) и алифатический N (сумма веществ с аминогруппами, амидами и нитрильными группами). В качестве индивидуальных веществ в группе ароматических выделяли толуол и фенол, так как они имели стабильные хорошо выраженные пики во всех почвах и обыкновенно являются наиболее распространенными ароматическими соединениями, обнаруживаемыми при пиролизе почвенного ОВ [19].

В отличие от ТЛ ОВ с максимальной долей полисахаридных фрагментов, наибольшая доля продуктов пиролиза ТС ОВ черноземов принадлежала N-содержащим соединениям, по возрастанию относительного содержания которых, почвы исследованных вариантов образовывали ряд: севооборот ~ залежь ~ степь < картофель ~ кукуруза < пар. Установленная зависимость, по-види-

**Таблица 3.** Собственные векторы\* молекулярных фрагментов термолabileного органического вещества, использованные для классификации черноземов в пространстве главных компонент, %

Продукты пиролиза	Главная компонента	
	1	2
Полисахариды без фурфурола и метилфурфурола	<b>0.591</b>	0.132
Фурфурол (по $m/z$ 96)	<b>0.527</b>	-0.141
Метилфурфурол (по $m/z$ 110)	-0.002	<b>0.529</b>
Ациклические	<b>-0.474</b>	<b>-0.392</b>
Ароматические	-0.237	<b>0.413</b>
ПАУ	-0.09	0.301
N-содержащие без триметилимидазола	-0.245	<b>0.436</b>
Триметилимидазол (по $m/z$ 110)	0.155	0.279

\* Жирным шрифтом выделены собственные векторы, дающие максимальный вклад в различия.

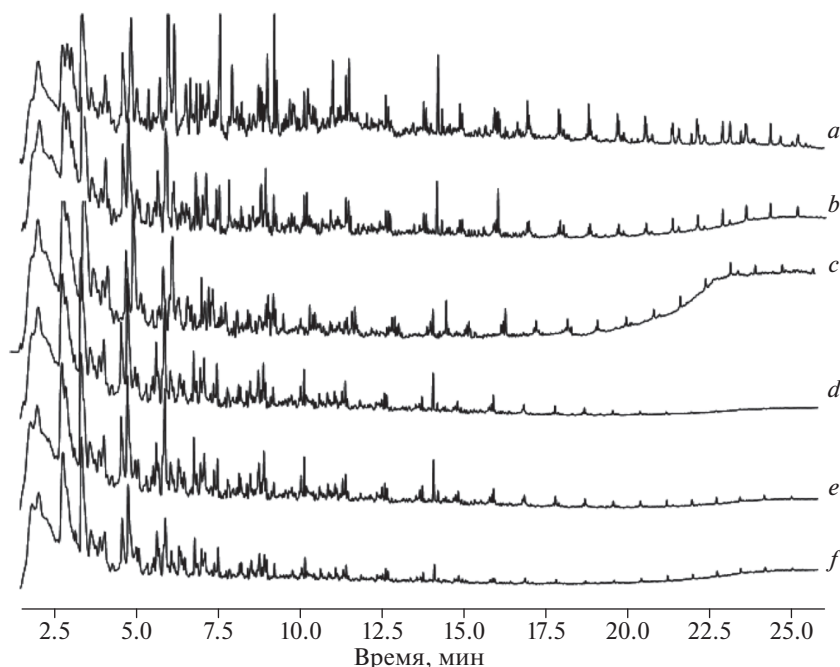


Рис. 3. Пирограммы ТС ОВ типичных черноземов различного землепользования: *a* – степь, *b* – залежь, *c* – севооборот, *d* – кукуруза, *e* – картофель, *f* – пар; интенсивности ОИТ выровнены по высоте первого пика.

тому, указывает на переход в этом ряду от преимущественно растительных соединений азота в почве к микробным [37]. Это хорошо согласуется с установленным ростом содержания пиридинов в почвах ряда степь ~ залежь < севооборот ~ картофель ~ кукуруза < пар, указывающим на увеличение степени разложения почвенного ОВ вследствие микробиологической деструкции [48].

N-содержащие соединения, максимальная доля которых была обнаружена в почве варианта пар, в значительной степени представлены пяти- и шестичленными гетероциклическими соединениями (азолы и пиридины), что указывает на их термодинамическую устойчивость в почвах. Отметим, что в ТЛ ОВ, максимальная доля N-содержащих веществ была в черноземах вариантов степь, а в образцах варианта пар их не обнаружено.

Доля полисахаридных фрагментов была наименьшей в почве варианта степь, наибольшей – в почве варианта севооборот (табл. 4). Так как наиболее часто полисахаридные продукты являются основными соединениями в пиролизатах из свежего растительного материала [37], наблюдаемые относительно высокие значения доли этих соединений в почвах интенсивного землепользования (варианты севооборот, кукуруза, картофель) могут объясняться поступлением пожнивных остатков. Сопоставляя с ТЛ ОВ, следует отметить выраженный рост относительного накопления доли труднорастворимых полисахаридов, представленных фурфуролом, а ТС ОВ более разнообразно, и эта тенденция не столь явно выражена.

Максимальная доля ациклических углеводов была обнаружена в пиролизатах ТС ОВ почвы варианта степь (в почве варианта залежь была сходная доля), минимальная – варианта пар. Как и в случае ТЛ ОВ, наблюдаемая закономерность связана с тем, что основными предшественниками ациклических углеводов в продуктах пиролиза являются кутины и суберин [34]. Поэтому низкая доля ациклических углеводов в ТС ОВ чернозема варианта пар связана с отсутствием поступления свежих остатков растительного характера в эту почву. С другой стороны, высокая доля этих соединений в черноземах вариантов степь и залежь объясняется, скорее всего, значительным поступлением в данном случае растительной биомассы. Высказанное предположение о высоком поступлении растительных остатков в почвы вариантов степь и залежь хорошо согласуется с большим содержанием в них лигниновых фрагментов (12 и 7% соответственно). В целом, доли ароматических и ациклических соединений в ТС ОВ черноземов разного землепользования были приблизительно одинаковы, что может указывать на то, что липиды и лигнин являются источником ТС ОВ в равной степени [29].

На основе долей веществ разных групп в ТС ОВ чернозема были распределены в пространстве главных компонент. Однако в связи с тем, что относительное содержание классов веществ, выраженное в процентах, является композитными данными [13], при расчете методом главных компонент не учитывали группу “другие” пред-



**Таблица 4.** Доля (%) молекулярных фрагментов в термостабильном органическом веществе черноземов разного вида землепользования (среднее  $\pm$  стандартное отклонение,  $n = 5$ )

Группы (подгруппы) веществ	Степь	Залежь	Севооборот	Кукуруза	Картофель	Пар
Полисахаридные						
инданы	2 $\pm$ 0.8	3 $\pm$ 1.1	4 $\pm$ 0.7	3 $\pm$ 3	3 $\pm$ 1.3	2 $\pm$ 0.7
другие	19 $\pm$ 4	24 $\pm$ 5	28 $\pm$ 6	26 $\pm$ 26	25 $\pm$ 4	25 $\pm$ 3
сумма	21 $\pm$ 4	26 $\pm$ 6	32 $\pm$ 6	28 $\pm$ 28	29 $\pm$ 5	27 $\pm$ 3
Ароматические						
лигнинные (сумма*)	12 $\pm$ 2	7 $\pm$ 3	4 $\pm$ 3	6 $\pm$ 6	6 $\pm$ 3	4 $\pm$ 2
кумаровые	3 $\pm$ 1.4	5 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	6 $\pm$ 6	5 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2
гваяколовые	6 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1.0	2 $\pm$ 1.5	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0.9	1 $\pm$ 1.0
синаповые	2 $\pm$ 1.8	0 $\pm$ 0.2	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0.9
толуол	2 $\pm$ 0.6	2 $\pm$ 0.4	4 $\pm$ 0.4	3 $\pm$ 3	3 $\pm$ 0.5	4 $\pm$ 0.8
фенол	2 $\pm$ 0.7	3 $\pm$ 0.2	3 $\pm$ 0.2	3 $\pm$ 3	3 $\pm$ 0.1	3 $\pm$ 0.5
другие	5 $\pm$ 1	7 $\pm$ 2	9 $\pm$ 3	6 $\pm$ 6	7 $\pm$ 4	7 $\pm$ 4
сумма	21 $\pm$ 2	18 $\pm$ 2	19 $\pm$ 3	19 $\pm$ 19	19 $\pm$ 4	17 $\pm$ 3
N-содержащие						
азолы	4 $\pm$ 1.5	3 $\pm$ 1.6	5 $\pm$ 3.8	8 $\pm$ 8	5 $\pm$ 2.9	9 $\pm$ 2.2
диазины	2 $\pm$ 1.2	3 $\pm$ 1.4	2 $\pm$ 1.8	2 $\pm$ 2	3 $\pm$ 2.0	2 $\pm$ 1.9
пирролы	1 $\pm$ 0.9	2 $\pm$ 1.4	2 $\pm$ 1.2	2 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1.6	1 $\pm$ 0.9
пиридины	4 $\pm$ 0.7	4 $\pm$ 1.7	7 $\pm$ 2.3	7 $\pm$ 7	6 $\pm$ 1.4	8 $\pm$ 1.9
индолы	3 $\pm$ 0.6	2 $\pm$ 1.2	1 $\pm$ 0.9	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1.2	1 $\pm$ 0.8
хинолины	1 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 0.6	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0.3	1 $\pm$ 0.4
гетероциклический N**	15 $\pm$ 2.3	15 $\pm$ 4.9	18 $\pm$ 3.8	22 $\pm$ 22	19 $\pm$ 3.9	22 $\pm$ 2.5
амины	2.1 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 1.3	1.2 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 2.1	2.7 $\pm$ 2.0	3.5 $\pm$ 0.8
алифатический N	8 $\pm$ 0.7	7 $\pm$ 1.5	5 $\pm$ 1.0	7 $\pm$ 7	9 $\pm$ 2.7	11 $\pm$ 1.3
другие	4 $\pm$ 0.8	2 $\pm$ 1.5	2 $\pm$ 1.5	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 0.4	2 $\pm$ 1.0
сумма	28 $\pm$ 3	27 $\pm$ 2	25 $\pm$ 4	31 $\pm$ 31	30 $\pm$ 5	35 $\pm$ 2
Ациклические	28 $\pm$ 3	27 $\pm$ 2	25 $\pm$ 4	31 $\pm$ 31	30 $\pm$ 5	35 $\pm$ 2
ПАУ	3 $\pm$ 1	6 $\pm$ 2	6 $\pm$ 2	6 $\pm$ 6	5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1
Другие	2 $\pm$ 0.4	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0.7	1 $\pm$ 0.9

\* Здесь: сумма – сумма всех лигнинных фрагментов – кумаровых, гваяколовых и синаповых.

\*\* Гетероциклический N – сумма всех фрагментов, содержащих гетероцикл азота: азолов, диазинов, пирролов, пиридинов, индолов, хинолинов.

полагая, что потери информации в этом случае минимальны.

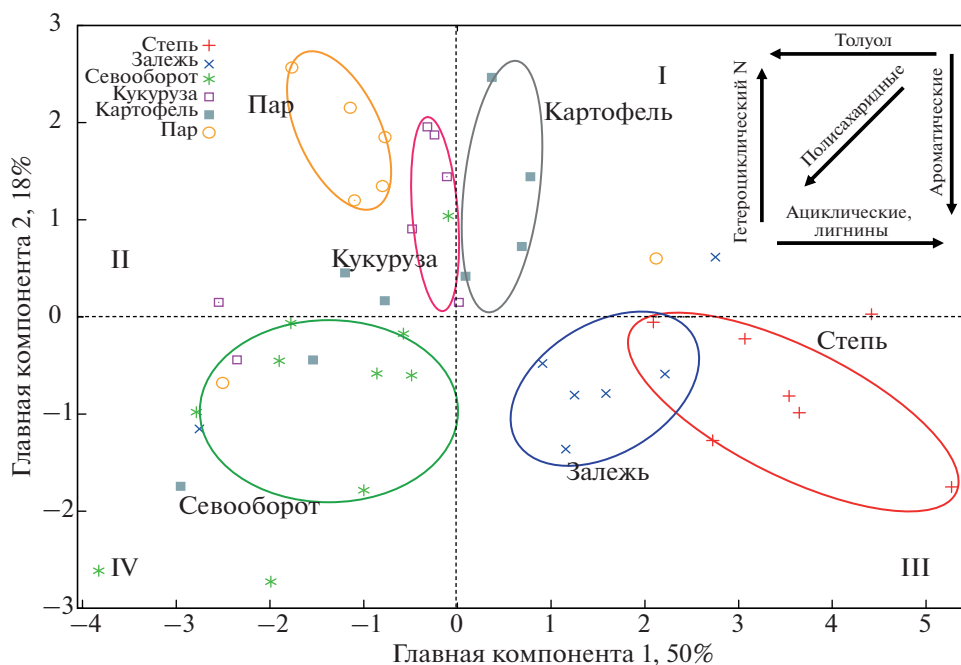
В отличие от ТЛ ОБ, метод главных компонент, проведенный с использованием полученной матрицы, не позволил получить удовлетворительного разделения исследуемых черноземов на группы землепользования на основании данных о составе их ТС ОБ. Чтобы преодолеть это затруднение, группы соединений продуктов пиролиза комбинировали для получения распределения, наиболее полно отражающего отличия в землепользовании чернозема. Критериями были максимальные величины суммы первых двух компонент и совмещение одинаково изменяющихся близких факторов. Например, если с первой по третью компоненту значения собственных векторов одинаково изменялись у близких по строению фрагментов ОБ (например, у шести- и пятичленных гетероциклов азота), то эти подгруппы складывали, и вновь проводили анализ методом главных компонент.

В итоге, для построения пространства главных компонент были использованы 9 переменных

(табл. 5): доли полисахаридов, ациклических углеводов, лигнинных фрагментов, фенола, толуола, “других” ароматические углеводов, ПАУ, алифатических и гетероциклических N-содержащих соединений.

Как видно из рис. 4, первая и вторая главные компоненты описывают 68% различий в элементах опробования, что приблизительно соответствует величине, полученной для ТЛ ОБ (63%). Однако в пространстве первых двух компонент по молекулярному составу ТС ОБ, только почвы вариантов степь и залежь отделены от других вариантов. Введение третьей главной компоненты (доля 13%) не улучшает разделение этих вариантов друг от друга. Почвы вариантов степь и залежь расположены близко друг к другу, частично перекрываются, что указывает на близость состава ТС ОБ этих вариантов.

Анализ собственных векторов позволяет выявить вклад веществ разных классов в различия черноземов. Для первой главной компоненты показателями, вносящими наибольший вклад, было



**Рис. 4.** Распределение гумусовых горизонтов типичных черноземов разного землепользования в пространстве главных компонент в зависимости от состава термостабильного ОВ. Римскими цифрами обозначены четверти пространства главных компонент.

содержание толуола, ациклических и лигниновых фрагментов, а для второй компоненты — содержание соединений с гетероциклическим азотом и содержание ароматических фрагментов без лигниновых, толуола и фенола. Для наглядности на рис. 4 стрелками показано направление смещения объекта при возрастании показателя. Увеличение доли ациклических и лигниновых фрагментов, совместно с уменьшением содержания толуола в продуктах пиролиза, вызывает смещение вправо по первой компоненте. В первую очередь, оно описывает различия между почвами вариантов залежь и степь, как друг от друга, так и от всех остальных. Почвы вариантов пар, кукуруза и картофель хуже отделяются по этим показателям,

так как все части наблюдений перечисленных вариантов попадали в разные четверти пространства главных компонент. Так, хотя большинство точек, относящихся к варианту пар, располагается в четвертях II и IV, одна из них находится в квадрате I. Это указывает на то, что внутри массива наблюдений, относящихся к варианту пар, происходит разделение как по первой, так и по второй компонентам. В целом можно сказать, что проведенный анализ методом главных компонент позволяет отделить непахотные варианты (степь и залежь) от пахотных (пар, севооборот, кукуруза, картофель). Вероятно, это объясняется тем, что по сравнению с ТЛ фракция ТС более устойчива во времени и менее подвержена внешним воздействиям.

**Таблица 5.** Собственные векторы\* молекулярных фрагментов ТС ОВ, использованных для классификации черноземов в пространстве главных компонент, %

Продукты пиролиза	Главная компонента	
	1	2
Полисахаридные	-0.381	-0.222
Ациклические	<b>0.423</b>	-0.144
Лигниновые	<b>0.409</b>	0.028
Толуол	<b>-0.432</b>	0.054
Фенол	-0.328	0.413
Ароматические, кроме лигниновых, толуола и фенола	-0.299	<b>-0.473</b>
ПАУ	-0.274	-0.043
Гетероциклический N	-0.139	<b>0.643</b>
Алифатический N	0.173	0.343

\* Жирным шрифтом выделены собственные векторы с максимальным вкладом в различия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Двухстадийный пиролиз с газохроматографическим разделением и масс-детектированием продуктов позволяет определить молекулярный состав термолабильных и термостабильных фракций ОВ без потенциального риска создания артефактов и потери части образца в ходе подготовки к анализу и выделения фракций. Для типичных черноземов различного землепользования подобное исследование проведено впервые.

Основной группой, доминирующей в ТЛ ОВ, являются полисахаридные фрагменты, представленные фуранами: фурфуролом и метилфурфуролом. При этом в режимах острого дефицита свежего ОВ наблюдается увеличение доли фурфуrolа. Левоглюкозенон в ТЛ ОВ можно рассматривать как маркер поступления свежих растительных остатков. Кроме того, о поступлении растительных остатков свидетельствуют относительно высокие доли ациклических и азотсодержащих соединений; эти группы веществ отсутствуют в ТЛ ОВ почв без поступления растительных остатков. Тримитилимидазол — основное азотсодержащее вещество в этом пуле.

ТС ОВ более разнообразно по сравнению с ТЛ пулом. В нем широко представлены полисахаридные, ароматические азотсодержащие группы веществ. Интересно отметить высокую долю азотсодержащих веществ ТС ОВ по сравнению с ТЛ. Наибольшее относительное содержание этой группы отмечено в почве варианта пар, где отсутствует поступление свежих растительных остатков. Доминируют среди азотсодержащих веществ гетероциклические соединения.

Двухстадийный пиролиз с ГХ–МС в сочетании с анализом методом главных компонент позволяет удовлетворительно группировать черноземы типичные по сходству молекулярного состава ТЛ и ТС ОВ в зависимости от вида землепользования. Основными показателями, позволяющими разделять почвы вариантов степь, пар и залежь по ТЛ ОВ, являются доля метилфурфуrolа, доля азотсодержащих соединений без триметилимидазола и доля ароматических соединений. Варианты обрабатываемых почв (севооборот, картофель и кукуруза) в этом пространстве главных компонент образуют единую группу. При разделении почв различного землепользования на основании данных о молекулярном строении ТС ОВ возможно выделение групп почв вариантов степь и залежь, характеризующихся повышенным содержанием в продуктах пиролиза алифатических и лигнинных фрагментов и пониженным — толуола.

## БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена с привлечением оборудования Центра коллективного пользования научным оборудова-

нием “Функции и свойства почв и почвенного покрова” Почвенного института им. В.В. Докучаева.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 19-16-00053 (получение и интерпретация данных), госбюджета, номер ЦИТИС 116020110002-8 (характеристика образцов) и Российского фонда фундаментальных исследований, проект при поддержке РФФИ, проект № 18-316-00101 мол\_а (отбор образцов).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дубовик Е.В., Дубовик Д.В. Взаимосвязь содержания углерода органических соединений и структурного состояния чернозема типичного // Почвоведение. 2019. № 2. С. 171–183. <https://doi.org/10.1134/S1064229319020042>
2. Кирюшин В.И. Управление плодородием почв и продуктивностью агроценозов в адаптивно-ландшафтных системах земледелия // Почвоведение. 2019. № 9. С. 1130–1139. <https://doi.org/10.1134/S1064229319070068>
3. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
4. Ковалев И.В. Биохимия лигнина в почвах. Дис. ... докт. с.-х. наук. М., 2015. 447 с.
5. Кузнецова И.В. Изменения физического состояния черноземов типичных и выщелоченных курской области за 40 лет // Почвоведение. 2013. № 4. С. 434–441. <https://doi.org/10.1134/S106422931304008X>
6. Почвоведение / Под ред. Ковды В.А., Розанова Б.Г. М.: Высшая школа, 1988. 368 с.
7. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Воробьевой Л.А. М.: ГЕОС, 2006. 400 с.
8. Филиппова О.И., Холодов В.А., Сафронова Н.А., Юдина А.В., Куликова Н.А. Микроагрегатный, гранулометрический и агрегатный состав гумусовых горизонтов зонального ряда почв европейской России // Почвоведение. 2019. № 3. С. 335–347. <https://doi.org/10.1134/S1064229319030037>
9. 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* // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2018. Вып. 94. С. 3–18.
10. 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. № 2. С. 184–193. <https://doi.org/10.1134/S1064229319020066>
11. Шапченкова О.А., Анискина А.А., Лоскутов С.Р. Термический анализ органического вещества мерзлотных почв (Среднесибирское плоскогорье) //

- Почвоведение. 2011. № 4. С. 439–446.  
<https://doi.org/10.1134/S1064229311040090>
12. *Abelenda M.S., Buurman P., Camps Arbestain M., Kaal J., Martinez-Cortizas A., Gartzia-Bengoetxe N., Macias F.* Comparing NaOH-extractable organic matter of acid forest soils that differ in their pedogenic trends: a pyrolysis-GC/MS study // *Eur. J. Soil Sci.* 2011. V. 62. P. 834–848.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2011.01404.x>
  13. *Aitchison J.* The statistical analysis of compositional data // *J. Royal Statist. Soc. Series B. (Methodological)*. 1986. V. 44(2). P. 139–177.
  14. *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 // *Eur. J. Soil Sci.* 2011. V. 62. P. 253–266.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01327.x>
  15. *Caesar-Tonthat T.* Soil binding properties of mucilage produced by a basidiomycete fungus in a model system // *Mycological Res.* 2002. V. 106. P. 930–937.  
<https://doi.org/10.1017/S0953756202006330>
  16. *Debosz K., Petersen S.O., Kure L.K., Ambus P.* Evaluating effects of sewage sludge and household compost on soil physical, chemical and microbiological properties // *Appl. Soil Ecol.* 2002. V. 19. P. 237–248.  
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00191](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00191)
  17. *Derenne S., Quenea K.* Analytical pyrolysis as a tool to probe soil organic matter // *J. Analyt. Appl. Pyrolysis.* 2015. V. 111. P. 108–120.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.12.001>
  18. *Estournel-Pelardy C., El-Mufleh Al Hussein A., Dokočil L., Grasset L.* A two-step thermochemolysis for soil organic matter analysis. Application to lipid-free organic fraction and humic substances from an ombrotrophic peatland // *J. Analyt. Appl. Pyrolysis.* 2013. V. 104. P. 103–110.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2013.09.001>
  19. *Ferreira F.P., Vidal-Torrado P., Buurman P., Macias F., Otero X.L., Boluda R.* Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of soil organic matter extracted from a Brazilian mangrove and Spanish salt marshes // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2009. V. 73. P. 841–851.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj2008.0028>
  20. *Gillespie A.W., Saneil H., Diochon A., Ellert B.H., Regier T.Z., Chevrier D., Dynes J.J., Tarnocai C., Gregorich E.G.* Perennially and annually frozen soil carbon differ in their susceptibility to decomposition: Analysis of Subarctic earth hummocks by bioassay, XANES and pyrolysis // *Soil Biol. Biochem.* 2014. V. 68. P. 106–116.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.021>
  21. *Grandy A.S., Sinsabaugh R.L., Neff J.C., Stursova M., Zak D.R.* Nitrogen deposition effects on soil organic matter chemistry are linked to variation in enzymes, ecosystems and size fractions // *Biogeochemistry.* 2008. V. 91(1). P. 37–49.  
<https://doi.org/10.1007/s10533-008-9257-9>
  22. *Gregorich E.G., Gillespie A.W., Beare M.H., Curtin D., Saneil H., Yanni S.F.* Evaluating biodegradability of soil organic matter by its thermal stability and chemical composition // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 91(9). P. 182–191.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.08.032>
  23. *Haynes R.J., Beare M.H.* Influence of six crop species on aggregate stability and some labile organic matter fractions // *Soil Biol. Biochem.* 1997. V. 29. P. 1647–1653.  
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00078-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00078-3)
  24. ISO 10694:1995 Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis).
  25. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014, International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps // FAO. World Soil Resources Reports. 2014. V. 106. 203 p.
  26. *Kholodov V. V.V.* Dokuchaev Soil Science Institute TD–PY SOM derivatives classification // *Mendeley Data.* 2019. V. 1.  
<https://doi.org/10.17632/7zmymh2f5z.1>
  27. *Kholodov V., Farkhodov Yu., Yaroslavtseva N.* Thermolabile and thermostable OM of Chernozems: Substances identified in OM of Chernozems [Typical Chernozems of Kursk area, Russia Haplic Chernozem (Loamic, Pachic) of long-term experiments using double-shot pyrolysis GC MS // *Mendeley Data.* 2019. V. 1.  
<https://doi.org/10.17632/8bnh22dsdk.1>
  28. *Kiersch K., Kruse J., Eckhardt K.U., Fendt A., Streibel T., Zimmermann R., Broll G., Leinweber P.* Impact of grassland burning on soil organic matter as revealed by a synchrotron and pyrolysis mass spectrometry-based multi-methodological approach // *Org. Geochem.* 2012. V. 44. P. 8–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2011.12.002>
  29. *Kisand V., Gebhardt S., Rullkötter J., Simon M.* Significant bacterial transformation of riverine humic matter detected by pyrolysis GC–MS in serial chemostat experiments // *Marine Chem.* 2013. V. 149. P. 23–31.  
<https://doi.org/10.1016/j.marchem.2012.12.003>
  30. *Kuzyakov Y., Mitusov A., Schneckenberger K.* Effect of C3–C4 vegetation change on  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of soil organic matter fractions separated by thermal stability // *Plant and Soil.* 2006. V. 283(1–2). P. 229–238.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-006-0015-2>
  31. *Lara-Gonzalo A., Krüge M.A., Lores I., Gutierrez B., Gallego J.R.* Pyrolysis GC–MS for the rapid environmental forensic screening of contaminated brownfield soil // *Org. Geochem.* 2015. V. 87. P. 9–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2015.06.012>
  32. *Leinweber P., Schulten H.R.* Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter // *J. Analytical Appl. Pyrolysis.* 1999. V. 49. P. 359–383.  
[https://doi.org/10.1016/S0165-2370\(98\)00082-5](https://doi.org/10.1016/S0165-2370(98)00082-5)
  33. *Lopez-Capel E., Sohi S.P., Gaunt J.L., Manning D.A.C.* Use of Thermogravimetry-differential scanning calorimetry to characterize model able soil organic matter fractions // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2010. V. 69(3). P. 136–140.  
<https://doi.org/10.2136/sssaj2005.0930>
  34. *Lorenz K., Lal R., Preston C.M., Nierop K.G.J.* Strengthening the soil organic carbon pool by increasing contributions from recalcitrant aliphatic bio(macro)molecules // *Geoderma.* 2007. V. 142(1–2). P. 1–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.07.013>
  35. *Martens D.A.* Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration // *Soil Biol. Biochem.* 2000. V. 32. P. 361–369.  
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00162-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00162-5)
  36. *Mazetto J.M.L., Melo V.F., Bonfleur E.J., Vidal-Torrado P., Dieckow J.* Potential of soil organic matter molecular chemistry determined by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for forensic investigations // *Sci. Justice.* 2019.  
<https://doi.org/10.1016/j.scijus.2019.07.003>

37. Mehrabian M. Molecular geochemistry of soil organic matter by pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) technique: A review // *J. Soil Sci. Environ. Managem.* 2013. V. 4(2). P. 11–16. <https://doi.org/10.5897/JSSEM12.33>
38. Monreal C.M., Alves M.C., Schnitzer M., Filho S.N.S., Batista Bonini C.S. Mass spectrometry of organic matter influenced by long-term pedogenesis and a short-term reclamation practice in an Oxisol of Brazil // *Can. J. Soil Sci.* 2016. V. 96. P. 64–85. <https://doi.org/10.1139/cjss-2015-0026>
39. Pare T., Dinel H., Moulin A.P., Townley-Smith L. Organic matter quality and structural stability of a Black Chernozemic soil under different manure and tillage practices // *Geoderma.* 1999. V. 91. P. 311–326. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(99\)00011-7](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(99)00011-7)
40. Plante A.F., Fernández 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 Biol. Biochem.* 2011. V. 43(5). P. 1051–1058. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.01.024>
41. Plante A.F., Fernández J.M., Leifeld J. Application of thermal analysis techniques in soil science // *Geoderma.* 2009. V. 153(1–2). P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.08.016>
42. Quéneá K., Derenne S., González-Vila F.J., González-Pérez J.A., Mariotti A., Largeau C. Double-shot pyrolysis of the non-hydrolysable organic fraction isolated from a sandy forest soil (Landes de Gascogne, South-West France): Comparison with classical Curie point pyrolysis // *J. Analyt. Appl. Pyrolysis.* 2006. V. 76(1–2). P. 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2005.12.007>
43. Sáiz-Jiménez C., De Leeuw J.W. Chemical characterization of soil organic matter fractions by analytical pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry // *J. Analyt. Appl. Pyrolysis.* 1986. V. 9(2). P. 99–119. [https://doi.org/10.1016/0165-2370\(86\)85002-1](https://doi.org/10.1016/0165-2370(86)85002-1)
44. Schellekens J., Buurman P., Pontevedra-Pombal X. Selecting parameters for the environmental interpretation of peat molecular chemistry – a pyrolysis-GC/MS study // *Org. Geochem.* 2009. V. 40. P. 678–691. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2009.03.006>
45. Six J., Feller C., Denef K., Ogle S.M., de Moraes S.J.C., Albrecht A. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils-Effects of no-tillage // *Agronomie.* 2002. V. 22(7–8). P. 755–775. <https://doi.org/1051/agro:2002043>
46. Stewart C.E., Paustian K., Conant R.T., Plante A.F., Six J. Soil carbon saturation: concept, evidence and evaluation // *Biogeochemistry.* 2007. V. 86(1). P. 19–31. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9140-0>
47. Volikov A.B., Kholodov V.A., Kulikova N.A., Philippova O.I., Ponomarenko S.A., Lasareva E.V., Parfyonova A.V., Perminova I.V. Silanized humic substances act as hydrophobic modifiers of soil separates inducing formation of water-stable aggregates in soils // *Catena.* 2016. V. 137. P. 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2015.09.022>
48. Wang T., Camps-Arbestain M., Hedley C. Factors influencing the molecular composition of soil organic matter in New Zealand grasslands // *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 2016. V. 232. P. 290–301. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.08.016>

## Thermolabile and Thermostable Organic Matter of Chernozems under Different Land Use

V. A. Kholodov<sup>1, \*</sup>, Yu. R. Farkhodov<sup>1, 2</sup>, N. V. Yaroslavtseva<sup>1</sup>, A. Yu. Aydiev<sup>3</sup>, V. I. Lazarev<sup>3</sup>,  
B. S. Ilyin<sup>3</sup>, A. L. Ivanov<sup>1</sup>, and N. A. Kulikova<sup>2, 4</sup>

<sup>1</sup>Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, 119017 Russia

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

<sup>3</sup>Kursk Research Institute of Agroindustrial Production, Kursk oblast, pos. Cheremushki, 305526 Russia

<sup>4</sup>Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology,” Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

\*e-mail: vkholod@mail.ru

The purpose of the work was a comparative study of the molecular composition of thermolabile (volatilizes at 300°C) and thermostable (volatilizes at 500°C) fractions of organic matter from humus horizons of typical chernozems by two-stage pyrolysis followed by gas chromatographic separation and mass detection of products. The objects of the study were typical chernozems of different land use, characterized by the predominant direction of transformation of organic matter. It was found that the maximum contribution to the pyrolysis products of the thermolabile substance of chernozems was made by compounds of the polysaccharide group, furfural and methylfurfural. The largest share of pyrolysis products of thermostable substance belonged to nitrogen-containing compounds. It is demonstrated for the first time that the application of the principal component analysis to the data on the molecular composition of thermolabile organic matter makes it possible to divide the studied chernozems into groups reflecting the quasi-equilibrium state of soil organic matter, its degradation or accumulation.

**Keywords:** double shot pyrolysis, gas chromatography, mass detection, molecular structure, principal component analysis, Haplic Chernozem (Loamic, Pachic)