

УДК 631.45

**ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ  
АНАЛИТИЧЕСКОГО ДВУХСТАДИЙНОГО  
ПИРОЛИЗА С ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ  
ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ *IN SITU***

© 2018 г. В. А. Холодов<sup>1,2,\*</sup>, Ю. Р. Фарходов<sup>1,2</sup>,

А. Я. Жеребкер<sup>3,4</sup>, Н. В. Ярославцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Почвенный институт им. В.В. Докучаева,  
Россия, 119017 Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2

<sup>2</sup> МГУ им. М.В. Ломоносова,  
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

<sup>3</sup> Сколковский институт науки и технологий,  
Россия, 143025, Московская область, Сколково

<sup>4</sup> Институт энергетических проблем химической  
физики им. В.Л. Тальрозе РАН,  
Россия, 119334, Москва, Ленинский пр-т 38, стр. 2

\* <https://orcid.org/0000-0002-6896-7897> e-mail: [ykholod@mail.ru](mailto:ykholod@mail.ru)

Поступила в редакцию 10.04.2018, после доработки 19.06.2018,  
принята к публикации 15.11.2018

Проведен двухстадийный пиролиз с газовой хроматографией и масс-детекцией (ГХ-МС) продуктов образца типичного чернозема и гуминовых кислот, выделенных из него. Препараты гуминовых кислот подвергали пиролизу при 500, 600 и 700°C. Данные сопоставляли с пирограммами лигнина, полученными в аналогичных условиях. Показано, что 500°C – оптимальная температура для пиролиза гуминовых кислот черноземов. Толуол в продуктах пиролиза можно рассматривать как маркер избыточно высокой температуры проведения эксперимента. Результаты двухстадийного пиролиза почвы и выделенных из нее гуминовых кислот совпали. Восемь продуктов разложения пиролиза почвы совпадали с веществами, определяемыми в ее гуминовых кислотах (при общем количестве 41). В случае термодесорбции почвы таких соединений было только три, и они дублировались при последующем пиролизе образца. Полученные данные свидетельствуют о преимущественно макромолекулярном составе (с доминированием молекул с массой более 1000) гуминовых веществ. Проведенные работы демонстрируют возможность и перспективность исследования почвенного органического вещества, гуминовых веществ в целом, и гуминовых кислот в частности, *in situ* с помощью двухстадийного пиролиза с ГХ-МС окончанием.

*Ключевые слова:* почвенное органическое вещество, типичный чернозем,

гуминовые кислоты, термодесорбция, толуол, молекулярные маркеры  
**DOI:** 10.19047/0136-1694-2018-94-3-18

## ВВЕДЕНИЕ

Гуминовые вещества (ГВ) представляют собой природные рандомизованные сополимеры полиоксиароматических кислот, для которых характерна высокая биофильность и устойчивость к био-разложению. Образование ГВ представляет собой второй по масштабности после фотосинтеза процесс трансформации органического вещества (ОВ) в природе, в который вовлекается около 20 Гт углерода в год. ГВ составляют от 60 до 90% почвенного органического вещества. В биосфере они выполняют аккумулятивную, транспортную, регуляторную, физиологическую и защитную функции ([Кононова, 1963](#); [Орлов, 1990](#); [Иванов и др., 2017](#); [Куликова и др., 2018](#)).

ГВ интенсивно исследуются уже более ста лет, и до сих пор нет единого мнения об их строении и структуре. Недавно в мировой литературе закончился спор являются ли ГВ супрамолекулярными или макромолекулярными структурами ([Piccolo et al., 1996](#); [Perminova, 1999](#)). Подробнее описание дискуссии можно посмотреть в статье [Холодова и др., 2011](#). Стороны пришли к взгляду на ГВ как молекулярный ансамбль, включающий как макромолекулы, так и относительно небольшие соединения с молекулярной массой меньше 500, между которыми могут образовываться водородные (супрамолекулярные) связи, упорядочивающие их.

Однако в последнее время высказываются мнения о том, что ГВ не существуют в почве, и при описании почвенного органического вещества следует говорить о континууме органических соединений ([Lehmann, Kleber, 2015](#)). Авторы полагают, что ГВ образуются в ходе процедуры выделения их из почвы вследствие щелочного гидролиза и полимеризации выделяемых простых веществ. При этом авторы допускают существование ГВ в таких средах, как природные воды, торф и т.п. Для опровержения или подтверждения этого взгляда необходимы исследования почвенных ГВ *in situ*, что делает невозможным применение большинства современных методов (масс-детекции, жидкостной хроматографии и светорассеяния), на основе которых можно судить о присутствии макромолекул.

Одним из немногих подходов для оценки макромолекулярности и молекулярного состава ГВ, применимого без выделения препарата, является двухстадийный аналитический пиролиз с газовой хроматографией и масс-детекцией (ГХ-МС).

Двухстадийный пиролизер разработан для оценки качества полимеров. На первой стадии он медленно нагревает образец до температуры испарения мономеров (обычно 300°C), которые анализируются на ГХ-МС. Затем тот же образец резко нагревают до 500–700°C и анализируют продукты пиролиза. В приложении к почве обычно используют термины “термолабильное” и “термостабильное” ОВ для веществ, мобилизующихся до и после 300°C соответственно. При этом считают, что первое соответствует легко-разлагаемому пулу ОВ, а второе – долгоживущему ([Quénée et al., 2006](#)). Доступный пиролизер для рутинных исследований создан относительно недавно, и публикаций по анализу ОВ почв пока мало, но все они относятся к последним годам. Поиск по базам данных Web of Science с 1975 по 2017 гг. по запросу “double-shot pyrolysis soil” выдает всего 8 ссылок, все они относятся к последним годам – самая ранняя 2004 г.

Расцвет исследований ГВ методом пиролиза приходится на девяностые годы прошлого века, наиболее цитируемый обзор по проблеме – [Saiz-Jimenez, 1994](#). Их сменили бурно развивающиеся и более доступные методы спектроскопии ядерно-магнитного резонанса и масс-спектрометрии ионно-циклотронного резонанса. Однако из-за проблем для изучения ГВ *in situ* в почвенном образце актуально и перспективно применение двухстадийного пиролиза с ГХ-МС.

Цель работы – оценка возможности изучения ГВ без их извлечения из почвы двухстадийным пиролизом с ГХ-МС.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Общая схема работы была следующей:

- выделение препаратов гуминовых кислот (ГК) из почвы;
- подбор условий для пиролиза ГК;
- проведение для ГК двухстадийного пиролиза с ГХ-МС;
- проведение двухстадийного пиролиза для образца почвы, из которого ГК были выделены.

Для работы использовали образцы типичного чернозема ([Классификация..., 1977](#)), или согласно международной классификации ФАО – Chernozem ([WRB, 2014](#)), отобранные на многолетнем опыте Курского НИИ АПП. Опыт, представляющий зернопаропропашной севооборот с внесением минеральных удобрений, ведется с 1964 г., чередование культур: пар, озимая пшеница, сахарная свекла, кукуруза, ячмень. Отбор образцов – после ячменя. Индивидуальные образцы отбирали с площадки опробования радиусом 10 м случайным образом из слоя 0–15 см. Из индивидуальных образцов получали составной образец, с которым и работали.

Выделение препарата ГК проводили согласно протоколу международного гуминового общества IHSS с небольшими изменениями – щелочную экстракцию проводили на воздухе, а не в атмосфере азота ([Swift, 1996](#); [Холодов и др., 2015](#)).

Для выбора условий параллельно с препаратом ГК двухстадийному и одностадийному пиролизу подвергали препарат лигнина (производство Sigma-Aldrich, щелочной лигнин с низким содержанием сульфонатов каталожный номер 471003). Лигнин использовали для сравнения, как близкое по строению к ГК вещество, представляющее собой полимер нерегулярной структуры ([Ковалева, Ковалев, 2015](#)). Навеску для анализа брали около 40 мг, взвешивая с точностью 0.00001 г, повторность – двукратная.

Пиролиз проводили при температуре 500, 600 и 700°C в течение 1 мин. При двухстадийном пиролизе на первой стадии образец нагревали от 100 до 300°C со скоростью 30°C/мин и проводили минутную экспозицию образца при 300°C. Затем, на второй стадии, тот же образец быстро опускали в печь и подвергали пиролизу при 500°C/мин. Для работы использовали пиролизер Multi-Shot Pyrolyzer EGA/PY-3030D (Frontier Lab Ltd., Fukushima, Япония). После пиролиза разделение и анализ выделившихся веществ проводили на газовом хроматомасс-спектрометре GCMS-QP2010Ultra (Shimadzu, Япония) на капиллярной колонке DB5 (30 м, внутренний диаметр 0.25 мм). Начальная температура колонки составляла 50°C, ее поддерживали в течение 5 мин, а 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 удерживанием в течение 5 мин, далее до 300°C со скоростью 10°C/мин и временем

удерживания 7 мин. Для обработки спектров использовали программу GCMS Postrun Analysis с предустановленной библиотекой Mass Spectral Library (NIST 11), вещество считали идентифицированным, если его масс-спектр не менее, чем на 80% совпадал с библиотечным.

Для оценки общего содержания выявленных веществ рассчитывали суммарный интеграл по всем пикам и нормировали его на взятую навеску.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для количественной оценки и сравнения получаемых хроматограмм использовали ряд показателей (табл. 1).

Показатель количества идентифицированных веществ соответствовал индивидуальным пикам на хроматограмме, для которых были идентифицированы вещества. Для оценки общего содержания веществ в пробах использовали два показателя: суммарную площадь и высоту пиков, нормированные на навеску. Площади пиков находили как интегралы по общему ионному току, а высоту как их максимум.

Количество определяемых веществ закономерно увеличивалось при возрастании температуры пиролиза от 59 до 107. При этом общее содержание не изменялось при увеличении температуры, согласно обеим оценкам: и по площади, и по высоте. Близкие оценки содержания веществ указывают на то, что при 500°C мобилизуется столько же вещества, что и при более высоких температурах. Это в

**Таблица 1.** Количественные показатели хроматограмм, полученных для пиролиза препарата лигнина при разных температурах, для оценки содержания веществ использовали хроматограммы общего ионного тока (ОИТ) у.е.

Температура, °C	Вещества, шт.	Оценка содержания веществ			
		площадь ОИТ/мг $\times 10^7$	$\pm \Delta \times 10^{7*}$	высота ОИТ/мг $\times 10^6$	$\pm \Delta \times 10^6$
500	58–59	1.1	0.4	2.5	0.9
600	93–94	1.1	0.2	2.3	0.3
700	106–107	0.95	0.3	2.0	0.6

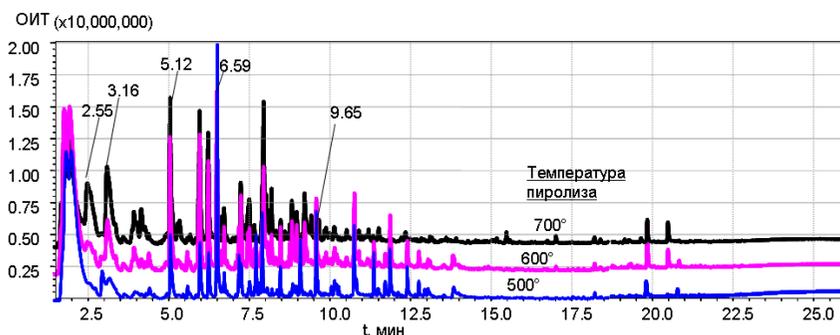
\*  $\pm$  Здесь и далее доверительный интервал для значений в предыдущей колонке,  $\alpha = 0.05$ .

свою очередь указывает на полную мобилизацию доступных веществ уже при 500°C. При этом с увеличением температуры пиролиза часть веществ разрушается при мобилизации, на что указывает увеличение количества индивидуальных соединений с температурой. Качественный состав продуктов пиролиза оценивали анализируя хроматограммы (рис. 1).

В целом хроматограммы имеют схожий характер. Однако ряд простых веществ отсутствует на пирограмме для 500°C и встречается на двух других. Одно из таких характерных веществ – бензол (время удерживания 2.55 мин), другое – толуол (3.16 мин). Содержание фенола (5.12 мин) при 500°C в несколько раз меньше по сравнению с двумя другими вариантами.

Но есть более сложные вещества, которые наоборот присутствуют в пирограмме для 500°C и исчезают при повышении температуры анализа. Наиболее яркий пример – 2-метоксифенол (6.59 мин) – классический мономер лигнина. Вещество дает мощный (максимальный по высоте) пик при 500°C, видно при 600°C и не обнаруживается при 700°C. Похоже ведет себя другой сложный продукт пиролиза лигнина 1-гидрокси-2-ацетил-4-метилбензол (9.65 мин).

Схожие вещества обнаружены и другими исследователями при анализе лигнина, лигносульфонатов и древесных остатков ([Applied pyrolysis, 2006](#)).



**Рис. 1.** Пиролиз препарата лигнина при разных температурах. Зависимость общего ионного тока (ОИТ, у.е.) от времени удерживания вещества на колонке.

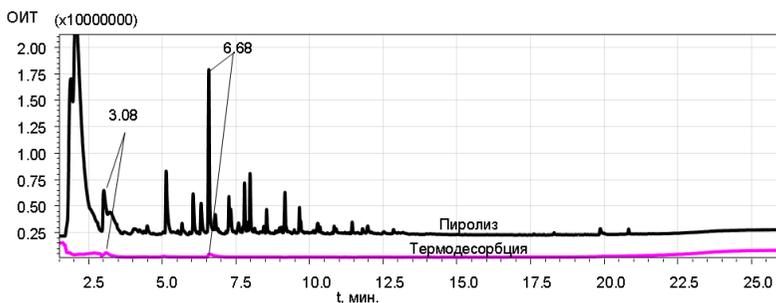
Очевидно, при повышении температуры пиролиза сложные соединений разрушаются до более простых, в результате количество идентифицируемых веществ возрастает при увеличении температуры, а их общее содержание не изменяется.

Таким образом, оптимальной температурой для пиролиза лигнина является 500°C. В таких условиях регистрируются максимально сложные молекулы при достаточной мобилизации препарата. При дальнейшем увеличении температуры они распадаются на более простые вещества.

Для оценки прочности полимерного строения лигнина, препарат подвергли двухстадийному пиролизу, при этом вторую стадию анализа, собственно пиролиз, проводили при 500°C (рис. 2).

При термодесорбции препарата лигнина на хроматограмме можно выделить только два пика с удовлетворительной точностью определения вещества. Это пик со временем удерживания 3.08 мин, соответствующий диметилдисульфиду, и пик при 6.68 – 2-метоксифенола. Первый – побочный продукт при сернокислом гидролизе, возникающий в ходе получения лигнина, второй – мономеры, использованные для синтеза. Аналогичные пики регистрируются и при пиролизе, они отражают разрушение макромолекулы лигнина на исходные мономеры.

Однако в случае термодесорбции величины обоих пиков гораздо ниже по сравнению с полученными в ходе пиролиза. Это указывает на макромолекулярную структуру лигнина, низкомолекуляр-



**Рис. 2.** Двухстадийный пиролиз препарата лигнина. Зависимость общего ионного тока (ОИТ, у.е.) от времени удерживания веществ на колонке.

рные соединения можно рассматривать как примеси. Хроматограмма второй стадии была аналогична полученной для одностадийного пиролиза при 500°C.

Таким образом, для модельного вещества, близкого по составу к ГВ, выбраны оптимальные условия пиролитического исследования. Оптимальной температурой пиролиза является 500°C, а при термодесорбции вещество устойчиво.

Аналогичный подход был применен для подбора условий пиролиза ГК чернозема.

Количественные оценки одностадийных пирограмм приводятся в табл. 2.

Как и в случае с лигнином, оценки содержания веществ в ГК близки. Таким образом, 500°C достаточно для мобилизации ГК. Дальнейшее увеличение температуры пиролиза не улучшает оценку общего содержания вещества, что указывает на полную мобилизацию доступных веществ уже при 500°C.

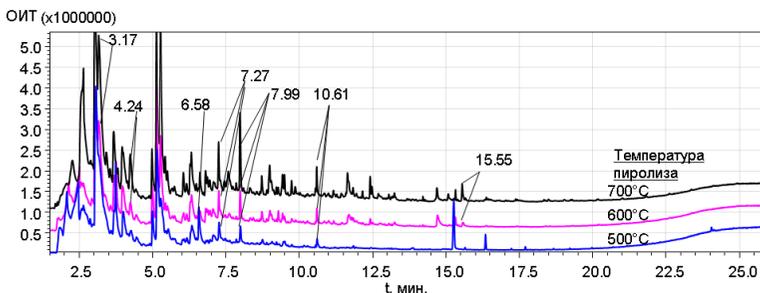
При этом при 500°C идентифицировано 41 вещество, а при повышении до 600°C – 75. Дальнейшее увеличение температуры практически не изменяло параметр. Вероятно, термодеструкция у ГК менее выражена, чем у препарата лигнина.

Хроматограммы одностадийного пиролиза ГК чернозема при 500, 600 и 700°C приведены на рис. 3.

Общий вид хроматограмм близок к получаемым на второй стадии двухстадийного пиролиза негидролизующих фракций органического вещества (Quénéa et al., 2006) и для одностадийного пиролиза гуминовых веществ (Lu et al., 2000).

**Таблица 2.** Количественные показатели хроматограмм, полученные для пиролиза препарата ГК чернозема при разных температурах

Температура, °C	Вещества, шт.	Оценка содержания веществ			
		площадь ОИТ/мг $\times 10^6$	$\pm \Delta \times 10^6$	высота ОИТ/мг $\times 10^5$	$\pm \Delta \times 10^5$
500	40–41	1.7	0.3	2.5	0.8
600	74–75	1.5	0.4	2.8	0.4
700	75–76	1.4	0.4	3.0	0.7

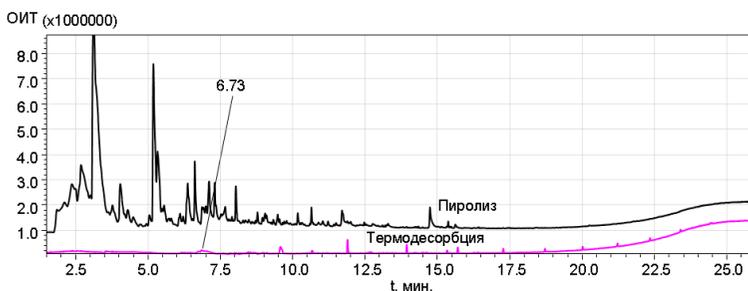


**Рис. 3.** Одностадийный пиролиз ГК чернозема при 500, 600 и 700°C. Зависимость общего ионного тока (ОИТ, у.е.) от времени удерживания веществ на колонке.

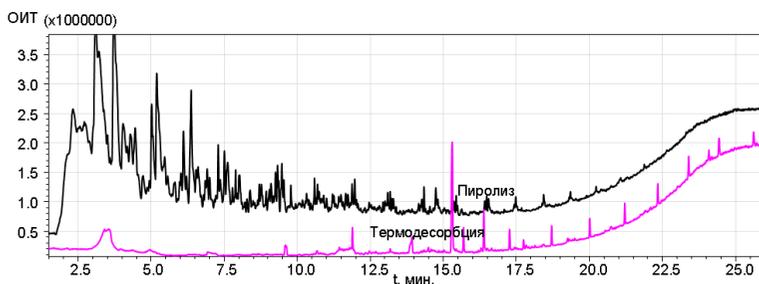
Как и в случае с лигнином, характерная особенность хроматограммы для пиролиза при 500°C – отсутствие многих простых веществ, которые появляются в анализируемых продуктах при повышении температуры. Наиболее характерное вещество – толуол (время удерживания 3.17 мин), который имеет четкий пик при 600 и 700°C пиролиза и отсутствует при 500°C. Причем этот пик четвертый по интенсивности для 700°C. Схожее поведение демонстрирует стирол (4.24 мин). Весьма характерно для всех трех хроматограмм существенное увеличением с ростом температуры пиролиза содержания бензил нитрила (время удерживания 7.27 мин), нафталина (7.99), бифенила (10.61) и фенантрена (15.55). Следует отметить, что появление полиядерных углеводородов в продуктах пиролиза, вероятно, объясняется их мобилизацией при более высокой температуре, а не распадом сложных веществ на более простые.

Хроматограмма продуктов пиролиза при 500°C содержит 2-метоксифенол (6.58 мин) – маркер лигнина, при других температурах, это вещество уже не определяется. Очевидно, оно переходит в толуол. Двухстадийный пиролиз ГК приведен на рис. 4.

При термодесорбции в ГК определено только одно вещество (время удерживания 6.73 мин) – левоглюкозенон – продукт пиролиза целлюлозы. Таким образом, препарат ГК представлен в подавляющем большинстве макромолекулами.



**Рис. 4.** Хроматограммы ГК типичного чернозема при двухстадийном пиролизе. Зависимость общего ионного тока (ОИТ, у.е.) от времени удерживания веществ на колонке.



**Рис. 5.** Хроматограммы ОВ типичного чернозема под севооборотом при двухстадийном пиролизе. Зависимость общего ионного тока (ОИТ, у.е.) от времени удерживания веществ на колонке.

Следующим этапом было изучение ОВ типичного чернозема, из которого были выделены ГК, двухстадийным пиролизом в аналогичных условиях. Полученные пирограммы приводятся на рис. 5.

Сопоставляя полученные хроматограммы с аналогичными для ГК, можно отметить закономерно большее богатство почвенных пирограмм по сравнению с ГК. В почве в случае термодесорбции определяли в среднем 40 веществ, а при пиролизе – 76. Полученные молекулярные наборы сопоставляли с составом ГК, определяемом пиролизом при 500°C. Совпадающие вещества приводятся в табл. 3.

**Таблица 3.** Вещества, обнаруженные при одностадийном пиролизе ГК типичного чернозема, которые совпадают с веществами, отмеченными при двухстадийном пиролизе этой же почвы

Термодесорбция	Пиролиз
1-тетрадецен	1-тетрадецен
5 метил-2-фуранкарбоксальдегид	5 метил-2-фуранкарбоксальдегид
Фурфурол	Фурфурол
	1-ундецен
	1-додеканол
	2-метил-бензофуран
	2-метил-бензоксазол
	Бензонитрил

Три вещества, присутствующие в термолабильном веществе, почвы обнаружены и в продуктах пиролиза ГК. При этом все они дублировались при пиролизе почвенного образца. Восемь веществ, определяемых в почве пиролизом, идентифицировали и в ГК, выделенных из этой почвы. Таким образом, примерно пятая часть веществ в составе ГК совпала при пиролизе почв.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показало исследование для пиролиза черноземов и выделенных из них препаратов ГК оптимальной является температура 500°C. В этих условия общее содержание мобилизуемых веществ сопоставимо с более жесткими режимами, но при этом пирограмма обогащена сложными соединениями, разрушающимися при дальнейшем повышении температуры.

Толуол обнаруживается во всех продуктах пиролиза, как ГК, так и модельного лигнина, но только при температурах от 600°C и выше. По-видимому, его будет удобно использовать для выбора условий пиролиза почв других типов и их ГВ, и можно считать маркером пиролитического разрушения более сложных веществ в первую очередь фенольных метоксидов – маркеров лигнина.

Полученные данные свидетельствуют в пользу преимущественно макромолекулярного состава ГК. В противном случае, если бы ГК *in situ* представляли собой условные “мономеры”, полимеризующиеся в процессе выделения препарата, то при термодесорбции

почвенного образца определялось бы больше веществ, обнаруживаемых в продуктах пиролиза ГК. Однако наблюдалась противоположная картина. Более того, все вещества, выявленные при термодесорбции, появлялись и при пиролизе – классическая картина для химии полимеров, когда пиролизом оценивают состав полимера, а термодесорбцией содержание непрореагировавших или распавшихся мономеров. В отношении ГК эти вещества можно трактовать либо как прекурсоры, либо как продукты разрушения (дегумификации). Однако данный вопрос требует дальнейшего исследования.

Возражением к изложенной трактовке будет мнение, что то, что мы называем ГВ, возможно, присутствует в почве в виде мономеров в сорбированном состоянии на тонкодисперсной минеральной части и может не десорбироваться при нагревании до 300°C. Однако тогда не понятно, как эти вещества полимеризуются, попадая в водную среду, например, в природные воды, на что указывают многочисленные данные УФ-видимой спектроскопии. Этот вопрос нуждается в дальнейшем исследовании.

Проведенные работы демонстрируют возможность и перспективность исследования почвенного органического вещества, ГВ в целом, и ГК в частности, *in situ* с помощью двухстадийного пиролиза с ГХ-МС окончанием, не привлекая каких-либо экстрактивных техник.

**Благодарность.** Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-316-00101, с привлечением оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием “Функции и свойства почв и почвенного покрова” Почвенного института им. В.В. Докучаева.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов А.Л., Козут Б.М., Семенов В.М., Тюрина Оберландер М.И., Ваксман Шанбахер Н. Развитие учения о гумусе и почвенном органическом веществе: от Тюрина и Ваксмана до наших дней // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2017. Вып. 90. С. 3–38. doi: [10.19047/0136-1694-2017-90-3-38](https://doi.org/10.19047/0136-1694-2017-90-3-38)
2. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
3. Ковалева Н.О., Ковалев И.В. Лигниновые фенолы в почвах как биомаркеры палеорастиельности // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1073–1086. doi: [10.7868/S0032180X15090063](https://doi.org/10.7868/S0032180X15090063)

4. Кононова М.М. Органическое вещество почвы. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 315 с.
5. Куликова Н.А., Филиппова О.И., Перминова И.В. [Защитное действие гуминовых веществ по отношению к проросткам пшеницы в условиях водного дефицита](#) // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17, Почвоведение. 2018. № 2. С. 35–39.
6. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1990. 325 с.
7. Холодов В.А., Константинов А.И., Кудрявцев А.В., Перминова И.В. 2011. [Строение гуминовых кислот почв зонального ряда по данным спектроскопии ЯМР <sup>13</sup>C](#) // Почвоведение. 2011. № 9. С. 1064-1073.
8. Холодов В.А., Ярославцева Н.В., Константинов А.И., Перминова И.В. Препаративный выход и свойства гуминовых кислот при последовательных щелочных экстракциях // Почвоведение. 2015. № 10. С. 1222–1231. doi: [10.7868/S0032180X15100056](#)
9. Applied Pyrolysis Handbook / Eds. Wampler T.P. London, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2006. 304 p.
10. Lehmann J., Kleber M.. The contentious nature of soil organic matter // Nature. 2015. V. 528. P. 60–68. doi: [10.1038/nature16069](#)
11. Lu X.Q., Hanna J.V., Johnson W.D. Source indicators of humic substances: An elemental composition, solid state <sup>13</sup>C CP/MAS NMR and Py-GC/MS study // Appl. Geochem. 2000. V. 15. P. 1019–1033. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00103-1](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00103-1)
12. Perminova I. V. Size exclusion chromatography of humic substances: Complexities of data interpretation attributable to non-size exclusion effects // Soil Sci. 1999. V. 164. P. 834–840.
13. Piccolo A., Nardi S., Concher G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids // European J. Soil Sci. 1996. V. 47. P. 319–328.
14. Saiz-Jimenez C. Analytical Pyrolysis of Humic Substances: Pitfalls, Limitations, and Possible Solutions // Environ. Sci. Technol. 1994. V. 28. (11). P. 1773–1780.
15. Swift R.S. Organic matter characterization (chap 35) // Methods of soil analysis. Madison, WI: Soil Science Society of America, 1996. Part 3. P. 1018-1020.
16. Quénéa 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. Anal. Appl. Pyrolysis. 2006. V. 76 (1–2). P. 271–279.

17. World reference base for soil resources 2014. A framework for international classification, correlation and communication, Word Soil Resource Report 106. FAO. Rome, 2014. 181 p.

## **THE ASSESSMENT OF ANALYTICAL DOUBLE-SHOT PYROLYSIS WITH GAS CHROMATOGRAPH-MASS SPECTROMETRY APPLICATION OPPORTUNITY FOR THE HUMIC MATTER INVESTIGATION IN SITU**

**V. A. Kholodov<sup>1,2,\*</sup>, Yu. R. Farkhodov<sup>1,2</sup>,  
A. Zhrebker<sup>3,4</sup>, N. V. Yaroslavtseva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,  
Russia, 119017, Moscow, Pyzhevskii per., 7-2*

<sup>2</sup>*Lomonosov Moscow State University,  
Russia, 119991 Moscow, Leninskie Gory, 1*

<sup>3</sup>*Skolkovo Institute of Science and Technology,  
Russia, 143025, Moscow area, Skolkovo, ul. Novaya 100*

<sup>4</sup>*Institute for Energy Problems of Chemical Physics of RAS,  
Russia, 117829, Moscow, Leninskii prosp., 38, korp. 2*

\* <https://orcid.org/0000-0002-6896-7897>, e-mail: [vkholod@mail.ru](mailto:vkholod@mail.ru)  
Received 10.04.2018, Revised 19.06.2018, Accepted 15.11.2018

Double-shot pyrolysis with gas chromatography and mass detection (Double-shot GC MS) was conducted for a sample of typical chernozem and humic acids separated from it. The humic acids preparations were pyrolyzed at 500, 600 and 700°C. The data were compared with the lignin pyrograms which were obtained under similar conditions. It was shown that 500°C is the optimum temperature for pyrolysis of humic acids obtained from Chernozems. Toluene in pyrolysis products may be considered as a marker of excessively high temperature occurring during the experiment. The results of a Double-shot pyrolysis for the soil itself and the humic acids which were extracted from it were compared. Eight products of the soil pyrolysis coincided with substances determined in humic acids (with a total of 41). In the case of thermal desorption of the soil, there were only three such substances, and they also were detected during subsequent pyrolysis of the soil sample. The data obtained speak about the predominantly macromolecular composition of humic substances. The conducted works demonstrate the possibility and perspective for using the Double-shot pyrolysis GC MS for *in situ* investigation of soil organic matter, humus matter in general and humic acids in particular.

*Keywords:* soil organic matter, typical chernozem, humic acids, thermodesorption, toluene, molecular markers

## REFERENCES

1. Ivanov A.L., Kogut B.M., Semenov V.M., Turina Oberlander M.I., Waksman Schanbacher N. The Development of Theory on Humus and Soil Organic Matter: from Turin and Waksman to Present Days, *Dokuchaev Soil Bulletin*, 2017, V. 90, pp. 3-38. doi 10.19047/0136-1694-2017-3-38
2. *Classification and Diagnostics of Soils of the Soviet Union*. Moscow, Kolos, 1977, 223 p. (in Russian).
3. Kovaleva N.O., Kovalev I.V. Lignin phenols in soils as biomarkers of paleovegetation, *Eurasian Soil Science*, 2015, V. 48 ( 9), pp.1073–1086. doi: 10.1134/S1064229315090057
4. Kononova M.M. *Soil Organic Matter. Its Nature, Its Role in Soil Formation and in Soil Fertility*, Oxford: Pergamon, 1966, 544 p.
5. Kulikova N.A., Filippova O.I., Perminova I.V Protective activity of humic substances in relation to wheat seedlings under water deficiency conditions, *Moscow University Soil Science Bulletin*, 2018, V. 2, pp. 76-80. <https://istina.msu.ru/publications/article/115167519/>
6. Lehmann J., Kleber M. The contentious nature of soil organic matter, *Nature*, 2015, V. 528, pp. 60–68. doi: 10.1038/nature16069
7. Kholodov V.A., Konstantinov A.I., Kudryavtsev A.V., Perminova I.V. Structure of humic acids in zonal soils from <sup>13</sup>C NMR data, *Eurasian Soil Science*, 2011, V. 44, № 9, pp. 976-983. doi: 10.1134/S1064229311090043
8. Kholodov V.A., Yaroslavtseva N.V., Konstantinov A.I., Perminova I.V. Preparative yield and properties of humic acids obtained by sequential alkaline extractions, *Eurasian Soil Science*, 2015, V. 48 (10), pp. 1101-1109. doi: 10.1134/S1064229315100051
9. *Applied Pyrolysis Handbook* / Eds. Wampler T.P. London, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2006, 304 p.
10. Orlov D.S. *Humic acid and general theory of humification*. Moscow. Moscow State University, 1990, 325 p. (in Russian).
11. Perminova I, V. Size exclusion chromatography of humic substances: Complexities of data interpretation attributable to non-size exclusion effects, *Soil Sci.* 1999, V. 164, pp. 834-840.
12. Piccolo A., Nardi S., Concher G. Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids, *European J. Soil Sci.* 1996, V. 47, pp. 319-328.
13. 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):

Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2018. Вып. 94  
Dokuchaev Soil Bulletin, 2018, 94

Comparison with classical Curie point pyrolysis, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2006, V. 76 (1–2), pp. 271–279.

14. Lu X.Q., Hanna J.V., Johnson W.D. Source indicators of humic substances: An elemental composition, solid state  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR and Py-GC/MS study, *Appl. Geochemistry*, 2000, V. 15, pp. 1019–1033. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00103-1](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00103-1)

15. Saiz-Jimenez C. Analytical Pyrolysis of Humic Substances: Pitfalls, Limitations, and Possible Solutions, *Environ. Sci. Technol.*, 1994, V. 28 (11), pp. 1773–1780.

16. Swift R.S. Organic matter characterization (chap 35), *Methods of soil analysis*. Madison, WI: Soil Science Society of America, 1996. Part 3, pp. 1018–1020.

17. *World reference base for soil resources 2014*. A framework for international classification, correlation and communication, Word Soil Resource Report 106. FAO. Rome, 2014, 181 p.

### **Ссылки для цитирования**

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. doi: 10.19047/0136-1694-2018-94-3-18

### **For citation:**

Kholodov V.A., Farkhodov Yu.R., Zhrebker A., Yaroslavtseva N. V. The Assessment of Analytical Double-Shot Pyrolysis with Gas Chromatograph-Mass Spectrometry Application Opportunity for the Humic Matter Investigation *In Situ*, *Dokuchaev Soil Bulletin*, 2018, V. 94, pp. 3-18. doi:10.19047/0136-1694-2018-94-3-18