

УДК 631.421: 631.417.2: 631.433.5

## Новітні інтегративні методи дослідження стабілізації органічного вуглецю за різного обробітку ґрунту

М. А. Попірний<sup>1</sup>, О. П. Сябрук<sup>1\*</sup>, Р. В. Акімова<sup>1</sup>, М. В. Шевченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний науковий центр «Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О. Н. Соколовського», Харків, Україна,

<sup>2</sup>Харківський національний аграрний університет імені В. В. Докучаєва, Харків, Україна

ІНФОРМАЦІЯ	АНОТАЦІЯ
<p>Отримано 18.05.2020 Отримано після доопрацювання 07.09.2020 Затверджено до друку 15.09.2020 Доступно онлайн 01.11.2020</p> <p><i>Ключові слова:</i></p> <p>вуглекислий газ; гумінові кислоти; інтегративні методи; комплексні спектроскопічні методи; обробіток ґрунту; органічний вуглець</p>	<p>У землеробстві однією з технологій повернення втраченого органічного вуглецю є мінімальні та нульовий способи обробітку ґрунту, які сприяють підвищенню вмісту органічної речовини й глобальній стабілізації вуглекислого газу. Але ефективність секвестрації вуглецю в ґрунті обмежена через те, що органічний вуглець швидко вивільняється з ґрунту з поверненням до оранки. Цим і обумовлена актуальність дослідження процесів реагування гумусових молекул, що ведуть до структурування органічної речовини ґрунту, для управління секвестрацією вуглецю та інтегративного моніторингу емісії CO<sub>2</sub>. Метою роботи було виявити процеси реагування гумінових молекул як цілісної супрамолекулярної системи, що визначають стабілізацію ґрунтового вуглецю та обумовлюють динаміку емісії CO<sub>2</sub> з ґрунту з використанням інтегративних біофізико-хімічних параметрів (комплексними спектроскопічними методами). Досліджували зміни інтегрованих характеристик спектрів у комплексному спектроскопічному аналізі всього екстракту гумінових кислот чорнозему типового для виявлення впливу різних способів обробітку на динаміку емісії CO<sub>2</sub> з ґрунту. Комплексний спектроскопічний аналіз виконано в лабораторіях ХНУ імені В. Н. Каразіна та Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів». Інструментальний контроль інтенсивності виділення діоксиду вуглецю з поверхні ґрунту проводили за допомогою портативного газоаналізатора testo 535. За результатами досліджень сучасними спектроскопічними методами нефракціонованих екстрактів гумінових кислот чорнозему типового за різного обробітку виявлено процеси переорганізації гумінової супраструктури, які характеризуються перебудовою міжмолекулярних сил, що зумовлює зміну реакційної здатності та стабільності гумінових кислот. Виявлено, що гумінова супраструктура орного чорнозему типового характеризується високою молекулярною рухомістю, зумовленою гідрофільною позитивною гідратацією та доброю розчинністю, високою сорбційною та комплексуютьовальною здатностями, але слабкою здатністю закріплюватися, внаслідок міграційного «розсіювання» вглиб ґрунтового профілю. Доведено, що найбільшими сумарними обсягами емісії CO<sub>2</sub> з чорнозему типового характеризується технологія прямого посіву (нульового обробітку), чому сприяє кращий водний режим та більш повна мінералізація рослинних решток на поверхні ґрунту. За основного обробітку способом дискування на 10-12 см річні втрати вуглецю найменші. Систематична оранка (6 років поспіль) призвела до зменшення вмісту лабільної органічної речовини і фульвокислот та зниження потенційної здатності до продукування CO<sub>2</sub> у верхньому шарі ґрунту порівняно з поверхневим обробітком та технологією прямого посіву.</p>

\* E-mail: syabryk86@gmail.com

*Форма цитування:* Попірний М.А., Сябрук О.П., Акімова Р.В., Шевченко М.В. Новітні інтегративні методи дослідження стабілізації органічного вуглецю за різного обробітку ґрунту. *Агрохімія і ґрунтознавство*. Міжвід. тем. наук. збірник. Вип. 90. Харків: ННЦ «ІГА ім. О.Н. Соколовського». 2020. С. 13-28. DOI: <https://doi.org/10.31073/acss90-02>.

### 1. Вступ

#### 1.1 Органічна складова ґрунту та сучасна парадигма хімії гумусових речовин

У XXI ст. на передній план висуваються проблеми глобальних змін природного середовища та клімату [1], дефіциту продовольства й енергії [2], втрати біорізноманіття та стійкості ґрунтових екосистем [3] і деградації ґрунтів [3]. Ці проблеми й зумовили домінування не тільки екосистемної але й молекулярної парадигми органічної складової ґрунту [4] в рамках яких, ключовим завданням є розробка теоретичних основ молекулярних процесів трансформації органічної речовини [5] методів [1, 6], технологій [7], підходів [8] та показників [9], управління й контролю гумусосфери Землі [10] як головного джерела емісії вуглекислого газу в атмосфері. У зв'язку з цим, вивчення процесів стабілізації ґрунтового вуглецю, є вкрай складним та актуальним завданням регулювання емісії CO<sub>2</sub> за інтенсивного антропогенного навантаження. Органічна частина ґрунту є сховищем найбільших запасів (1395,3 Гт) [11] вуглецю в наземних екосистемах. Таким чином, ґрунтовий покрив своєю газовою функцією (стосовно вуглецю) виконує в біосфері найважливішу роль підтримки сучасного оптимального клімату [12].

Ґрунт – складна багатоконпонента та динамічна система, але більшість фізичних та хімічних методів дослідження ґрунту та його компонентів базуються на редуційному підході, якому притаманно поділяти складну систему на окремі, більш гомогенні або індивідуальні компоненти, отримуючи при цьому обмежену інформацію про фізико-хімічні процеси в цілому. За такого методичного підходу створюється плутанина щодо інтерпретації отриманих результатів, особливо в екстраполяції розшифрування спектрів індивідуальних молекул органічних речовин ґрунту та неможливо зв'язати з базовими молекулярними перетвореннями, які пов'язані зі стабілізацією органічної речовини ґрунту. Через що дуже складно розробити технології управління ґрунтовими процесами *in situ*. Тому новітній підхід до вивчення складних систем базується на макроскопічному описі всієї системи шляхом виділення інтегративного показника, що характеризує складну систему в цілому.

Відомо, що діоксид вуглецю атмосфери приблизно на 90 % має ґрунтове походження [13]. Оскільки, серед потоків CO<sub>2</sub>, що надходять до атмосфери, його емісія з поверхні ґрунту є одним з найпотужніших джерел вуглекислоти, навіть незначні порушення ґрунтового дихання в глобальному масштабі можуть призвести до змін концентрації CO<sub>2</sub> в атмосфері [14].

Сільськогосподарська діяльність, що провокує емісію парникових газів із ґрунту, складається з таких процесів, як спалювання біомаси, оранка, інтенсивне використання органічних добрив, надмірне навантаження пасовищ тощо. Інтегративним показником, що адекватно відображає стан ґрунтових агрофітоценозів, є ґрунтове дихання [15, 16]. Параметри ґрунтового дихання характеризують мікробіологічну активність ґрунту й запаси лабільних органічних речовин, що дає змогу визначити екологічний стан ґрунту.

Значні втрати органічних речовин, що мають місце за інтенсивного обробітку ґрунту внаслідок зміщення рівноваги між процесами синтезу та розпаду гумусу, змінюють співвідношення між мінералізацією й стабілізацією новоутворених органічних речовин.

В рамках сучасних інтегративних методів дослідження складних органічних систем, таких як нафта чи кам'яновугільні смоли, розробляються методи холістичного вивчення процесів перетворення гумінових кислот, як супрамолекулярних систем, що дає змогу виявити макроскопічні показники, які відповідають усередненому значенню всієї динамічної структури.

### *1.2 Потенційна залежність виділення вуглекислого газу з ґрунту від способів його обробітку*

Багато дослідників вважають, що сільське господарство, за впровадження відповідних технологій обробітку ґрунту, може стати одним із найбільших поглиначів CO<sub>2</sub> з атмосфери. У разі добре вираженого депонування можна отримувати не тільки високі врожаї, але й запобігати ефекту глобального потепління. Розбалансованість циклів кругообігу вуглецю у ґрунті, навпаки, призводить до втрати як органічних речовин, так і доступних елементів живлення, необхідних рослинному й мікробіологічному світу, та додаткового надходження парникових газів в атмосферу.

Емісія CO<sub>2</sub> з ґрунту, своєю чергою, тісно пов'язана зі способами його обробітку. Зміни параметрів ґрунтового дихання можуть залежати як від загальної кількості та доступності вуглецю органічних речовин, так і від здатності мікробних угруповань до метаболізму вуглецевих сполук.

Обробіток ґрунту та ступінь його окультуреності дуже сильно впливають на його повітряний режим [17]. Проте, питання залежності виділення вуглекислого газу з ґрунту від способів обробітку в літературі висвітлюється дуже неоднозначно. Згідно з результатами дослідження І. Б. Ревута та І. І. Кочурової [18] на прикладі дерново-підзолистих ґрунтів, різні способи обробітку помітно впливають на вміст повітря у ґрунті та його склад. За застосування безвідвального обробітку спостерігається підвищення вмісту CO<sub>2</sub> в ґрунтовому повітрі, звичайна ж оранка (з обертаням скиби) на глибину 20-22 см створює сприятливі умови для розкладу клітковини в ґрунті та прискорює газообмін між ґрунтовым та атмосферним повітрям [19, 20]. Дослідження ВНДІ землеробства та захисту ґрунту від ерозії на чорноземних ґрунтах показали, що емісія CO<sub>2</sub> за відвального обробітку є в 1,4 раза більшою, ніж за безвідвального [21].

Метою досліджень було визначити процеси реагування гумінових молекул як цілісної супрамолекулярної системи за інтегративними спектроскопічними параметрами (комплексними спектроскопічними методами), які контролюють стабілізацію ґрунтового вуглецю та обумовлюють динаміку емісії CO<sub>2</sub> з ґрунту.

Для досягнення поставленої мети було проведено дослідження процесів формування та реагування гумінових молекул чорнозему типового; виявлено зміни фізико-хімічних властивостей, електронної структури, молекулярних параметрів гумінових кислот та структурного складу гумінових кислот чорнозему типового та проведено порівняння інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> ґрунтом за різних способів основного обробітку ґрунту.

## 2. Об'єкти та методи дослідження

Об'єктом дослідження слугував стаціонарний польовий дослід кафедри землеробства ім. О.М. Можейка, Харківського національного аграрного університету імені В. В. Докучаєва (керівник досліджу – доктор с.-г. наук, доцент Шевченко М. В.), який було закладено у 2005 році поблизу с. Рогань Харківського району Харківської області (географічні координати: 49°54'12,61" Північної широти та 36°26'24,71" Східної довготи).

У досліді вивчаються 6 чотиріпільних зерно-просапних сівозмін з таким чергуванням культур: попередники озимої пшениці - озима пшениця - цукрові буряки - ячмінь. Попередниками озимої пшениці та першими культурами сівозмін є: чорний пар, горох, чина, вико-вівсяна сумішка, соя та кукурудза. Горох та чина вирощуються на зерно, вико-вівсяна сумішка та соя – на зелений корм, кукурудза – на силос.

Загальна площа досліджу 1,4 га. Розміщення ділянок в досліді послідовне, повторність триразова. Площа дослідних ділянок 400 м<sup>2</sup>. Добрива не вносили. Способи обробітку повторювалися беззмінно з початку закладки досліджу. До початку досліджу, на цій ділянці був 50-ти річний переліг, частину якого, що залишилася, використано як контроль.

Для досліджень було обрано п'ять варіантів – переліг і 4 способи обробітку ґрунту в досліді:

1. Переліг більше 60 років (контроль);
2. Оранка плугом ПЛН-4-35 на 20-22 см;
3. Дискування бороною ДМТ-4 на 10-12 см;
4. Передпосівна культивування культиватором КПЕ-3,8 на 6-8 см (як основний обробіток);
5. Нульовий обробіток – прямий посів сівалкою Grate plains (без основного обробітку ґрунту).

ґрунт дослідного поля – чорнозем типовий середньогумусний важкосуглинковий на лесоподібних суглинках з такими параметрами властивостей в орному шарі: вміст гумусу за Тюрінім – 4,9-5,1 %; загальний вміст азоту за ДСТУ 4726:2007 в модифікації ННЦ ІГА ім. О. Н. Соколовського – 0,25 %; вміст рухомих сполук фосфору та калію за Чириковим – відповідно 100 та 150 мг/кг ґрунту.

Дослідження проводили впродовж 2011-2016 рр. Проби ґрунту для екстрагування ГК відбирали з шару 0-20 см. Аналітичні та спектроскопічні дослідження проводили згідно з чинними стандартизованими та загальноприйнятими методиками, а саме: загальний вміст органічного вуглецю в ґрунті – методом І. В. Тюріна (ДСТУ 4289:2004); загальний вміст азоту – методом Й. К'ельдаля (ДСТУ 7926:2015); груповий та фракційний складу гумусу – за методом І. В. Тюріна у модифікації Пономарьової та Плотникової (ДСТУ 7828:2015).

Екстрагування ГК з ґрунтових проб для комплексних спектроскопічних досліджень проводили за стандартною методикою Д.С. Орлова [22]. Комплексний спектроскопічний аналіз виконано в лабораторіях Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна та у Науково-технологічному комплексі "Інститут монокристалів" (Харків).

Отримання молекулярних спектрів в ультрафіолетовій (УФ) області поглинання витяжками гумінових кислот (ГК) (без розбавлення) проводили на приладі Stellarnet BLACK-Comet (Інститут хімії ХНУ імені В. Н. Каразіна, відділ гетероциклічних та флуоресцентних сполук) в області діапазону вимірювань від вакуумного (90 нм) до видимого (445 нм) з використанням кювети зі зменшеною довжиною оптичного шляху (0,5 см), що є основною технікою проведення молекулярної спектроскопії рідких та концентрованих зразків [23].

Зразки для зйомки спектрів інфрачервоного пропускання з фур'є трансформацією (FTIR) з метою вивчення особливостей гідратації ГК в розчині (невисушені витяжки ГК) було підготовлено за процедурою сушіння на повітрі (Air Drying Procedure) [24, 25] з використанням тонкої плівки (Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" Національної академії наук України).

Аналіз зразків гумінових кислот електронним парамагнітним резонатором (ЕПР) проводили за допомогою спектрометра JES-ME-3х, який працює в трисантиметровому

діапазоні довжин хвиль (X-band) з частотою модуляції 100 кГц (ХНУ імені В. Н. Каразіна, радіофізичний факультет, лабораторія ЕПР кафедри молекулярної та медичної біофізики). Досліджувані зразки ГК для ЕПР спектроскопії масою 100 мг, поміщали в кварцові ампули фірми JEOL.

Для визначення g-фактора та інтенсивності ЕПР спектрів як стандарт використовували полікристалічний зразок дифенілпікрілгідразилу (ДФПГ), середнє значення g-фактора якого дорівнює  $(2,0036 \pm 0,0003)$ . Оскільки кожна молекула ДФПГ має один неспарений електрон, то ДФПГ використовували як еталонний зразок для вимірювання інтенсивності ЕПР спектрів. Оксид алюмінію (III) використовували для калібрування розгортки магнітного поля спектрометра, а монокристал рубіну – для вимірювання відносної інтенсивності ліній ЕПР спектру. Досліджувані зразки в кварцових ампулах поміщали в пучність надвисоких частот (НВЧ) магнітного поля резонатора ЕПР спектрометра. Дослідження ЕПР зразків ГК проводили через 12 годин після їх приготування за кімнатної температури. Концентрацію парамагнітних центрів у зразках ГК визначали методом порівняння відносних амплітуд сигналів, ДФПГ та зразка ГК [26].

Для дослідження рухомості молекул води та супраструктури ГК чорнозему типового використовували циліндричний  $H_{01n}$ -резонатор на робочій частоті 9,2 ГГц. Ця методика дозволяє зафіксувати зміну частоти релаксації дипольних моментів води та функціональних груп, що обумовлено рухливістю вільних диполів, здатних орієнтуватися в полі НВЧ та контролювати кооперативний рух молекулярного ансамблю за відклику повного дипольного моменту зразка на перемінне електричне поле (зміну потужності) і є комплексною мірою [27, 28].

Як еталон для обчислення зсуву частот ( $f_0$ , кГц) та НВЧ потужності електричного поля у мікроамперах ( $u_0$ , ма) за абсолютною величиною використовували порожній резонатор без зразка (вимірювання проводили на радіофізичному факультеті ХНУ імені В. Н. Каразіна в лабораторії ЕПР під керівництвом к.ф.-м.н. О.Т. Ніколова, с.н.с., кафедри молекулярної і медичної біофізики).

Елюцію (вилучення) зразків ГК здійснювали 0,1 н NaOH та 0,1 н лимонною кислотою. Збір елюенту здійснювали у 3 мл пробірки, реєстрацію молекулярних фракцій проводили на спектрофотометрі СФ-24 за довжиною хвилі 465 нм (фракціонування проводили в інституті біології «Віварій» біологічного факультету ХНУ імені В. Н. Каразіна в лабораторії молекулярної та клітинної біотехнології).

Дослідження динаміки емісії  $CO_2$  за різних способів обробітку ґрунту вели на вищеописаному дослідному об'єкті. Моніторинг емісії  $CO_2$  з ґрунту здійснювали в польових умовах (раз на місяць протягом вегетаційного періоду) та в лабораторних умовах, стандартизованих за параметрами температури і вологості (тричі за вегетаційний період). Змішані проби ґрунту відбирали у п'ятиразовій повторності з ділянок площею 1 м<sup>2</sup>. Інструментальний контроль інтенсивності виділення діоксиду вуглецю з поверхні ґрунту проводили за допомогою портативного газоаналізатору testo 535 з ізолюванням від атмосферного повітря [29]. Вимірювання виконували 3-5 разів на день із подальшим усередненням та статистичною обробкою результатів. Одночасно з вимірюваннями інтенсивності виділення діоксиду вуглецю визначали температуру ґрунту на глибині 10 см [30] та вміст вологи у шарі 0-20 см гравіметричним методом (ДСТУ ISO 11465-2001) [31].

Вимірювання продукування  $CO_2$  ґрунтом у стандартизованих (лабораторних) умовах проводили за методикою Б. М. Макарова [32]. Зразки ґрунту відбирали згідно з чинною методикою (ДСТУ 4287:2004) та приводили до ідентичних фізичних параметрів (вологість, температура, щільність), надалі в лабораторних умовах після лужної абсорбції визначали шляхом титрування кількість  $CO_2$ , виділеного з ґрунту.

### **3. Результати дослідження та їх обговорення**

#### **3.1 Фізико-хімічні властивості гумусових кислот чорнозему типового за різного обробітку за даними молекулярної спектроскопії**

Процеси стабілізації органічного вуглецю ґрунту зумовлені біотрансформацією складу органічних речовин, що визначається мікробіологічною та біохімічною діяльністю, і залежить, своєю чергою, від вологості ґрунту в межах орного шару. Механічний обробіток змінює та диференціює товщу ґрунту, що відбивається на водно-повітряному режимі, функціональному складі мікробного біоценозу, щільності будови ґрунту тощо.

Узагальнені результати лабораторно-аналітичних робіт щодо складу органічної речовини чорнозему типового за різного обробітку представлено в таблиці 1, які вказують

що тривале застосування відвального обробітку викликає зменшення загального вмісту вуглецю, порівняно з 50-річним перелогом, у поверхневому 0-20 см шарі.

Таке зменшення порівняно з контролем (переліг) ми пов'язуємо з підвищенням швидкості біологічної мінералізації та зі слабкою стабілізацією новоутворених гумусових сполук, для яких характерною є висока рухомість та доступність для гідролітично активних мікроорганізмів.

Інтенсивний обробіток ґрунту призвів до збільшення вмісту органічного вуглецю, в досліджуваному шарі, що ми пов'язуємо з підвищенням активності новоутворених гумусових речовин, завдяки наявності свіжої органічної речовини та високій активності аеробних мікроорганізмів. На підвищення активності новоутворених речовин вказує збільшення вмісту фракцій гумінових кислот ГК-1 за дискування, а ФК на оранці, що зумовлює високу швидкість синтезу та розпаду органічної речовини чорнозему.

Після нульового обробітку чорнозему типового відбувається збільшення вмісту фракції ГК-2, що сприяє підвищенню стійкості органічних речовин внаслідок активізації другої стадії гуміфікації, а саме – полімеризації. На варіанті з оранкою відмічається зміна типу гумусу з гуматного на фульватно-гуматний через підвищення вмісту фульвокислот (ФК). Застосування дискування чорнозему типового призвело до збільшення вмісту ГК-1 та зменшення ФК, що є більш сприятливим для стабілізації новоутворених та лабільних органічних сполук ґрунту.

**Таблиця 1**

*Склад органічної речовини чорнозему типового за різного обробітку*

Показник	Переліг	Оранка	Дискування	Нульовий обробіток
Сзаг, %	3,03	2,75	2,65	2,53
Сгк, % до Сзаг	42,0	36,0	38,4	44,4
Сфк, % до Сзаг	23,9	26,5	23,1	21,9
Сгк/Сфк	1,7	1,4	1,7	2,0
Ступінь гуміфікації	дуже високий	високий	високий	дуже високий
Тип гумусу	гуматний	фульватно-гуматний	гуматний	гуматний
ГК-1, % до суми ГК	4,8	5,7	6,1	4,1
ГК-2, % до суми ГК	69,1	75,4	70,2	80,5
ГК-3, % до суми ГК	26,1	18,9	23,8	15,5

*Примітка:* Сзаг – загальний вміст органічного вуглецю; Сгк – вуглець гумінових кислот; Сфк – вуглець фульвокислот; ГК – гумінові кислоти

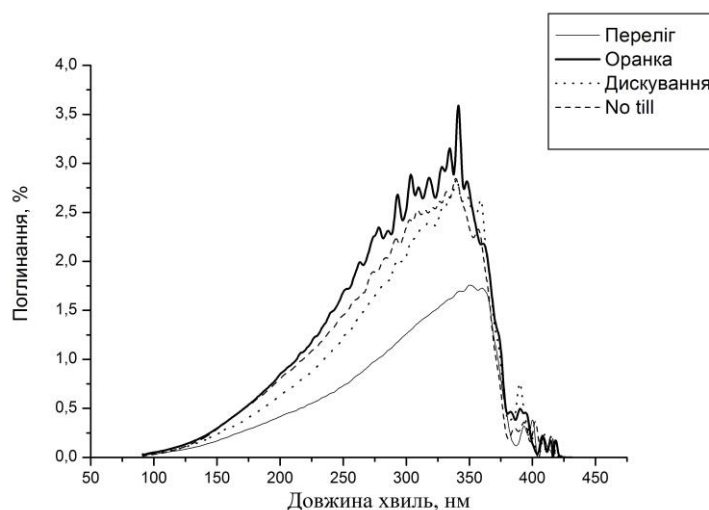
Складний динамічний характер структури та складу гумінових кислот зумовлено суперпозицією сигналів та екрануванням багатьох атомів а молекул, що не дозволяє їх описувати як індивідуальну структуру. Ускладнення щодо розшифрування спектрів пов'язано з накладанням та екрануванням сигналів сусідніх атомних груп через велику гетерогенність гумінових екстрактів. Тому гумусові речовини (ГР) мають дуже великий набір різноманітних атомно-молекулярних груп [22], як правило із складними та широкими смугами поглинання [33], що зумовлено суперпозицією коливально-обертальних рухів різних груп [34]. У зв'язку з цим для дослідження складних речовин, проводять комплексний фізико-хімічний аналіз, що відображає більш повну інформацію та достовірну інтерпретацію здобутих результатів [1, 5, 35, 36].

Зміна оптичних властивостей ГР за різного антропогенного навантаження вказує на різну природу їх молекулярної організації, що зумовлює зміну фізико-хімічних властивостей або макрохарактеристик [36]. Макрохарактеристики надмолекулярних структур в різних середовищах зумовлюють розчинність, в'язкість, сорбційну та комплексоутворювальну здатність та визначають активність та стабільність молекулярних біосистем [37]. Одним із найважливіших показників макрохарактеристик ГК є спектроскопічні властивості, що відображають енергетичний стан гумінових молекул в розчинах. Беручи до уваги, що стійкість та активність гумінових молекул в розчинах визначається розподілом міжмолекулярних зв'язків, дослідження молекулярних зв'язків у зразках гумінових кислот має дуже важливе значення для вивчення рухомості та стабільності гумусової системи.

У дослідженні складних конденсованих систем та сумішей (зокрема сумішей гумусових молекул), в яких утворені частинки знаходяться під впливом різноманітних міжмолекулярних сил і складного молекулярно-атомного оточення, молекулярна спектроскопія може дати цінну інформацію щодо енергетичних параметрів молекулярної системи. Джерелом інформації щодо організації ГР в різних середовищах стає не спектр індивідуальних молекул (форма, частота, інтенсивність), а зміна спектру, обумовлена міжмолекулярними силами тієї чи іншої природи (зміщення частоти, зміна інтенсивності та ширини й форми смуг). Повна енергія взаємодії макромолекул з навколишнім середовищем (розчинником) описується через загальний термодинамічний потенціал, що залежить від взаємного положення молекул (конфігурації, конформації). Фізико-хімічні властивості описуються набором функцій розподілу положення частинок та відіграють важливу роль у термодинамічному описі складної гумусової молекулярної системи [38].

У роботі розглянуто закономірності, що зв'язують квантовий континуум електронних станів, визначений за спектрами поглинання, з фізико-хімічними властивостями багатоконпонентних і складних молекулярних систем [39]. Узагальнено виявлені раніше закономірності, що зв'язують такі фізико-хімічні властивості, як коксованість і молекулярна маса, з інтегрованою силою осцилятора. Цей інтегрований параметр характеризує обсяг молекулярної квантової системи й оцінюється через площу під кривою поглинання випромінювання для видимих інфрачервоних (ІЧ) та ультрафіолетових (УФ) спектральних смуг.

Для інтегративного аналізу спектрів поглинання в УФ діапазоні ГК застосували техніку молекулярної УФ спектроскопії (зменшення довжини оптичного шляху кювети) зразків ГК рідких витягів (Рис. 1), екстрагованих з чорнозему типового без розбавлення, тому що зміна концентрації зразку впливає на нативну молекулярну організацію [40].



**Рис. 1.** Молекулярні ультрафіолетові спектри гумінових кислот, виділених із чорнозему типового за різної обробки ґрунту

Молекулярні спектри УФ поглинання зразків ГК, виділених з чорнозему типового за різних способів його обробки, представлені широкими й дифузними (відсутність індивідуальної коливальної структури спектра [41]) що обумовлено суперпозицією всіх атомних та молекулярних гумінових зразків [42].

Розширення форми спектрів та висока амплітуда поглинання, за даними техніки молекулярної спектроскопії, пов'язана з високою концентрацією гетерогенних структур, що зумовлюють суперпозицію сигналу та його заломлення (що викликає дифузю). Підсилення суперпозиції обумовлено збільшенням енергії коливань електронної системи ароматичних структур, за цим електронна енергія визначає будову електронної оболонки всієї ароматичної системи подвійних зв'язків. Збільшення ширини та інтенсивності молекулярного спектру поглинання ГК чорнозему після оранки та дискування ґрунту пов'язано зі збільшенням концентрації хромофорів та їх тепловим рухом, що збуджує коливальні рухи та призводить до дефазування – скорочення тривалості квазігармонійного процесу і, як наслідок, розширення лінії поглинання.

Форма УФ спектру не змінюється за впливу обробки чорнозему типового, що обумовлено схожістю в молекулярній побудові та складі досліджуваних ГК. Обробіток

чорнозему типового привів до гіперхромного ефекту на спектрах поглинання ГК (порівняно з перелогом). На спектрах ГК відбувається збільшення амплітуди поглинання в області 250-350 нм (дифузна область) за використання інтенсивного обробітку (оранки) чорнозему типового. Виникнення широкої дифузної смуги пов'язано з характером молекулярної динаміки (трансляційних та поворотних рухів молекул суміші), а також зі статистикою міжмолекулярної взаємодії в системі.

Оскільки в реальних системах через флуктуаційні процеси різні молекули знаходяться в різному структурному оточенні, можна сказати про статистичний розподіл частот коливальних переходів відносно найбільш вірогідного значення, що приводить до формування флуктуаційного загального контуру (дифузного поглинання) спектральної смуги. За цим зміна термодинамічного стану ГК визначається роботою, виробленою полем міжмолекулярних сил за зміни дипольного моменту, і поляризацією молекул від значень початкового стану до нового. За електронних переходів (на відміну від коливальних) відбувається більш значний перерозподіл електронної густини, і, як наслідок, більш сильна зміна молекулярних параметрів дипольного моменту та поляризації кетонів.

У роботах А. Ю. Кудеярової [43-45] показано, що зміна інтенсивності поглинання та зміщення в довгохвильовий діапазон за електронної спектроскопії ГР та ГК обумовлена утворенням хелатних вузлів з металами змінної валентності за рахунок формування гумінових макролігандів [43]. Що приводить до збільшення інтенсивності електронного поглинання ГК [44] через підвищення кількості оксигеновмісних функціональних груп [45].

Таким чином, спектроскопія ГК в УФ та видимому діапазонах світла виявила зміну інтегративного показника термодинамічної (енергетичної) величини гумінової електронної системи спряжених зв'язків, обумовленої перерозподілом електронної густини та поляризацією кетонних груп за різного обробітку чорнозему типового. Інтенсифікація обробітку чорнозему типового приводить до збільшення ентропії гумінової структури, що обумовлено енергетичною перебудовою електронної системи та її стабілізації донорно-акцепторними комплексами, утвореними за рахунок активних макролігандів, переважно кетонів функціональних груп ГК.

Спектри інфрачервоного пропускання з фур'є трансформацією (FTIR) досліджуваних зразків ГК чорнозему типового мають характерну форму, що не змінюється за різного обробітку ґрунту, та відрізняються амплітудою і зміщенням характеристичних смуг поглинань. Подібність форми ІЧ спектру обумовлено схожим структурним складом та подібною загальною макроструктурою усіх досліджуваних гумінових зразків (Рис. 2).

Спектри FTIR ГК характеризуються наявністю ряду смуг поглинань, що відповідають головним атомно-молекулярним структурним елементам. Дані ІЧ-спектрів вказують на присутність спряжених ароматичних С=C-зв'язків, аліфатичних структур (-CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>), а також на наявність широкої смуги фенолгідроксильних груп -ОН, зміщення якої в бік низьких частот вказує на розвинену сітку міжмолекулярних Н-зв'язків. Ці зв'язки, як відомо, грають першочергову роль в розчинах, сприяючи асоціації гумінових молекул, особливо за зниження рН та стабілізації міцело-колоїдної системи.

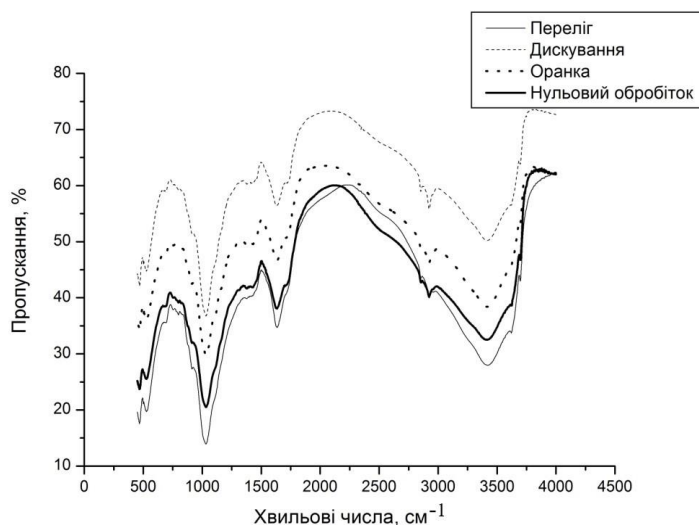
Область валентного поглинання -ОН груп, пов'язаних з Н-зв'язками, обумовлена широким спектром з діапазоном поглинань 3500-3400 см<sup>-1</sup>. На думку А. Пікколо та Ф. Стівенсона, збільшення інтенсивності смуги з максимумом 3420 см<sup>-1</sup> може бути викликано тим, що до складу адсорбованих комплексів основних солей з -ОН групою входять гідратовані метали та катіонні містки [46]. Серед інших груп, що можуть утворювати Н-комплекси, це – NH-групи в різних положеннях; але у зв'язку з тим, що їх кількість порівняно менша, ніж -ОН, їх роль у гідратації та формуванні смуги незначна [47].

На отриманих спектрах чітко проявляються смуги в області поглинання за довжиною хвиль 1710-1725 см<sup>-1</sup>, що відповідає неіонізованим кетонам карбоксильних груп (-COOH). В ГК ця смуга поглинання відповідає карбоксильними групам, смуга яких зникає (або зменшує інтенсивність) за утворення різних солей з ГК, що проявляється у вигляді карбоксилат-іонів за довжинами хвиль 1590 та 1390 см<sup>-1</sup>.

На всіх отриманих спектрах чітко проявляються сильна смуга поглинань за довжиною хвилі 1625 см<sup>-1</sup>, що обумовлено коливанням ароматичних С=C структур (а також хінонів, карбонілів (C=O), які пов'язані Н-зв'язком з ОН-групами, та представляють переважно внутрішньомолекулярні зв'язки ароматичної частини макромолекули). За смугою поглинання можна ідентифікувати сильну смугу за 1080 см<sup>-1</sup>, що обумовлена наявністю екерних (-C-O-C-) ковалентних зв'язків між полісахаридами.

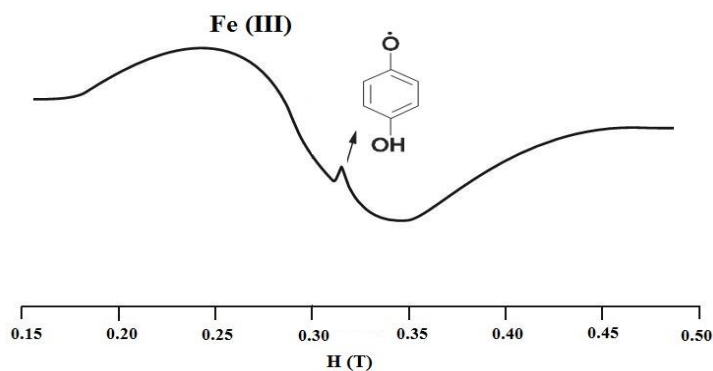
Таким чином, за даними ІЧ спектроскопії ГК чорнозему типового обробіток ґрунту привів не до зміни структури, а до перерозподілу якісного складу полярних та неполярних елементів ГК. Склад ГК, залежно від способу обробітку ґрунту, визначив розподіл

міжмолекулярних зв'язків і утворення нових комплексів, що стабілізують різні гумінові структури, збільшуючи таким чином загальну енергію ГК чорнозему типового після застосування оранки та дискування. Діапазон від 1800  $\text{cm}^{-1}$  до 2500  $\text{cm}^{-1}$  виявив зміну нахилу за інтенсифікації обробітку, що може бути інтегративним показником зміни молекулярно-масових параметрів всієї гумінової супраструктури.



**Рис. 2.** FTIR спектри ГК екстрагованих із чорнозему типового за різного способу обробітку ґрунту (шар 0–20 см)

Наші ЕПР (Електронний парамагнітний резонанс) дослідження твердофазних зразків ГК, показали, що парамагнітні властивості ГК, виділених з чорнозему типового, обумовлені неспареним електроном семихінонного радикалу, а також іонами парамагнітних металів змінної валентності (Рис. 3). Встановлено, що найбільший внесок у парамагнітні властивості досліджуваних зразків ГК здійснює широкий сигнал  $\text{Fe}^{3+}$ , що накладається на вузький та слабший сигнал семихінонного радикалу.



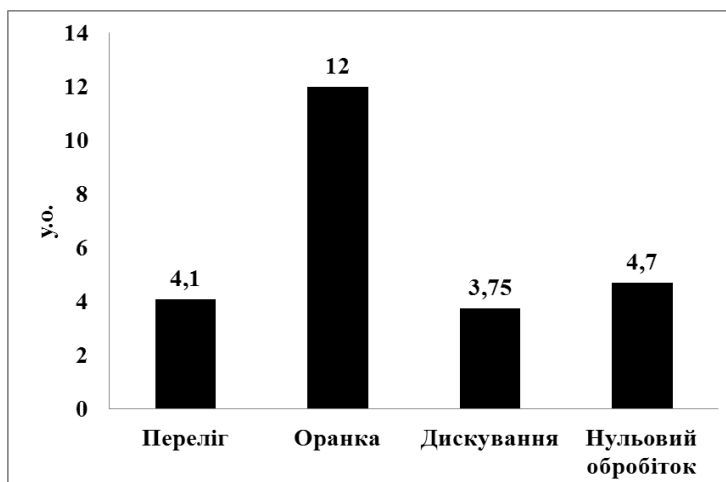
**Рис. 3.** Загальний ЕПР спектр досліджуваних зразків ГК чорнозему типового, в якому виявляються широкий спектр хелатних комплексів з залізом (III) та вузький сигнал семихінонних радикалів ( $H(T)$  – напруженість поля, в Теслах)

У зв'язку з тим, що широка форма лінії ЕПР спектра не змінюється від інтенсивності обробітку ґрунту, а відрізняється лише інтенсивністю, можна зробити висновок щодо того, що у всіх досліджуваних зразках ГК утворюються парамагнітні центри однакової природи (одного типу) та представляють макрохарактеристику зразка.

Показано, що форма ліній всіх ЕПР спектрів не залежить від способів обробітку ґрунту і відрізняється лише інтенсивністю і, відповідно, кількістю парамагнітних центрів. Ми виявили, що оранка ґрунту викликає значне збільшення парамагнітного сигналу, що



обумовлено збільшенням кількості парамагнітних центрів, пов'язаних з металокомплексами (Рис. 4).



**Рис. 4.** Концентрація парамагнітних центрів (ПЦ, в умовних одиницях), пов'язаних з металокомплексами, в зразках, виділених з чорнозему типового за різного обробітку ґрунту

Природа отриманої широкої лінії ЕПР спектру ГК з  $g$ -фактором 2,0023 пов'язана з парамагнітними центрами, які представлені комплексами з металами. Відомо, що парамагнітні іони заліза відносяться до груп іонів з електронною конфігурацією, які знаходяться в  $S$ -стані (спінової момент  $6 (5/2)$  характерні для  $Fe^{3+}$  і  $Mn^{2+}$ ). У таких іонах орбітальний момент дорівнює нулю, тому не повинно бути розщеплення головних рівнів у кристалічних решітках, але парамагнітна активність проявляється. Іони  $S$ -стану в комплексах мають значення  $g$ -фактора, близькі до значення неспареного електрона (2,00) [48].

Комплексні спектроскопічні дослідження зразків ГК дозволили виявити інтегративні зміни у якісному складі та розподілі молекулярних зв'язків, які стабілізують гумінову супраструктуру й обумовлюють зміну фізико-хімічних макрохарактеристик – активність молекул, здатність до комплексотворення і стабілізації. За даними електронної та молекулярної спектроскопії в УФ та видимих областях світла ГК чорнозему типового після інтенсифікації обробітку ґрунту виявлено підвищення рухомості  $\pi$ -електронної спряженої системи подвійних зв'язків ароматичних структур. Проведені нами спектроскопічні дослідження показують, що збільшення активності гумінових молекул за інтенсифікації обробітку чорнозему типового, особливо після оранки, а також зміна фізико-хімічних властивостей зразків ГК, відбувається в результаті перебудови гумінової надмолекулярної структури, яка обумовлена зміною складу структурних елементів, що визначають розподіл полярних та неполярних зон ГК.

Вивчення динаміки та рухомості структури водного оточення та гумінових структур дає цілісну інформацію щодо молекулярних механізмів гідрофільної чи гідрофобної гідратації, які лежать в основі функціонування та стабільності біосистем в розчинах. Вода має відносно високу діелектричну проникність, що визначає діелектричні властивості біологічних середовищ (суміш надмолекулярних структур біомолекул). Діелектричні властивості води у вільному та зв'язаному стані з біомолекулами різні. Зміна відношення вільної та пов'язаної води супроводжується зміною діелектричних параметрів біосистеми, які відображаються на динаміці всього надмолекулярного ансамблю [49].

Дослідження рухомості складних гідрофобних систем та водного оточення проводили застосовуючи метод діелектричної релаксаційної спектроскопії надвисокої частоти (НВЧ) [50]. Нашими дослідженнями встановлено параметри частоти релаксації рухомих диполів води в дослідженнях гумінових зразків чорнозему типового (Табл. 2).

За нульового обробітку чорнозему спостерігається наближення результатів значення частотної релаксації диполів води в ГК до значення в ГК перелого, що обумовлено більшою кількістю неполярних ароматичних структур, обумовлюючих гідрофобні взаємодії. Тому на перелозі та за нульового обробітку відбувається гідратація, обумовлена деякою впорядкованістю водних кластерів навколо неполярних молекул та їх асоціатів. Як наслідок, збільшується можливість утворення гідрофобних дисперсійних  $\pi$ -зв'язків між ароматичними неполярними структурами. Тому зниження частоти релаксації гумінової супраструктури чорнозему типового після оранки пов'язано зі

збільшенням полярних структур меншого розміру, які обумовлюють формування гідрофільних доменів, рухомість молекул яких більш висока порівняно з гідрофобними доменами та обумовлена особливостями гідратації та структури водних кластерів.

**Таблиця 2**

*Параметри релаксації диполів води зразків гумінових кислот чорнозему типового*

Варіант	$u_0$ (μa)	$f_0$ (кГц)	$u$ (μa)	$f$ (кГц)	$\Delta u$ (μa)	$\Delta f$ (кГц)
Переліг	195,8	2943,2	88,6	2165,9	114,4	685,9
Оранка	197,8	2903,4	88,4	2124,4	109,4	779,0
Нульовий обробіток	190,2	3037,8	75,9	2351,9	114,3	685,9

Примітка:  $f$  – частота коливань вільних диполів води;  $u$  — сила електричного поля;  $u_0$  — сила електричного поля пустого резонатора;  $f_0$  – частота коливань пустого резонатора

Враховуючи амфіфільну природу ГР, гідратацію ГК слід розглядати як біфункціональну – специфічну гідрофобну, пов'язану з перебудовою молекул водного оточення неполярних структур, та специфічну гідрофільну. Специфічна гідрофільна гідратація ГК пов'язана з формуванням Н-зв'язків між ОН-групами та молекулами води і неспецифічною гідрофобною, що пов'язана з перебудовою водної структури. Тому після оранки чорнозему переважає специфічна негативна гідратація ГК, обумовлена більшою кількістю оксигеновмісних функціональних груп (а також вільних ОН-груп, що формують міжмолекулярні зв'язки), а за нульового обробітку та на перелозі – переважає гідрофобна позитивна гідратація, пов'язана зі структуризацією вільних кластерів води.

За дії лимонної кислоти на досліджувані гумінові зразки відбувається зміна усіх параметрів релаксації дипольних моментів води, що виражається у збільшенні частоти коливань вільних диполів води, що збільшує динаміку водного оточення та всієї гумінової супраструктури (Табл. 3). За оранки чорнозему в зразках ГК відбувається збільшення числа Н-зв'язків, що пов'язано з гідрофільною гідратацією молекул. Причому на перелозі спостерігається проміжне значення частоти релаксації дипольних моментів, що обумовлено гетерогенним складом ГК, в яких гідратація відбувається за гідрофільним та гідрофобним напрямками. За нульового обробітку чорнозему в зразках ГК відбувається зменшення кількості вільної води, що обумовлено переважно гідрофобною гідратацією гумінових молекул.

**Таблиця 3**

*Параметри релаксації диполів води зразків гумінових кислот чорнозему типового після дії лимонної кислоти*

Варіант	$u_0$ (μa)	$f_0$ (кГц)	$u$ (μa)	$f$ (кГц)	$\Delta u$ (μa)	$\Delta f$ (кГц)
Переліг	277,4	2867,5	100,3	2034,6	177,1	832,9
Оранка	247,2	2807,2	79,7	1799,7	167,5	1007,4
Нульовий обробіток	204,3	2875,3	98,0	2112,9	106,4	762,3

Примітка:  $f$  – частота коливань вільних диполів води;  $u$  — сила електричного поля;  $u_0$  — сила електричного поля пустого резонатора;  $f_0$  – частота коливань пустого резонатора

Методи ІЧ-спектроскопії є одними з найефективніших та найбільш розповсюджених для вивчення Н-зв'язків різних сполук та біосистем [51]. Особливої уваги потребує діапазон поглинань  $3400 \text{ см}^{-1}$  при вивченні кислотно-основних взаємодій, обумовлених протонно-акцепторними властивостями [52].

Сучасний підхід до вивчення складних систем базується на його інтегративних показниках, що дозволяє описати систему в цілому. Тому новітні методи молекулярних досліджень базуються на макроскопічному описі всієї системи, шляхом пошуку та виділення загального (інтегративного) показника, що характеризує зміну усіх складових системи [53] та розділення складної системи за процедурою “Омікс” наук [54].

### 3.2 Вплив систем обробітку ґрунту на динаміку емісії CO<sub>2</sub> з чорнозему типового

Процеси утворення вуглекислоти у ґрунті та газообміну з атмосферним повітрям залежать від типу ґрунту, його фізичних та хімічних властивостей, гідротермічних умов та рослинного покриву, а режим CO<sub>2</sub> є специфічним для кожного фітоценозу [55]. Результати багатьох досліджень [56, 57] показали, що інтенсивність дихання ґрунту зростала зі збільшенням температури повітря в експоненційній залежності. За однакової температури та вологості інтенсивність виділення вуглекислого газу прямо пов'язана з умістом органічної речовини у ґрунті. За цих обставин для правильної інтерпретації даних вимірювань виділення CO<sub>2</sub> з ґрунту необхідно враховувати щонайменше його вологість, температуру, щільність будови та співвідношення C:N.

У зв'язку із сильно вираженою добовою динамікою, для забезпечення точності та правильності оцінок і обсягів емісії не можна обмежуватися тільки епізодичними вимірюваннями інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> та супутніх спостережень на певну годину доби. Ми проводили циклічні визначення виділення CO<sub>2</sub> декілька разів протягом дня з подальшим усередненням отриманих результатів. Дні з опадами (навіть короткочасними) були виключені зі спостережень, а у весняний період кількість вимірювань протягом доби збільшувалася в 1,3-1,5 рази.

Сучасні технології, а саме, використання інфрачервоних газоаналізаторів, дозволяють зменшити тривалість вимірювань до 1–5 хв, що запобігає збільшенню температури повітря всередині камери, а також можливості похибки через зміну градієнта вуглекислого газу у системі [58]. Також для поліпшення умов вимірювань сучасні газові камери обладнано вентиляторами для вирівнювання тиску. Вплив тиску, як чинника змін емісійного потоку, досліджує П.І. Трофименко, використовуючи у роботі портативний газоаналізатор testo 535 [59]. Встановлено, що через вентилятори може втрачатися близько 3 % вуглекислого газу, але цим усувається можливість більшого негативного впливу на вимірювання через різницю тисків. Надзвичайно складно використовувати камерний метод взимку через низькі температури та наявність снігового покриву. Внаслідок зниження інтенсивності дихальних процесів в екосистемі у зимовий період необхідно збільшувати тривалість експозиції, що, своєю чергою, призводить до можливості похибки. Низькі температури призводять до погіршення роботи газоаналізаторів, що практично унеможливує використання камерного методу взимку. Крім того, порушення снігового покриву спричинює миттєвий викид вуглекислого газу, який, своєю чергою, далі абсорбується сніговим покривом. Це призводить до заниження результатів визначення виділення CO<sub>2</sub> із ґрунту.

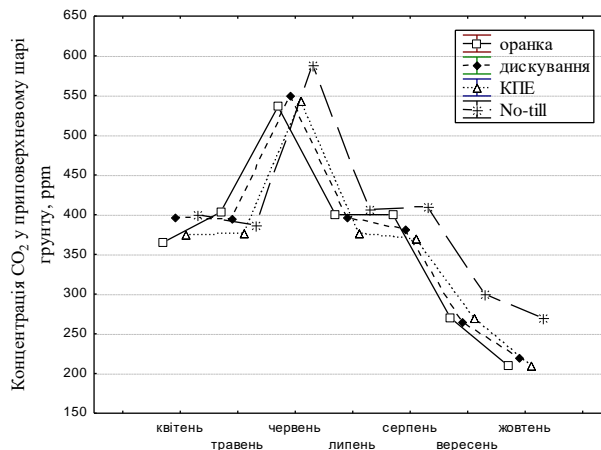
Використання респіраційних камер у дослідженнях продукування вуглекислого газу з ґрунту дозволяє оперативно дізнаватися про біологічну активність (дихання) ґрунту, як додаток до результатів звичайних хіміко-аналітичних методів визначення стану ґрунтового покриву. Враховуючи переваги та недоліки вищезазначених інструментальних методів визначення дихальних процесів в екосистемі, можна вважати доцільним розглядати камерний метод як альтернативний до традиційних. У зв'язку з цим, у своїх дослідженнях виділення CO<sub>2</sub> з поверхні ґрунту ми надали перевагу портативному засобу інструментального аналізу – газоаналізатору testo 535.

Згідно з методичними рекомендаціями [60] для підвищення точності та об'єктивності результатів вимірювань слід обирати експозицію до 15 хвилин, робочу камеру із середнім об'ємом поглинання 2-3 дм<sup>3</sup> із вертикальним закріпленням інфрачервоного зонду на відстані від поверхні ґрунту 1,5-2 см.

Узагальнені дані за вегетаційні періоди у роки дослідження не продемонстрували значної різниці інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> з ґрунту між варіантами досліду у весняно-літній період (Рис. 5). Перш за все, ми пов'язуємо це зі зменшенням різниці щільності будови ґрунту, яка з часом, після обробітку, все більше наближається до рівноважної. Завдяки весняним запасам вологи у ґрунті вологість орного шару на час вимірювань коливалася в межах від 4,2 до 8,8 %, але кардинальної різниці між варіантами не було. Натомість спостерігали істотні коливання показника за сезонами року. Параметри інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> змінювалися в інтервалі від 0,37 до 1,8 кг/га за годину. Одночасні спостереження за температурою та вологістю ґрунту показали, що саме остання є визначальним фактором стрибкоподібного посилення дихання ґрунту після злив наприкінці травня – початку червня. Після цього вологість ґрунту зменшувалася, причому найбільше – за oranки та поверхневого обробітку ґрунту, а за нульового обробітку була найвищою.

Відповідно до умов зволоження змінювалася й інтенсивність дихання ґрунту (див. Рис. 5). Найвищі концентрації CO<sub>2</sub> над поверхнею ґрунту спостерігали за технології

прямого посіву. Слід відмітити, що за умов недостатнього зволоження ґрунту зв'язок інтенсивності виділення  $\text{CO}_2$  із температурою та вологістю хоча й був прямим, але доволі слабким ( $r \approx 0,2$ ). Навіть за аномально низької вологості поверхневого шару ґрунту у весняний та осінній періоди років дослідження виділення вуглекислого газу з поверхні ґрунту не гальмується, можливо, завдяки продукуванню його у більш глибоких шарах та посилення газообміну.



Примітка: КПЕ - передпосівна культивування культиватором КПЕ-3,8 на 6-8 см

Рис. 5. Сезонна динаміка концентрації  $\text{CO}_2$  у приповерхневому шарі чорнозему типового за різних способів його обробітку

Восени продукування  $\text{CO}_2$  ґрунтом зменшилося на всіх варіантах дослідження порівняно з літнім періодом. В осінній період, у місячний термін після проведення основного обробітки ґрунту виміри показали максимальну різницю між способами, які досліджували. Ми пов'язуємо це, насамперед, із різною щільністю будови ґрунту:  $1,09 \text{ г/см}^3$  за оранки та  $1,16 \text{ г/см}^3$  за прямої сівби у шарі 0-10 см і  $1,16$  та  $1,32 \text{ г/см}^3$  у шарі 10-20 см відповідно. На більш ущільненій ділянці з прямим посівом концентрація  $\text{CO}_2$  у повітрі над поверхнею ґрунту істотно вища, оскільки дифузійні процеси проходять значно повільніше, ніж на розораній ділянці. Як показують дослідження Hu Lifeng et al. [61], ще більшу різницю між різними видами обробітки ґрунту слід чекати у перші 5 днів після його проведення, особливо за покритої рослинними рештками поверхні. Супутні спостереження за вологою та зміною температури ґрунту також дають пояснення різниці між показниками дихання.

Спостереження за температурою ґрунту показали, що у зв'язку із відсутністю суцільного покриття рослинними рештками верхній шар чорнозему типового сильно прогривається у літні місяці. Найвищі температури зафіксовано у липні – від  $27^\circ\text{C}$  за прямого посіву та КПЕ до  $29^\circ\text{C}$  за оранки. Саме в цей період відбувалося інтенсивне висушування ґрунту і надалі технологія прямого посіву майже на виділялася за впливом на температурний режим ґрунту.

Наприкінці вегетаційного періоду у ґрунті спостерігається мінімальна кількість легкодоступних органічних речовин, які є поживним середовищем для мікроорганізмів [62]. Таким чином, спостереження показали, що інтенсивність виділення  $\text{CO}_2$  з поверхні ґрунту значною мірою визначається такими фізичними умовами, як вологість та температура ґрунту, які в певних межах можна регулювати за допомогою основного обробітки ґрунту.

Щодо загальної різниці між способами обробітки, то виявлені відмінності у виділенні вуглекислого газу є цілком закономірними. Зменшення параметрів цього показника за оранки є наслідком не тільки меншої кількості легкодоступної частини гумусових речовин, але й переміщення рослинних решток з поверхні до нижньої частини орного шару, де утворюються більш сприятливі умови для гуміфікації. Натомість, на варіантах з поверхневим обробітком рослинні рештки були розташовані на поверхні ґрунту, що і призвело до їх більшої мінералізації та виділення  $\text{CO}_2$ .

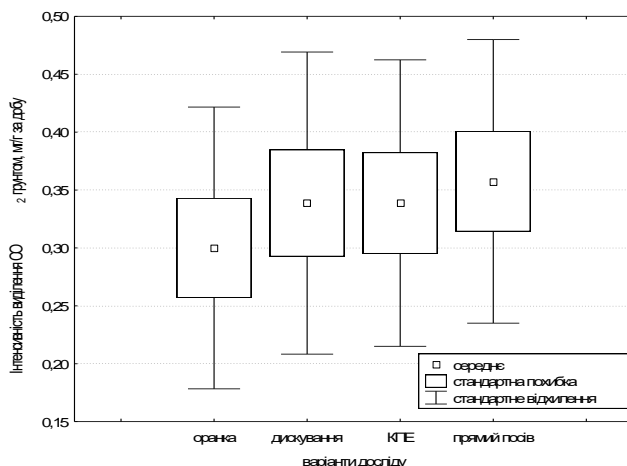
У зв'язку з тим, що через добові та сезонні зміни визначальних фізичних чинників інтенсивність продукування вуглекислого газу ґрунтом і рослинами, а також газообмін між ґрунтовим та атмосферним повітрям демонструють значні коливання, одночасно з прямими вимірюваннями виділення  $\text{CO}_2$  у польових умовах доцільно проводити

дослідження ґрунтових зразків та рослин за стандартизованих умов навколишнього середовища. За умов приведення зразків ґрунту до однієї температури, вологості та щільності вплив фізичних факторів на дихання нівелюється, і можна кількісно оцінити вплив досліджуваного антропогенного чинника (наприклад способу обробітку ґрунту) на потенційну спроможність ґрунтового матеріалу до продукування вуглекислого газу.

Для виявлення динаміки зміни емісії CO<sub>2</sub> за методикою Б.М. Макарова зразки ґрунту відбирають згідно зі стандартними методами та завданнями досліджень, але висушують ощадливим способом за температури не вище 40° С. Сутність цієї методики полягає у подальшому визначенні кількості CO<sub>2</sub>, що надходить із ґрунту, за найбільш сприятливих умов зволоження та температури з аналітичним закінченням за методом титрування.

Вимірювання інтенсивності дихання проб ґрунту за Б. М. Макаровим, проводили тричі протягом року (навесні, влітку та восени). Узагальнення результатів вимірювань (Рис. 6) показує, що навіть за приведення вологості ґрунту до однакового рівня (60 % від польової вологоємності) виділення CO<sub>2</sub> з ґрунту на варіанті з оранкою є найменшим, а за прямого посіву – найбільшим. Це є закономірним, адже, систематична оранка призводить до тенденції зменшення вмісту лабільного гумусу та фульвокислот у ґрунті, які найбільш доступні мікробіологічному розкладу.

Можна припустити, що завдяки зменшенню аерації за технології прямого посіву на початку може відбуватися зменшення процесів мінералізації, з часом, завдяки цьому, у ґрунті накопичується більше легкодоступних органічних речовин і виділення CO<sub>2</sub> активізується. Таким чином може відбуватися перехід із одного рівноважного стану до іншого. Поряд з цим, узагальнені результати також свідчать про значну похибку вимірювань інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> навіть за приведення фізичних показників ґрунту (вологість, температура, щільність) до однакових. Це є наслідком того, що мікробний ценоз ґрунту також має значну сезонну динаміку, і біогенність ґрунту стрімко зростає, починаючи від часу відновлення весняної вегетації до середини літа, із подальшим поступовим згасанням. Здобуті результати свідчать саме про таку динаміку на всіх дослідних ділянках. Це можливо пояснити тим, що наприкінці вегетаційного періоду у ґрунті спостерігається мінімальна кількість легкодоступних органічних речовин, що є живильним середовищем для мікроорганізмів.



Примітка: КПЕ - передпосівна культивування культиватором КПЕ-3,8 на 6-8 см

**Рис. 6.** Інтенсивність виділення CO<sub>2</sub> у стандартизованих умовах вологості та температури за різних способів обробітку ґрунту

Отже, навіть незалежно від умов навколишнього середовища, ґрунт має чітку сезону динаміку потенційної спроможності до продукування вуглекислого газу, яка збігається із динамікою його загальної біогенності.

#### 4. Висновки

1. Шляхом комплексного інтегративного аналізу сучасними спектроскопічними методами нефракціонованих екстрактів гумінових кислот чорнозему типового за різного обробітку встановлено процеси переорганізації гумінової супраструктури, яка характеризується перебудовою міжмолекулярних сил, що зумовлює зміну реакційної

здатності та стабільності ГК. Головним продуктом гуміфікації після оранки чорнозему типового за інтенсивної мінералізації свіжих органічних залишків є полярні сполуки, які формують гумусову систему, що характеризується більшою гідрофільністю внаслідок молекулярної переорганізації гумінової супраструктури. Це дозволяє припустити можливість регулювання процесів молекулярної переорганізації гумінової конформації за допомогою дії амфифільних функціональних матеріалів, які здатні *in situ* структурувати органічну речовину ґрунту в заданому напрямі.

2. Гумінова супраструктура чорнозему типового на варіанті «оранка» характеризується високою молекулярною рухомістю, зумовленою гідрофільною позитивною гідратацією яка виявляється на ІЧ спектрах поглинання ГК та доброю розчинністю, високою сорбційною та комплексоутворювальною здатностями, але слабкою здатністю закріплюватися, внаслідок міграційного «розсіювання» вглиб ґрунтового профілю.

3. Гідрофобна супраструктура гумінових кислот чорнозему типового перелугу та після нульового обробітку виявилася стійкою до міжмолекулярної перебудови за зниження рН лимонною кислотою, що зумовлено підвищенням гідрофобного ефекту внаслідок збільшення у складі гумінових кислот неполярних ароматичних конденсованих структур та амфифільних сполук, які асоціюються за допомогою переважно дисперсійних π-π або π-СН гідрофобних сил.

4. Інтенсивність та динаміка виділення вуглекислого газу з ґрунту значно залежать від гідротермічних умов. Спостерігалися істотні коливання параметрів показника за сезонами року. Параметри інтенсивності виділення CO<sub>2</sub> змінювалися в інтервалі від 0,37 до 1,8 кг/га за годину.

5. Способи основного обробітку ґрунту суттєво впливають на інтенсивність виділення CO<sub>2</sub>. Найбільша різниця емісії CO<sub>2</sub> спостерігається впродовж першого місяця після основного обробітку, у весняний період відмінності становлять лише 12-25 %, а після висушування верхнього шару ґрунту у літні місяці різні технології основного обробітку менше різняться між собою.

6. За сумарними (впродовж вегетаційного періоду року) обсягами емісії CO<sub>2</sub> з чорнозему типового технологія прямого посіву переважає над іншими дослідженими способами основного обробітку, чому сприяє кращий водний режим та більш повна мінералізація рослинних решток на поверхні ґрунту. За основного обробітку шляхом дискування на 10-12 см річні втрати вуглецю найменші. Систематична оранка протягом 6 років призвела до зменшення вмісту лабільної органічної речовини і фульвокислот та зниження потенційної здатності до продукування CO<sub>2</sub> у верхньому шарі ґрунту порівняно з поверхневим обробітком та технологією прямого посіву.

### Список використаних джерел

1. Перминова И.В. Гуминовые вещества – вызов химикам XXI века. *Химия и жизнь*. 2008. № 1. С. 50-56. URL: <https://istina.msu.ru/publications/article/3668102/>.
2. Lal R., Mohtar R.H., Assi A.T., Ray R., Baybil H., Lahn M. Soil as a Basic Nexus Tool: Soils at the Center of the Food–Energy–Water Nexus. *Curr Sustainable Renewable Energy*. 2017. Rep 4. P. 117–129. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40518-017-0082-4>
3. Piccolo A., Spaccini R., Drosos M., Vinci G., Cozzolino V. The Molecular Composition of Humus Carbon: Recalcitrance and Reactivity in Soils. *The Future of Soil Carbon, Its Conservation and Formation*, Edition: 1st, Chapter: 4, Publisher: Academic Press, Editors: Garcia Carlos, Nannipieri Paolo, Hernandez Teresa, 2018. P. 87-124. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811687-6.00004-3>.
4. Семенов В.М., Когут Б.М. Почвенное органическое вещество. Москва: ГЕОС, 2015. 233 с. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25705091>.
5. Piccolo A. The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and application in Soil Science. *Advances in Agronomy*. 2002. № 75. P. 57-133. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0065-2113\(02\)75003-7](https://doi.org/10.1016/s0065-2113(02)75003-7).
6. Piccolo A., Spaccini R., Nieder R., Richter J. Sequestration of a Biologically Labile Organic Carbon in Soils by Humified Organic Matter. *Climatic Change*. 2004. V. 67(2). P. 329-343. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10584-004-1822-1>.
7. Nuzzo A., Piccolo A. Enhanced catechol oxidation by heterogeneous biomimetic catalysts immobilized on clay minerals. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2013. V. 371. P. 8-14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2013.01.021>.
8. Nuzzo A., Piccolo A. Oxidative and Photoxidative Polymerization of Humic Suprastructures by Heterogeneous Biomimetic Catalysis. *Biomacromolecules*. 2013. V. 14, P. 1645-1652. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm400300m>.
9. Nebbioso A., Piccolo A., Spaccini R. Humeomics for a structure-bioactivity relationship of Humic Substances. *Geophysical Research Abstracts*. 2011. Vol. 13. P. 10961-10980. URL: <https://meetingorganizer.copernicus.org/EGU2011/EGU2011-10961.pd>.
10. Nebbioso A., Piccolo A. Advances in humeomics: enhanced structural identification of humic molecules after size fractionation of a soil humic acid. *Anal. Chim. Acta*. 2012. V. 720. P. 77-90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.01.027>.

11. Добровольский Г.В. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере. Москва: Наука, 2003. 364 с.
12. Добровольский Г.В., Никитин Е. Функции почв в биосфере и экосистемах. Москва: Наука, 1990. 261 с.
13. Cole K. Soil CO<sub>2</sub>. 1995. [Electronic resource]. Access mode : [www.global/carbon/reservoirdata.htm](http://www.global/carbon/reservoirdata.htm).
14. Малханова Е.В. Эмиссия диоксида углерода мерзлотными почвами юга Витимского плоскогорья: автореф. дис. канд. биол. наук. : [спец.] 03.02.13 «Почвоведение». Улан-Удэ, 2007. 19 с.
15. Загорова С.В. Структура ассимиляционного аппарата и CO<sub>2</sub>-газообмен у хвойных. Екатеринбург, 1999. 108 с.
16. Загорова С.В. Структура и CO<sub>2</sub>-газообмен хвои. *Физиология растений*. 2000. Т. 47. № 6. С. 825-830.
17. Медведев В.В. Нульовий обробіток в європейських країнах. Харків: ТОВ «ЕДЕНА», 2010. 202 с.
18. Медведев В.В. Оптимизация агрофизических свойств черноземов. Москва: Агропромиздат, 1988. 158 с.
19. Витер А.Ф. Динамика углекислого газа в почвенном воздухе. *Сб. науч. работ НИИ с.-х. Центрально-Черноземной полосы*. Воронеж, 1973. Т. 10. – С. 13-17.
20. Витер А.Ф., Турсов В.И., Докучаева В.В. Углекислота как элемент питания растений и ее регулирование различными обработками почв. Влияние технологического возделывания сельскохоззяйственных культур на плодородие почв. Воронеж, 1985. С. 134-140.
21. Масютенко Н.П., Масютенко М. Потоки углекислого газа из чернозема типичного за вегетационный период. Потери углерода из органического вещества почвы в зависимости от антропогенных факторов и экспозиции склона. *Материалы международной научной конференции «Современное состояние черноземов»*. Ростов-на-Дону, 2013. С. 188-190.
22. Орлов Д.С. Свойства и функции гуминовых веществ. Гуминовые вещества в биосфере. Москва: Наука, 1993. 237 с.
23. Бахшиев Н.Г. Введение в молекулярную спектроскопию. Ленинград: ЛГУ, 1987. 216 с.
24. Cabaniss S.E., McVey I.F. Aqueous infrared carboxylate absorbances: aliphatic monocarboxylates. *Spectrochim Acta*. 1995. V. 51. P. 2385-2395.
25. Cabaniss S.E., Leenheer J.A., McVey I.F. Aqueous infrared carboxylate absorbances: aliphatic diacids. *Spectrochim Acta*. 1998. V. 54. P. 449-458.
26. Ингрэм Д. Электронный парамагнитный резонанс в биологии. Москва: Мир, 1972. 295 с.
27. СВЧ-диэлектрометрия биотехнологических жидкостей / Т. А. Жилиякова, О. А. Горобченко, О. Т. Николов, Г. В. Голубничая. Киев: Проект "Наукова книга", 2015. 109 с.
28. Николов О.Т., Жилиякова Т.А. Измерение комплексной диэлектрической проницаемости жидких диэлектриков с большими потерями. *Журнал физической химии*. 1991. №5. Т. 65. С. 1417-1420.
29. Сябрук О.П., Чечуй О.Ф. Методи вимірювань інтенсивності емісії CO<sub>2</sub> у системі ґрунт-рослина / За ред. М. М. Мірошниченка. Харків: ННЦ «Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О.Н. Соколовського», 2016. 36 с.
30. Термометры метеорологические стеклянные. Технические условия: ГОСТ 112-78. [Действ. от 1981-01-01]. Москва: Стандартинформ, 2006. 15 с.
31. Якість ґрунту. Визначення сухої речовини та вологості за масою. Гравіметричний метод (ISO 11465:1993, IDT): ДСТУ ISO 11465-2001. [Чинний від 2003–01–01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2002. 10 с. (Національний стандарт України).
32. Макаров Б.Н. Упрощенный метод определения дыхания почвы. *Почвоведение*. 1957. № 9. С. 119-122.
33. Ларина Н.К., Касаточкин В.И. Спектральные методы исследования гуминовых веществ почв. Москва, 1966. 171 с.
34. Орлов Д.С. Спектрофотометрический анализ гумусовых веществ. *Почвоведение*. 1966. №11. С. 120-130.
35. Панкратова К.Г., Щелоков В.И., Сазонов Ю.Г. Использование диффузной отражательной ИК-спектроскопии для экспрессной оценки содержания гуминовых кислот в гуминовых препаратах. *Агрохимия*. 2005. №7. С. 77-86.
36. Ayton G.S., Noid W.G., Voth G.A. Multiscale modeling of biomolecular systems: in serial and in parallel. *Curr Opin Struct Biol*. 2007. V. 17. P.192–198.
37. Lehn J.M. Toward complex matter: Supramolecular chemistry and self-organization. *PNAS*, 2002. V. 99. P. 4763-4768.
38. Маршалл Э. Биофизическая химия. Москва: Мир, 1981. Т.1. 360 с.
39. Рубин А.Б. Биофизика. Москва: Книжный дом «Университет», 1999. Т. 1, 2. 488 с.
40. Либов В.С. Успехи и перспективы использования метода локального поля при изучении спектральных проявлений резонансных взаимодействий в конденсированной среде. *Журнал физической химии*. 1980. Вып 4, Т. 54. С. 817-828.
41. Pédrot M., Davranche M. Dynamic structure of humic substances: rare earth elements as a fingerprint. *J. Colloid Interface Sci*. 2010. V. 345. P. 206-221. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.01.069>.
42. Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, 13C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy./ P. Gonzalez, L. Martin-Neto, S. Saab, E. Novotny E. [et al.]. *Geoderma*. 2004. V. 118 P. 181-190. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(03\)00192-7](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00192-7).
43. Кудеярова А.Ю. Об информативности электронных спектров гумусовых веществ. *Почвоведение*. 2001. № 11. С. 1323-1331.
44. Кудеярова А.Ю. Приложение фундаментальных положений химии к пониманию механизмов образования и трансформации гумусовых веществ (обзор литературных и собственных экспериментальных данных). *Почвоведение*. 2007. № 9. С. 1048-1063.
45. Кудеярова А.Ю. Электронная спектроскопия как метод изучения влияния анионов, минеральных кислот и удобрений на структурные характеристики гумусовых кислот. *Агрохимия*. 2007. № 11. С. 71-84.
46. Piccolo A., Stevenson F.J. Infrared spectra of Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> complexes of soil humic substances. *Geoderma*. 1982. V. 27. P. 195-208.
47. Stevenson F.J., Gosh K.M. Infrared spectra of humic acid and related substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1971. V. 35. P. 471-483.
48. Альтшулер С.А., Козырев Б.М. Электронный парамагнитный резонанс соединений элементов промежуточных групп. Москва: Наука, 1972. 366 с.

49. Конформационные перестройки супраструктуры гуминовых кислот чернозема типичного в зависимости от способов обработки почвы / Е.В. Скрыльник, М.В. Шевченко, М.А. Попирный, О.Т. Николов. *Известия национальной академии наук Беларуси. Серия биологические науки*. 2018. №2, Т. 63.С. 209-221.
50. Кустов А.В. Термодинамика гидрофобных эффектов в бинарных и тройных системах, содержащих тетраалкиламмониевые ионы, аминокислоты и неэлектролиты: автореф. дис. доктора хим. наук: [спец.] 02.00.04. Иваново, 2012. 22 с.
51. Кутуля Л.А., Пивоваревич Л.П., Суров Ю.Н. Протоноакцепторная способность гетероароматических метилкетонов при образовании Н-комплексов с фенолом. *Реакц. способность орг. соединений*. 1973. Вып. 1, Т.10. С. 119-127.
52. Кутуля Л.А., Пивоваревич Л.П., Суров Ю.Н. Протоноакцепторная способность арилиденацетонов и их гетероциклических аналогов при образовании Н-связи. *Журнал орг. химии*. 1975. Вып. 10, Т 2. С. 2094-2099.
53. Emil S., Kinsinger C. Integration of omics sciences to advance biology and medicine. *Clin Proteomics*. 2014. № 11(1). 45 p.
54. Nebbioso A., Piccolo A. Basis of a humeomics science: chemical fractionation and molecular characterization of humic biosuprastructures. *Biomacromolecules*. 2011. V. 12. P. 1187-1199.
55. Наумовська О.І. Зміни показників фізико-хімічних та біологічних властивостей чернозему типового правобережного Лісостепу в умовах застосування ґрунтозахисних технологій: автореф. дис. канд. с.-г. наук: [спец.] 06.01.03 «Агроґрунтознавство і агрофізика». Київ: НАА, 2003. 24 с.
56. Agren G.I., Hyvonen R., Nilsson T. 2007. Are Swedish forest soils sinks or sources for CO<sub>2</sub> - model analyses based on forest inventory data. *Biogeochemistry*. № 82. P. 217-227.
57. Raich J.W. Schlesinger W.N. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus*. 1992. V. 44B. P. 81-89.
58. Davidson E.A., Savage K., Verchot L.V. Minimizing artefacts and biases in chamber based measurements of soil respiration. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2002. №113. P. 21–37.
59. Трофименко П.І., Борисов Ф.І. Визначення маси вуглецю під час його виділення з ґрунту за допомогою газоаналізатора. *Вісник ЖНАЕУ*. Житомир, 2014. № 2. С. 345 – 349.
60. Спосіб визначення інтенсивності емісії газів з ґрунту (на прикладі CO<sub>2</sub>). / П. І. Трофименко, О. П. Сябрук, Ф. І. Борисов [та ін.]. Харків: ННЦ «Інститут ґрунтознавства та агрохімії імені О.Н. Соколовського», 2019. 29 с.
61. Lifeng H., Li H., Zhang X. Using conservation tillage to reduce greenhouse gas emission in northern China. *Department of Agricultural Engineering*. China Agricultural University, 2008. P. 78-82.
62. Емцев В., Мишустин Е. Микробиология (6-е издание). Москва: Дрофа, 2006. С. 112-116.

UDC 631.421: 631.417.2: 631.433.5

## The newest integrative methods of research of soil organic carbon stabilization at different tillage

M. A. Popirny<sup>1</sup>, O. P. Siabruk<sup>1\*</sup>, R. V. Akimova<sup>1</sup>, M. V. Shevchenko<sup>2</sup>

National Scientific Center "Institute for Soil Science and Agrochemistry Research named after O.N. Sokolovsky",

Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>Kharkiv national agrarian university named after V. V. Dokuchaev,

Kharkiv, Ukraine

\*E-mail: syabryk86@gmail.com

In agriculture, one of the technologies for the recovery of lost organic carbon is the minimum and no-till methods, which contribute to the increase of organic matter and the global stabilization of carbon dioxide. But the effectiveness of carbon sequestration in soil by such methods is limited by the fact that organic carbon is quickly released from the soil, which is returned to plowing. Therefore, this necessitates an urgent need to study the response processes of humus molecules, leading to the structuring of soil organic matter to manage carbon sequestration and integrative monitoring of CO<sub>2</sub> emissions. The purpose of the work was to identify and establish the processes of response of humic molecules as a complete supramolecular system by integrative spectroscopic approach that determine the stabilization of soil carbon and determine the dynamics of CO<sub>2</sub> emissions from the soil. The studies were aimed at detecting changes in the integral characteristics of the spectra in complex molecular spectroscopic analysis of all humic acid (HA) extract of chernozem typical and to determine the impact of different tillage methods on soil CO<sub>2</sub> emissions. Complex spectroscopic analysis was performed in the advanced laboratories of KNU named after V. N. Karazin and the Scientific and Technological Complex "Institute of Single Crystals". Instrumental control of the carbon dioxide release rate from the soil surface was performed using a portable gas analyzer testo 535. With using modern spectroscopic methods of unfractionated chernozem typical humic acid extracts, there were established processes of reorganization of humic superstructure, characterized by the restructuring of intermolecular forces, which causes a change in the reactivity and stability of HA. It is revealed that humic superstructure of arable chernozem typical is characterized by high molecular mobility, due to hydrophilic positive hydration and good solubility, high sorption and complexing properties, but with poor ability to attach, due to migratory "scattering", deep into the soil profile. It is proved that the largest total volumes of CO<sub>2</sub> emissions from typical chernozem are characterized by the technology of direct sowing (no - tillage), this is facilitated by better water regime and fuller mineralization of plant residues on the soil surface. During basic tillage by disking of 10-12 cm, the annual carbon losses are the lowest. In addition, systematic plowing over 6 years led to a decrease in the content of labile organic matter and fulvic acids. and a reduction in the potential for CO<sub>2</sub> production in the topsoil compared to surface tillage and direct sowing technology.

**Keywords:** organic carbon, tillage system, integrative methods, complex spectroscopic, humic acids, carbon dioxide

*Citing:* Popirny M., Siabruk O., Akimova R., Shevchenko M. 2020. The newest integrative methods of research of soil organic carbon stabilization at different tillage. *Agrochemistry and Soil Science*. Collected papers. No. 90. Kharkiv: NSC ISSAR, P.13-28. (Ukr.). DOI: <https://doi.org/10.31073/acss90-02>.