

Н.Ш. Акимбеков¹ , Қ.Т. Тастамбек^{1,2*} , Д.К. Шерелхан¹ ,
А.Б. Мылтыбаева¹ , Н.П. Алтынбай¹ , Х. Расулбекқызы¹ ,
Р.Х. Гулам¹ , П. Қуанышбек¹ 

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

²Таразский региональный университет имени М.Х. Дулати, Казахстан, г. Тараз

*e-mail: tastambeku@gmail.com

РАЗРАБОТКА БИОФУНКЦИОНИЛИЗОВАННОГО МЕЛИОРАНТА НА ОСНОВЕ УГОЛЬНОЙ ЗОЛЫ, НАСЫЩЕННОЙ ГУМУСОМ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ ПОЧВЫ

Большая часть промышленного и энергетического секторов экономики ведет к производству огромного количества разнообразных отходов, которые, при неправильном обращении, могут иметь разрушительные последствия для окружающей среды. Угольная зола является одним из наиболее сложных и распространенных антропогенных отходов и традиционно считается весьма проблематичной для переработки и утилизации. Вывоз УЗ-отходов на городские свалки делает почву непригодной к использованию и загрязняют наземные и водные экосистемы. Эти вредные процессы приводят к хроническому загрязнению и деградации вод, почв и воздуха.

Наши предыдущие экспериментальные исследования показали, что добавление в почву веществ, полученных из угля, помогает улучшить физико-химические и биологические свойства почвы, стимулируя рост растений и повышая урожайность. Основное преимущество УЗ, по сравнению со многими другими неорганическими мелиорантами, заключается в том, что она может быть легко оптимизирована с технической точки зрения благодаря ее известному химическому составу, специфическому сочетанию свойств поверхности и иерархической пористости.

Использование полезных почвенных микроорганизмов, а также ГК в сочетании с УЗ может потенциально стимулировать производство сельскохозяйственных культур посредством механизмов биодобрения, включая биологическую фиксацию азота, солюбилизацию фосфатов, продукцию фитогормонов и процессы биоконтроля. Таким образом, РСРР являются ключевым фактором в поддержании плодородия почвы в качестве компонентов, участвующих в разработке композитов УЗ-ГК, и могут применяться при совместной инокуляции.

Целью исследования является разработка технологии производства высокоэффективного биотехнологического удобрения нового поколения – УЗ-ГК-РСРР.

Создание новых удобрений путем сочетания УЗ с традиционно используемым органическим навозом, дигестатом, компостом и илом имеет большие многообещающие возможности. Однако экологическое и биогеологическое поведение УЗ еще недостаточно изучено. Разработка качественных продуктов на основе УЗ требует определения характеристик выделения питательных веществ и детального изучения их эффективности для различных типов почв и агроэкологических условий. В результате УЗ-ГК-РСРР будут спроектированы и функционилированы как новый удобрения.

Ключевые слова: угольная зола, бурый уголь, гуминовая кислота, метагеномика, микробиом, ризобактерии, почва.

N.Sh. Akimbekov¹, K.T. Tastambek^{1,2*}, D.K. Sherelkhan¹, A.B. Myltykbaeva¹,
N.P. Altynbay¹, Kh. Rassulbekkyzy¹, R.H. Ghulam¹, P. Kuanyshbek¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Taraz Regional University named after M.Kh. Dulati, Kazakhstan, Taraz

*e-mail: tastambeku@gmail.com

Development of a biofunctionalized humic-loaded fly ash amendment for improving soil health

The intensive industrial and power sectors generate huge amounts of diverse wastes which have detrimental consequences for the environment if not properly managed. Fly ash is one of the most complex and abundant anthropogenic wastes and has traditionally been considered as highly problematic for

the treatment and disposal. Being dumped on indigenous and community lands, FA-wastes block their usage and contaminate terrestrial and aquatic ecosystems. These detrimental processes lead to chronic pollution and degradation of waters, soils, and air.

Our previous pilot studies implied that the addition of coal-derived substances to soil help to improve soil physicochemical and biological properties stimulating plant growth and enhancing crop yield. The main advantage of FA as compared to many other inorganic amendments is that it can be easily engineeringly optimized due to its precisely characterized chemical composition, a specific combination of surface properties, and hierarchical porosity.

The use of beneficial soil microorganisms as well as HA in combination with FA can potentially stimulate crop production through biofertilization mechanisms, including biological nitrogen fixation, phosphate solubilization, phytohormone production, and biocontrol processes. Thus, PGPR is a key factor in maintaining soil fertility as a candidate for FA-HA composite engineering and co-inoculation could be an excellent application.

The aim of the proposed research is to develop technology for the production of highly efficient biotechnological fertilizer of new-generation – FA-HA-PGPR.

Synthesis of novel fertilizers by a combination of FA with traditionally used farmyard manure, digestate, compost, and sludge has a very promising potential. However, the ecological and biogeological behavior of FA is not yet adequately studied. Engineering of quality FA-based products requires determination of the nutrient release characteristics and detailed examination of its performance for various soil types and agroecological conditions. As a result, FA-HA-PGPR will be engineered and functionalized as a new fertilizer.

Key words: coal ash, brown coal, humic acid, metagenomics, microbiome, rhizobacteria, soil.

Н.Ш. Акимбеков¹, Қ.Т. Тастамбек^{1,2*}, Д.К. Шерелхан¹, А.Б. Мылтыбаева¹,
Н.П. Алтынбай¹, Х. Расулбекқызы¹, Р.Х. Гулам¹, П. Қуанышбек¹

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

²М.Х. Дулати атындағы Тараз өңірлік университеті, Қазақстан, Тараз қ.

*e-mai: tastambeku@gmail.com

Топырақтың жағдайын жақсарту үшін қарашірікпен қаныққан көмір күлі негізінде биофункцияланған мелиорантты жасау

Экономикадағы өнеркәсіптік және энергетикалық секторларының ауқымды бөлігі үлкен көлемде әртүрлі қалдықтарды бөліп шығарады, олар егер шешімін тауып, дұрыс жолға қойылмаса, қоршаған ортаға орны толмас зардабын тигізеді. Көмір күлі ең күрделі және кең таралған антропогендік қалдықтардың бірі болып табылады және дәстүрлі түрде өңдеу мен жою үшін өте мәселелі болып саналады. Қалалық қоқыс орындарына тасталынған КК-қалдықтары топырақты пайдалануға жарамсыз етеді және жер үсті және су экожүйелерін ластайды. Бұл зиянды үрдістер созылмалы ластануға және су, топырақ пен ауаның деградациялануына алып келеді.

Біздің алдыңғы эксперименттік зерттеулеріміз көмірден алынған заттардың топыраққа қосылуы топырақтың физика-химиялық және биологиялық қасиеттерін жақсартуға, өсімдіктердің өсуіне және өнімділігінің артуына ықпал ететінін көрсетті. КК-нің басқа да көптеген бейорганикалық модификациялармен салыстырғандағы басты артықшылығы – бұл оның белгілі химиялық құрамы, беткі қасиеттері мен құрылымдық кеуектілігінің арнайы үйлесімі арқасында белгілі бір техникалық тұрғыдан оңай оңтайландыруы мүмкін.

Пайдалы топырақ микроорганизмдерін, сонымен бірге ГҚ-ын КК-мен бірге қолдану биотыңайту тетіктері, соның ішінде биологиялық азотты тұту, фосфатты солюбизациялау, фитогормондар өндірісі және биобақылау үдерістері арқылы ауылшаруашылық дақылдар өндірісін ынталандыруы мүмкін. Осылайша, ӨӨЫР-сы КК-ГҚ композиттерін әзірлеуге қатысатын компоненттер ретінде топырақ құнарлылығын сақтаудың маңызды факторы болып табылады және бірлескен инокуляция кезінде қолдануға болады.

Ұсынылып отырған зерттеудің мақсаты жаңа буындағы жоғары тиімді биотехнологиялық тыңайтқышты – КК-ГҚ-ӨӨЫР өндіру технологиясын жасау болып табылады.

КК дәстүрлі қолданылатын органикалық көң, дигестат, компост және белсенді лаймен біріктіріп жаңа тыңайтқыштар жасаудың болашағы зор. Алайда, КК-нің экологиялық және биогенділік табиғаты толық зерттелмеген. КК-не негізделген сапалы өнімдерді әзірлеу қоректік заттардың бөлінуінің сипаттамаларын анықтауды және топырақтың әртүрлі түрлері мен агроэкологиялық жағдайларға әсерін егжей-тегжейлі зерттеуді қажет етеді. Нәтижесінде жаңа тыңайтқыш ретінде КК – ГҚ – ӨӨЫР жобаланатын және функционалданатын болады.

Түйін сөздер: көмір күлі, қоңыр көмір, гумин қышқылы, метагеномика, микробиом, ризобактерия, топырақ.

Сокращения и обозначения

УЗ – угольная зола, ГК – гуминовая кислота, РСРР – ризобактерии, стимулирующие рост растений.

Введение

Угольная зола, как побочный продукт сжигания всех видов угля, является одним из наиболее сложных и распространенных антропогенных отходов и считается весьма проблематичной для утилизации. Вывоз УЗ-отходов на городские свалки делает почву непригодной к использованию и загрязняют водные экосистемы и почвенный слой.

Чрезвычайно высокая площадь поверхности и большая пористость делают УЗ привлекательным инструментом для эффективной адсорбции и удержания гуминовой кислоты, полученной из угольных отходов. Кроме того, являясь идеальным средством доставки ГК (органическая добавка) в почву, сама УЗ может служить источником макро- и микроэлементов (неорганическая добавка). Изобилие, низкая стоимость и экологически безопасный характер УЗ могут обладать большими преимуществами при внесении в почву в «смайт» сельском хозяйстве. Следовательно, возможность создания композитного материала, объединяющего как УЗ, так и ГК, представляется особенно выгодной для устойчивого растениеводства. «Зеленое» сельское хозяйство требует применения не только эффективных органоминеральных добавок, которые содержат макро- и микроэлементы, но также биостимуляторов роста растений – бактерий, которые являются источником биологически активных соединений.

Мировой спрос на энергию в основном удовлетворяется за счет угольных электростанций (>30%) [1]. В настоящее время мировая добыча угля составляет около 7,9 млрд тонн в год [2]. Ожидается, что мировое потребление угля вырастет на 49% с 2006 по 2030 год согласно прогнозу International Energy Outlook (IEO, 2009). В Казахстане около 53,7% общей потребности в энергии покрывается за счет сжигания угля на тепловых электростанциях (ТЭС). Это может продолжаться достаточно длительное время, учитывая, что Казахстан имеет ~25,6 млрд. тонн запасов угля в более чем 400 месторождениях, расположенных в центральных и северных регионах страны [3].

При сжигании угля для выработки электроэнергии на ТЭС образуются твердые отходы, та-

кие как угольная зола и золошлаковые отходы. Общее количество золы, производимой во всем мире огромно. По оценкам, оно превышает 750 миллионов тонн в год, но используется лишь менее 50% мирового производства УЗ [4]. Использование высокозольного угля с низкой теплотой сгорания для сжигания на ТЭС приведет к многократному увеличению образования УЗ. Образовавшиеся в огромных количествах УЗ сбрасываются в золоотвалы, с использованием системы гидрозолоудаления. Однако, эти отходы могут использоваться как альтернативы промышленных ресурсов, процессов и систем (добавка к цементу и бетонным изделиям, конструкционный наполнитель, материал для покрытия, материал конструкции с минимальным весом, инфильтрационный барьер, заполнитель подземных пустот, а также в качестве мелиоранта для улучшения свойств почвы, воды и окружающей среды). Более того, существует огромное количество деградированных почв/земель ($1,9 \times 10^9$ га), имеющих в мире, которые необходимо восстановить соответствующими технологиями [5]. Около 1,5 млрд га территории пригодны для восстановления сельскохозяйственного назначения, в частности, для удовлетворения потребностей постоянно растущего населения [6]. Около 99,9% продуктов питания (калорий) человека приобретается «с земли»; за последние 50 лет общая площадь обрабатываемых земель на душу населения постепенно сократилась с 0,44 га до <0,25 га. Таким образом, проблемы восстановления нарушенных и неплодородных земель с целью их дальнейшего использования в сельском хозяйстве являются чрезвычайно актуальными [7].

Применение УЗ в качестве мелиоранта/структурообразователя почвы является потенциально наиболее оптимальной с точки зрения использования его огромного количества, решения экологических проблем и применения экономической перспективы. Многочисленные исследования указывают на более широкий потенциал УЗ в повышении продуктивности почв и улучшении деградированных земель для восстановления флоры и растительности [8–10]. Использование УЗ в качестве мелиоранта или почвенной добавки может быть улучшено путем комбинирования ее с органическими компонентами, которые значительно богаты N и P [11]. Добавление таких биологических веществ в УЗ может повысить результативность и эффективность мер по рекультивации земель и почвенного покрова.

В контексте использования производных угля в зеленом хозяйстве особое внимание также уделяется производству других побочных продуктов из низкосортных углей, таких как гуминовые кислоты. Эти компоненты являются наиболее сложным и биологически активным органическим веществом почвы и, как известно, стимулируют структуру и функциональность микробных сообществ, что приводит к более высокой доступности макро- и микроэлементов для роста растений и улучшают физико-химическое состояние почвы [12]. Применение полезных почвенных микроорганизмов в сочетании с мелиорантами является одним из наиболее важных биологических методов, направленных на обеспечение устойчивости аграрных, социально-экономических и экологических систем. Ризобактерии, стимулирующие рост растений являются основной функциональной группой почвенного микробиома, известной своими преимуществами, способствующими укреплению здоровья у растений [13].

Учитывая вышеизложенное, настоящее исследование направлено на разработку эффективного подхода к утилизации отходов переработки угля с использованием микробной биоконверсии в устойчивом сельском хозяйстве.

Материалы и методы

Объекты исследования. В работе были использованы бурые угли Экибастузского угольного бассейна (51.7299° N, 75.4060° E) Павлодарской области, как источник гуминовых веществ. Отбор проб проводили согласно ISO 18283:2006 «Hard coal and coke – Manual sampling» и ISO 13909-4:2016 Preview Hard coal and coke – Mechanical sampling – Part 4: Coal – Preparation of test samples» (ГОСТ 10742-71).

Гуминовая кислота, экстрагированная из бурого угля Экибастузского угольного месторождения.

Угольная зола, образующаяся при высокотемпературном сжигании Экибастузского угля, отобранная из золоуловителей Аксуской ГРЭС г. Экибастуз.

Ризобактерии, стимулирующие рост растений, выделенные из ризосферы припахтных территорий Экибастузского угольного месторождения.

Материалы. В работе были использованы следующие селективные и общие питательные среды для роста микроорганизмов:

1. Azospirillum Medium с 0,17% агара, используемый для выращивания видов рода *Azospirillum*.

2. Acetobacter agar (источник глюкозы, маннитола), используемый в качестве поддерживающей среды для глюкозы/маннитол-положительных бактерий *Acetobacter*.

3. LB среда (Luria-Bertani Medium) – для поддержания жизнедеятельности и получения биомассы *Pseudomonas*. Состав (г/л): триптон – 10,0, дрожжевой экстракт – 5,0, NaCl – 5,0.

4. Используется для выращивания, выделения и подсчета почвенных микроорганизмов, таких как *Rhizobium*.

Методы исследований. Определяли следующие характеристики: влажность (W), зольность (A), теплота сгорания (Q) и выход летучих веществ (V).

Элементный анализ. Содержание элементов угля определяли на автоматическом анализаторе vario EL cube (Германия).

Функциональный состав продуктов сжигания углей. Измерения аналитических линий элементов выполняли на волновом рентгеновском спектрометре S6 JAGUAR XRF (Bruker, Германия).

Рамановская спектрометрия. Для анализа структурного состава УЗ применялся Рамановский спектрометр Solver Spectrum (NT-MDT, Россия).

Микроструктурной анализ. Сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) Quanta 200i 3D (FEI, Голландия) при ускоряющем напряжении 10-30 кВ использовали для изучения топографии поверхности бурого угля/угольной золы и измерения микрообъектов.

Определение физических свойств УЗ. Получение дисперсных фракций осуществлялось методом аэродинамического разделения (центробежный лабораторный классификатор 50 АТР Hosokawa ALPINE, Германия) с последующей магнитной сепарацией, согласно [48].

Экстракция ГК солубилизации бурого угля (БУ). ГК была получена с помощью модифицированной методики [49]. 1 г измельченного в порошок БУ суспензировали в 50 мл 0,1 М NaOH и встряхивали при 20°C/24 часов, после чего центрифугировали при 11 200 G-force/15 мин. Супернатант фильтровали через бумажный Whatman No.1 фильтр и осаждали, доводя pH до 2,0 с помощью 11,6 М HCl. Раствор отстаивали в течение 12 ч, с последующим центрифугированием при 11 200 G-force/15 мин, затем 3 раза промывали dH_2O и сушили при 60°C. Получен-

ный продукт был определен как ГК (гуминовая кислота).

Выход гуминовой кислоты рассчитывали на воздушно-сухой основе по формуле [50]:

$$\varepsilon = \frac{M_{YM}(1-M_{ad})-M_{CY}}{M_{YM}(1-M_{ad})} \quad (1)$$

где: ε – выход ГК, %; M_{YM} – масса БУ, г; M_{CY} – масса остаточного БУ, г; M_{ad} – содержание воды в необработанном БУ, %.

Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (Фурье-спектроскопия) образцов ГК были проанализированы с использованием спектрометра Nicolet 6700 FT-IR. ИК-спектр регистрировали в диапазоне от 400 до 4.000 см^{-1} . Использовались следующие параметры сбора данных: количество выборочных сканов – 32; Разрешение – 4.000; Нулевое заполнение – 2; Частота He-Ne-лазера: 15798,0 см^{-1} ; Пиковое положение помехи – 8192; Функция аподизации – N-V сильная; Фоновые сканы – 32; Усиление фона – 1,0; Оптическое волокно – 100,00; Прирост выборки – 1,0; Фильтр верхних частот – 200,0000; Фильтр нижних частот – 20000,0000; Метод сбора данных – GC / IR; Окончательный формат -% передачи.

Флуоресцентный спектрометр FP-8500 (Jasco, Japan) использовали для измерения характеристик возбуждения (Em) – излучения (Ex) эмиссии образцов ГК, растворенных в буфере при концентрации 10 мг/л при 20°C.

Использование методов современной метагеномики с использованием технологии СНП Illumina. Общий подход подготовки библиотек для секвенирования нового поколения на платформе Illumina включает несколько этапов: 1. Выделение тотальной ДНК из образца; 2. Определение участков для секвенирования и скрининг праймеров для дальнейшей амплификации с помощью ПЦР; 3. Двойное баркодирование полученных библиотек для секвенирования; 4. Секвенирование; 5. Биоинформатический анализ и визуализация полученных данных. Каждый этап выполнялся по стандартным протоколам компании-производителя [51]. Секвенирование образцов проводилось на приборе HiSeq компании Illumina (США) согласно стандартным протоколам [52].

Определение адсорбции ГК на УЗ. В качестве сорбента для адсорбции ГК использовалась УЗ. Концентрацию ГК в растворе определяли спектрофотометрически, как описано ниже, и удержание адсорбата (ГК) на адсорбенте (УЗ) (мг г^{-1}) рассчитывали по следующему уравнению:

$$Q_e = \frac{C_0 - C_e}{m} V \quad (2)$$

где: Q_e – равновесная концентрация ГК на адсорбенте (мг г^{-1}), C_0 – начальная концентрация ГК в растворе (мг л^{-1}), C_e – равновесная концентрация ГК в растворе (мг л^{-1}), m – масса адсорбента (г) и V – объем раствора ГК (л).

Эксперименты по адсорбции также повторяли при 18, 35, 50, 65, и 80°C и при нескольких значениях pH (5, 6, 7, 8, 9, 10) для изучения влияния температуры и кислотности среды, соответственно. Влияние времени на удержание ГК исследовали в интервале от 2 до 180 мин.

Определение концентрации ГК. Экстракция ГК из бурого угля с использованием растворов КОН была произведена согласно [14]. Для определения концентрации ГК использовали спектрофотометр V-550 (Jasco, Япония). На основе экспериментальных данных была построена калибровочная кривая, которая представлена на рис. 1, в виде зависимости величины поглощения света на оси ординат от концентрации ГК на оси абсцисс. Технические характеристики процесса: кварцевая кювета (\varnothing 1 см) с фосфатным буфером (pH 7), длина волны наблюдения величины поглощения – 550 нм, спектры поглощения в диапазоне длин волн от 200 до 900 нм.

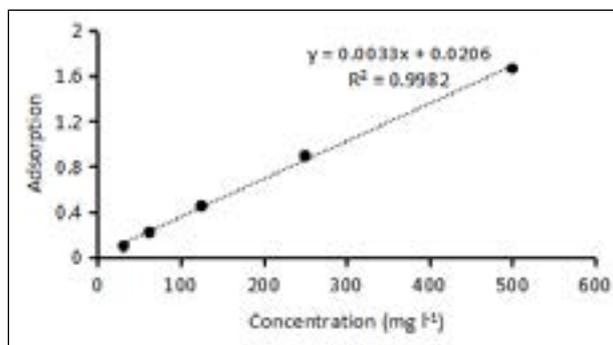


Рисунок 1 – Калибровочная кривая для определения концентрации ГК

Определение десорбции ГК. Эксперименты по десорбции проводили с ГК-УЗ (0,5 г) путем промывания дистиллированной водой (10 мл). Водный экстракт центрифугировали от УЗ и спектрофотометрически рассчитывали концентрацию выделившихся в среде ГК.

Эксперименты в микрокосмах. В опытах использовали темно-каштановую и илисто-глинистую почвы. Образцы почвы отбирались рандомизированным образом с глубины <20 см на рас-

стоянии не менее 5 м от ближайших деревьев. Затем почвы сушили на воздухе не менее 24 часов и просеивали через сеть с отверстиями размером 2 мм и хранили при 4°C не более чем 2 недели перед началом экспериментов. Физико-химические свойства почвы были охарактеризованы до и после внесения добавок/поправки (10, 30 и 60 дней). Измерения pH проводили на суспензиях с 5 г высушенных на воздухе образцов почвы в 25 мл дистиллированной H₂O с помощью pH-метра 781 (Metrohm AG, Германия).

В почву вносили композит УЗ-ГК (0.1, 0.5 и 1 г кг⁻¹), отдельно УЗ (0.1, 0.5 и 1 г кг⁻¹) и отдельно ГК (0.01, 0.05 и 0.1 г кг⁻¹), представляющие три вида обработки. Контролем являлась необработанная почва. В частности, поправки (по сухому весу) вносили в почву (6 л, n = 5) при интенсивном перемешивании. Дозы были определены в соответствии с характеристиками почвы для увеличения содержания питательных веществ в почве. Содержание влаги в почве было доведено до 40% от влагоемкости почвы. Образцы почвенных микрокосмов инкубировали в темноте при 25°C, и анализировали через 10, 30, и 60 дней после обработки.

Методы изучения биохимических свойств РСРР. Физиологические и функциональные профили исследуемых культур, оценивали с помощью системы BiologEcoPlate (BIOLOG, Inc., Калифорния, США) в соответствии с методологией [15]. Каждый планшет BiologEcoPlate содержит 31 вид источника углерода или воду в трех экземплярах (семь типов углеводов, девять карбоновых кислот, четыре полимера, шесть аминокислот, два амина / амида и три разных компонента) В лунки планшета вносили по 1 мл суспензии суточных культур бактерий (по стандарту мутности 0,5 по МакФарланду) и инкубировали при 35°C в течение 10 дней. Эксперимент проводился в трех повторностях. Микробную активность рассчитывали, как среднее проявление цвета лунки субстрата (SAWCD, substrate average well colour development) через 10 дней, согласно [16].

Определение способности изолятов к солибилизации фосфатов. Бактериальные изоляты на фосфатрастворяющую способность тестировали на среде Пиковской (PVK). Суточную колонию бактерий поместили на готовую питательную среду, инкубировали при 28°C и через 5 дней измеряли диаметр ореола вокруг колонии. Размер ореола рассчитывали путем вычитания диаметра колонии из общего диаметра вместе с ореолом. Состав среды PVK (г л⁻¹): глюкоза – 10,

Ca₃(PO₄)₂ – 5, (NH₄)₂SO₄ – 0.5, NaCl – 0.2, MgSO₄ • 7H₂O – 0.1, KCl – 0.2, дрожжевой экстракт – 0.5, MnSO₄ • H₂O – 0.002, FeSO₄ • 7H₂O – 0.002.

Определение способности культур к азотификации. Изучение азотфиксирующей способности культур проводили с использованием среды Дженсена следующего состава (г л⁻¹): сахара – 20, K₂HPO₄ – 1, MgSO₄ – 0.5, NaCl – 0.5, Fe₂SO₄ – 0.1, Na₂MoO₄ • 2H₂O – 0.005, CaCO₃ – 2, агар – 15.

Культивирование РСРР. Изоляты, стимулирующие рост растений хранились в питательном бульоне (ПБ) с 15% глицерином при -80°C и выращивались на питательном агаре (ПА). Одиночные колонии переносили в 500 мл колбы с NB, и инкубировали в аэробных условиях на вращающемся шейкере (150 об/мин) в течение 24 ч при 28°C [17, 18]. Затем бактериальную суспензию разбавляли стерильной водой и равномерно смешивали с почвой (1×10⁸ КОЕ кг⁻¹) в соотношении 1:50 (об./об.) с помощью ручного опрыскивателя.

Физико-химические анализы почвы. В опыте проводились следующие исследования почвы: влажность по [19]; твердость по [20]; объемную массу по [21]; водопроницаемость почвы оценивали по [22]. Химические исследования почвы в слое <15 см включали определение: обменной кислотности [22]; нитратного азота по [23]; подвижного фосфора [24] и обменного калия по [25].

Ферментативная активность почвы. Активность почвенных ферментов определяли с использованием 96-луночного планшета. Фенолоксидазу измеряли по методу [26], активность пероксидазы измеряли с 3,3',5,5'- тетраметилбензидин (ТМВ) [28], дегидрогеназу определяли с использованием в качестве субстрата 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТС) [27].

Гетеротрофное дыхание CO₂. Микробное дыхание измеряли с помощью портативного почвенного респиратора (инфракрасный газоанализатор, Li-Cor, США). Вдыхаемый CO₂ улавливался в течение двух часов инкубации при 25°C. Образцы газа объемом 5 мл собирали в начале и конце инкубационного периода с помощью стеклянного шприца и вводили в газоанализатор. Поток CO₂ был рассчитан путем вычитания начальных концентраций из конечных. CO₂ в почве измеряли периодически в течение 90 дней инкубации.

Методы характеристики УЗ и УЗ-ГК. Функциональный состав продуктов по методу ДРСДВ. Измерения аналитических линий элементов вы-

полняли на волновом рентгеновском спектрометре S6 JAGUARXRF (Bruker, Германия); спектрометр укомплектован рентгеновской трубкой с Rh-анодом, номинальная мощность – 4 кВт.

Микроструктурной анализ. Сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) Quanta 200i 3D (FEI, Голландия) при ускоряющем напряжении 10-30 кВ использовали для изучения топографии поверхности УЗ и композита.

Рентгеноструктурный анализ (РСА). Рентгенофлуоресцентный анализ минеральной части материалов выполнялся на дифрактометре Empyrean X-ray Diffraction System (MalvernPanalytical, Голландия) способом разложения рентгеновского излучения.

Статистические анализы. Достоверность и надежность материалов исследований оценена статистическими методами. Анализ и обобщение физико-химических и микробиологических исследований выполнен с использованием про-

граммного обеспечения банка данных, а также пакета статистической обработки MicrosoftExcel и STATA. Все заявленные значения даны как среднее значение ± стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

Пробы УЗ из золоуловителей Аксуской электростанции отбирали от каждого котлоагрегата в период работы на стабильном режиме. От каждого котлоагрегата отбирали отдельные пробы в количестве, необходимом для составления средней пробы в размере 100 кг.

Химический состав УЗ. Учитывая комплексный мульти-элементный состав УЗ, количественное определение проводили двумя методами:

1. Элементный анализ с использованием сканирующего электронного микроскопа, оборудованного EDAX GENESIS 2000 детектором (рис. 2).

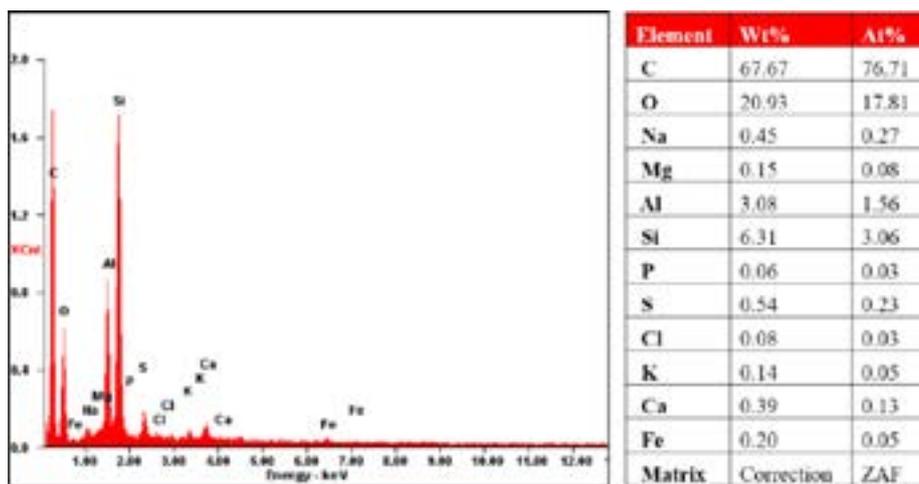


Рисунок 2 – Элементный анализ УЗ, в расчете на Wt% и At%

Как видно, в составе исследуемой УЗ тяжелые металлы отсутствуют. Однако присутствие в составе S, N, Mg, P, и Fe дает возможности для роста и пролиферации в нем перспективных микроорганизмов, которые используют эти элементы в качестве питательного субстрата.

2. Элементный анализ методом рентгенофлуоресценции (РФА). На данном этапе изучен процесс определения содержания в УЗ основных компонентов и микроэлементов методом РФА, результаты которых приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Химический состав УЗ, Wt%

| Компоненты | Доля | Компоненты | Доля |
|--------------------------------|-------|-------------------------------|------|
| SiO ₂ | 59,74 | MgO | 0,55 |
| Al ₂ O ₃ | 27,44 | MnO | 0,10 |
| Fe ₂ O ₃ | 6,56 | Na ₂ O | 0,45 |
| TiO ₂ | 1,45 | P ₂ O ₅ | 0,82 |
| K ₂ O | 0,74 | LOI* | 1,02 |
| CaO | 1,13 | | |

* потери при прокаливании

Полученные результаты показывают, что основу УЗ составляют оксиды кремния, алюминия и железа (93.74%). Модуль основности (M_O), калькулированный, как отношение сумм оксидов щелочноземельных металлов к сумме кислотных оксидов равен 0,019, что позволяет отнести УЗ к кислым золам ($M_O < 1$) (формула 3):

$$M_O = \frac{CaO + MgO}{SiO_2 + Al_2O_3} \quad (3)$$

где: M_O – модуль основности.

Физические характеристики УЗ приведены в таблице 2. Кривые распределения частиц УЗ по размеру представлены на рис. 3 в кумулятивной и дифференциальной форме. Данные демонстрируют широкие диапазоны размеров частиц, характеризующиеся $d_{10} = 4,3 \mu\text{m}$, $d_{50} = 31,5 \mu\text{m}$ и $d_{90} = 86,0 \mu\text{m}$ (табл. 2).

Таким образом, УЗ характеризуется средней насыпной плотностью 1,04 г/см³, распределение частиц составляет d_{cp} μm .

Таблица 2 – Насыпная плотность, содержание магнитной фракции и характеристика распределения частиц по размеру УЗ

| Насыпная плотность, г/см ³ | Содержание магнитной фракции, мас. % | Распределение по размерам, μm | | | |
|---------------------------------------|--------------------------------------|--|----------|----------|----------|
| | | d_{cp} | d_{10} | d_{50} | d_{90} |
| 1,04 | 6,1 | 39 | 4,3 | 31,5 | 86,0 |

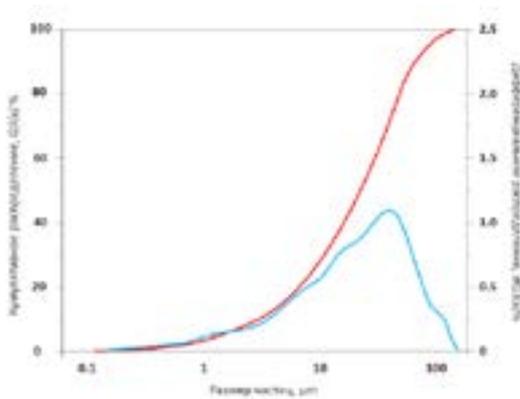


Рисунок 3 – Распределение частиц УЗ по размеру в кумулятивной (интегральной) $Q3(x)$ и дифференциальной $dQ3(x)$ форме

Охарактеризованные зольные фракции соответствуют требованиям к размеру частиц, фазовому и химическому составу, могут быть адресно использованы для получения гетерогенных материалов с уникальными и управляемыми свойствами, что приведет к снижению объемов отходов УЗ [53].

Рамановская спектроскопия. Спектроскопию использовали для изучения микроструктуры УЗ. Раманские спектры записывали в более широком (до 3500 см⁻¹) диапазоне. Рис. 4 демонстрирует полученные спектры УЗ. В основном все спектры представлены двумя характерными для аморфного углерода пиками, которые отно-

сятся к так называемым полосам D (diamond) и G (graphite).

На фоне полосы выявляются интенсивные линии с максимумами при ~1360 см⁻¹ (рассеяние на аморфных карбоновых группах) и ~1600 см⁻¹ (рассеяние на ароматических кольцах и сопряженных с ними С=О-связях).

Образцы имеют неоднородную структуру в зависимости от области на каждой отдельной частице. В основном, в пробах наблюдается наличие кварца и оксида железа (табл. 3).

Морфологические характеристики угольной золы. Для детального анализа структуры поверхности УЗ был применен метод СЭМ. На рисунке 5 представлены микроснимки образца исследуемого материала. На обзорных фотографиях (рис. 5а) видно, что частицы золы имеют неправильную форму, рельеф поверхности частиц имеет высокую степень шероховатости и большое количество пор различной геометрической формы. Наблюдаются отдельные сфероподобные формы. На поверхности присутствуют более мелкие частицы правильной сферической формы. На увеличенных снимках (рис. 5б) заметно, что мелкие сферы локализованы в порах, а более крупные располагаются на поверхности образца.

Результаты изучения химико-технических характеристик проб низкосортного бурого угля месторождения Экибастуза представлены в табл. 4.

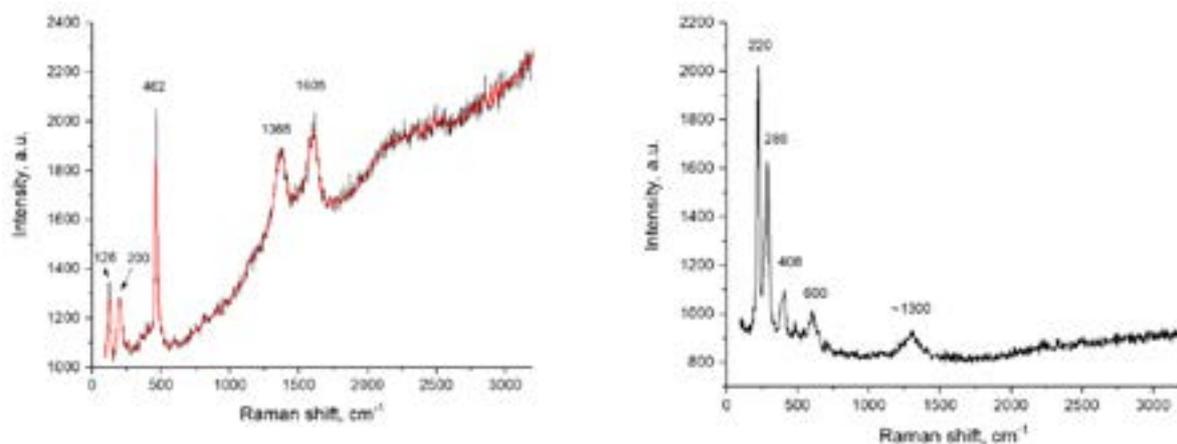
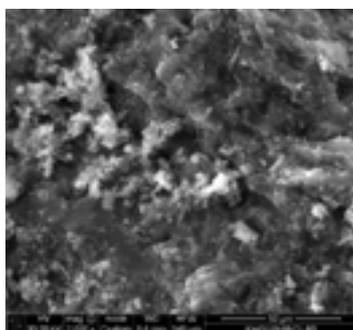


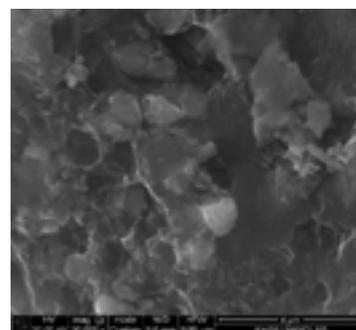
Рисунок 4 – Раман-спектры образцов УЗ

Таблица 3 – Назначения/описания рамановских диапазонов

| Раманские спектры | Raman shift (волновое число), cm^{-1} | Назначение (виды) |
|---------------------------|--|--|
| Quartz | 200 | $\alpha\text{-SiO}_2$ |
| Fe-oxides | 220 | $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_2\text{O}_4$ |
| Magnetite, ferrites+glass | 286 | FeFe_2O_4 |
| Hematite | 408 | O^- displacements |
| Quartz | 462 | $\alpha\text{-SiO}_2$ |
| Fe-oxides | ~600 | $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_3\text{O}_4$ |



а



б

Рисунок 5 – СЭМ-изображения исследуемого образца.
а – обзорная фотография, б –увеличенная фотография

Таблица 4 – Химико-технические характеристики Екибастузского БУ, Wt%

| Техническая характеристика | | | | Элементный состав | | | | |
|----------------------------|--------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------|------|------|-----|------|
| Влажность, W | Зольность, А | Выход летучих веществ, V | Теплота сгорания, МДж/кг, Q | С | Н | Н | S | O* |
| 7,1 | 38,9 | 23 | 32 | 77,1 | 5,08 | 2,12 | 0,9 | 14,8 |

* по разнице

На основании проведенных данных можно заключить, что аналитическая проба БУ выборки 2020 г. из основного пласта месторождения Экибастуза относится к высококалорийному (32 МДж/кг), малосернистому (<1) топливу с высокой зольностью (38,9%) и средней влажностью (7,1%) класса СС.

ГК экстрагировали из УЗ щелочной экстракцией по модифицированному методу Huculak-Mączka [49]. По мнению авторов, использование раствора NaOH для экстракции ГК из угля низкого ранга является эффективным и выход ГК составляет 51,6%. В нашем случае рассчитанный выход ГК составил 75,1%.

На следующем этапе, ГК как продукт БУ, исследовалась разными спектроскопическими методами.

ИК-спектры ГК содержат полосы поглощения, характерные для гуминовых веществ различного происхождения (рис. 6) [54]. ИК-спектр характеризуется интенсивной полосой между 2940-2900 см^{-1} , что указывает на присутствие значительного количества алифатических групп (C-H). Спектры также имеют среднюю полосу интенсивности в области 1590-1517 см^{-1} , вызванную группами COO^{-1} ; N-H и C=N.

Распределение интенсивных полос ГК в инфракрасном диапазоне приведено в табл. 5.

Элементный анализ. ГК была подвергнута элементному анализу (табл. 6). Примечательно, что генерация углевода и азота ГК составляет 54,72 и 2,55, соответственно. Атомное соотношение N/C указывает на степень ароматичности, так в ГК его значение среднее, что объясняется невысокой молекулярной массой и содержанием конденсированных ароматических структур [55, 56].

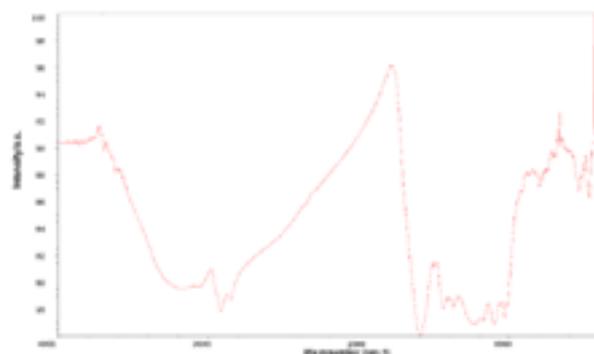


Рисунок 6 – ИК-спектры ГК

Таблица 5 – Назначения/описания диапазонов ИК-спектроскопии

| Волновое число, см^{-1} | Назначение (группы) |
|----------------------------------|--|
| 3000-2800 | Алифатические CH_2 и CH_3 |
| 2940-2900 | Алифатический C-H |
| 1250-1100 | Угольные кислоты, фенольные или алифатические спирты |
| 1580 | COO^{-1} |
| 1400-1310 | COO^{-1} |
| 1660-1630 | C=O амида; хинон и/или C=O-H-связанных конъюгированных кетонов |
| 1590-1517 | COO^{-1} ; N-H и C=N |
| 1280-1200 | C-O и O-H COOH |
| 1170-950 | C-O полисахарида; Si-O силиката |
| Ниже 900 | Вне плоскости ароматических C-H; Алифатический $-\text{CH}_2-$ |

Атомное соотношение O/C индексируется как показатель количества кислородсодержащих групп (таких как, углеводов и карбоксильных групп), его типичное значение для ГК составляет ~0,4. Более высокие значения указывают на более низкую степень ароматической конденса-

ции в ГК. Атомное соотношение N/C отражает количество азота в органических веществах, что в данном случае его значение высокое. Отношение N/O также указывает на повышенный состав азота в продукте БУ и более низкую молекулярную массу [57].

Таблица 6 – Элементный анализ образцов ГК

| Элементы (Wt.%) | | | | | | Атомное отношение | | | |
|-----------------|------|------|------|-------|------|-------------------|------|------|------|
| C | H | N | S | O* | Зола | H/C | O/C | N/C | N/O |
| 54,72 | 4,03 | 2,55 | 0,18 | 34,07 | 4,45 | 0,88 | 0,47 | 0,04 | 0,08 |

* по разнице

Элементный анализ и соотношение атомов показывают, что химический состав ГК характеризуется низкой молекулярной массой и содержанием конденсированных ароматических структур. Также был выявлен более высокий состав азота (значения атомных соотношений).

ЕЕМ флуоресцентная спектрометрия. В работе приведены результаты усовершенствованного анализа ЕЕМ флуоресценции для изучения природы и свойств ГК. На рис. 7 представлены ЕЕМ спектры ГК. Сильные флуорофоры в основном наблюдаются при возбуждении (Ex.) / испускании (Em.) около 270-275/440-445 нм, что соответствует гуминоподобным веществам.

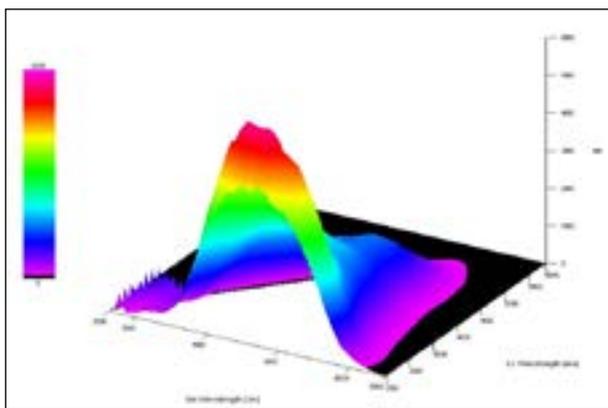


Рисунок 7 – ЕЕМ спектры проб ГК

Специфические индексы флуоресцентной спектрометрии. Три показателя флуориметрии (FI, BIX и HIX) были выбраны для изучения химической природы УК, их значения приведены в табл. 7.

Индекс флуоресценции (FI) рассчитывается как отношение интенсивности Em. на длине волны 450-500 нм при Ex. на 370 нм. Значение FI <1,3 соответствует органическим веществам, полученным из ископаемых источников/почв, а значения >1,9 соответствуют микробным источникам [58].

Биологический индекс (BIX) оценивает вклад автохтонной или биологической (микробной) активности в формировании гуминовых веществ. Если значение >1, то оно соответствует соединениям (гуминовым веществам) преимущественно биологического и микробного происхождения, тогда как <1 указывают на незначительный автохтонный (локальный) вклад исходного субстрата [59]. В данном случае значение BIX составило 0,12, вероятно, из-за преобладания гуминоподобных флуорофоров.

Индекс гумификации (HIX или индекс Zsolnay), используется для оценки ароматичности полученных продуктов БУ. Более высокие значения HIX (>10) соответствуют более высокой степени зрелости гуминовых веществ, в то время как низкие значения (<4) соответствуют их низкой степени [60].

Таблица 7 – Специфические индексы флуоресцентного анализа

| Индексы флуориметрии | Длина волны | Значение | ГК |
|----------------------|----------------------------------|------------------------------------|--------------|
| FI | Ex.370 nm, Em.470/520 nm | Источники гуминовых веществ | 1.15 ± 0.02 |
| BIX | Ex.370 nm, Em.380/430 nm | Происхождение гуминовых веществ | 0.12 ± 0.01 |
| HIX | Ex.255 nm, Em.435-480/300-345 nm | Степень зрелости гуминовых веществ | 13.86 ± 0.13 |

Изоляцию микробных сообществ проводили из ризосферы дикорастущих растений, собранных в фазе созревания в умеренно засушливой зоне пришахтных территорий Экибастузского

угольного месторождения. Растения с корнями извлекали из грунта вместе с комом почвы и транспортировали в лабораторию в стерильных пакетах. Перспективными в идентифика-

ции и изучении большинства микроорганизмов являются молекулярные методы, позволяющие исследовать свойства микробных сообществ *in situ*. Метагеномика это анализ суммарного генетического материала, выделяемого из целой биологической системы. В метагеномных системах наиболее приоритетен 16S rRNA анализ, где на строении данной РНК основана современная филогенетическая классификация микроорганизмов. В рамках данного этапа исследования проведен метагеномный анализ ризосферы Эки-

бастузского угольного месторождения. Первичные данные по видовому богатству и индексы биоразнообразия проб приведены в табл. 8.

Выявленный в микробных сообществах уровень биоразнообразия, в целом, достигал высоких значений – около 776 видов. Повышенный уровень биоразнообразия проб может быть связан с его высокой степенью гумификации БУ, что является источником питательного и энергетического субстрата для роста и развития различных микроорганизмов.

Таблица 8 – Основные показатели биоразнообразия для ризосферы

| Наблюдаемые виды | Индекс Shannon | Индекс Simpson | Chao1 | ACE | Покрытие проб (Goods coverage) | Разнообразие всего филогенетического дерева |
|------------------|----------------|----------------|---------|---------|--------------------------------|---|
| 776 | 5.694 | 0.928 | 802.102 | 798.325 | 0.999 | 63.021 |

Интересным является тот факт, что проба ризосферы характеризуется высоким показателем индексов OUT и Shannon, что также указывает на наличие в объекте микробных сообществ климатского типа (рис.8).

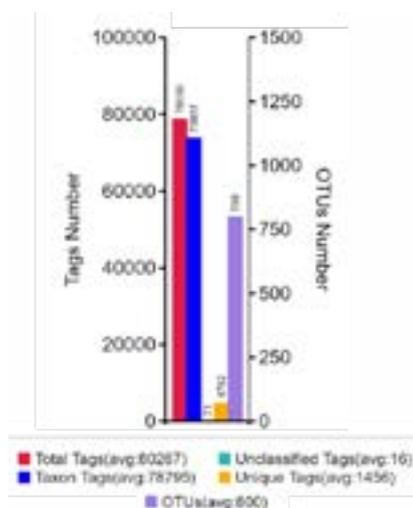


Рисунок 8 – Статистика кластеризации и аннотации по OUT

Бактериальные сообщества ризосферы сформированы преимущественно типами *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (рис. 11а). Наибольшую долю имеет *Proteobacteria*, часто занимающая доминантное положение в почвенной микробиоте.

При анализе таксономической структуры/последовательностей на уровне домена было обнаружено, что абсолютное большинство в микросообществе составляют бактерии (рис. 9). Так, доля архей составила всего 0,1 % (рис. 10).

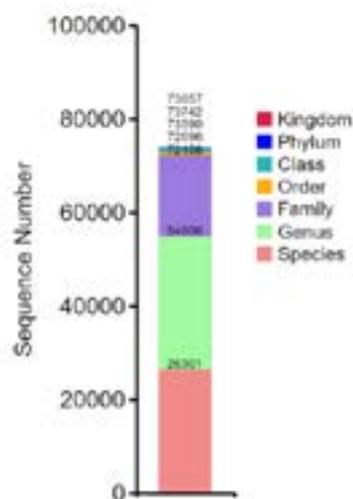


Рисунок 9 – Статистика последовательностей ризосферы на разных уровнях классификации

На уровне семейств в пробах были выявлены представители бактериальных групп *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae* и *Moraxellaceae*. Помимо бактерий с установленной систематической принадлежностью, пробы ризосферы со-

держали значимое количество неидентифицируемых на уровне семейства последовательностей, доля которых составляла 25% (рис. 11б).

Большая доля неопределенных последовательностей была выявлена не только на

уровне семейства, но и на уровне родов. Из рис. 10в видно, что доля этих последовательностей составляет 43%, что говорит о наличии в ризосфере богатого микро-биоразнообразия.

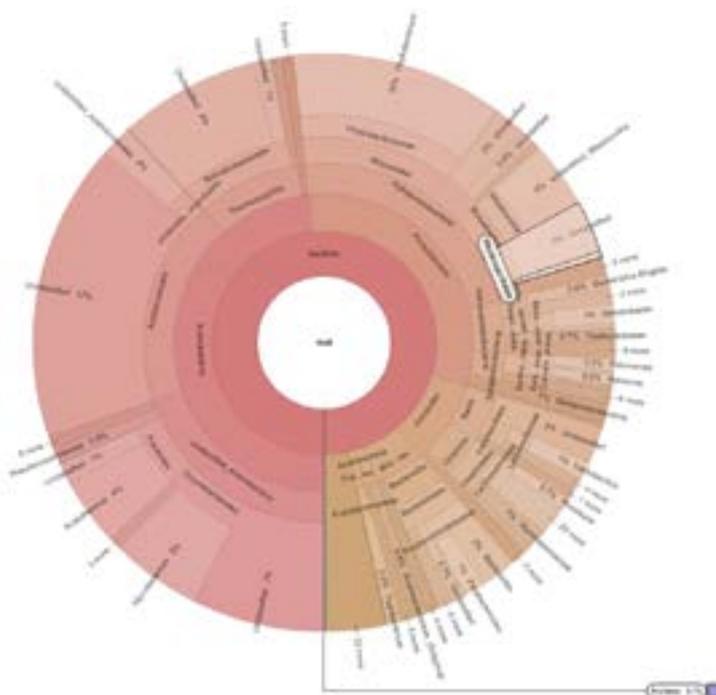


Рисунок 10 – Таксономическая классификация микробных сообществ ризосферы, визуализированная с помощью Krona

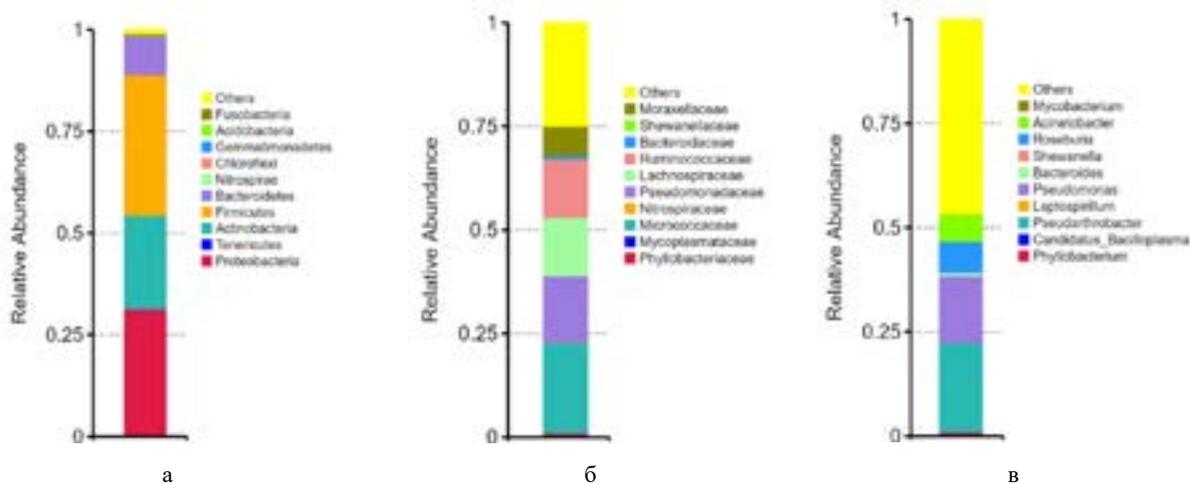


Рисунок 11 – Таксономическая структура прокариотов ризосферы (а – на уровне типа, б – на уровне семейства, в – на уровне рода)

Таблица 9 – Морфо-культуральные и физиолого-таксономические характеристики изолированных бактерий

| Родовая принадлежность | Элективные среды | Микробиологические характеристики | Показатель 16S rRNA |
|-------------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------------|
| <i>Azospirillum</i> sp. | <i>Azospirillum</i> medium | Грамотрицательные, не образуют спор, продолговатые палочки. Микроаэрофильные. Растут в присутствии солей органических кислот. | Рис. 10: порядок Rhodospirillales. |
| <i>Acetobacter</i> sp. | <i>Acetobacter</i> agar | Грамотрицательные, палочковидные, неподвижные. Эндоспор не образуют. Облигатные аэробы. Каталазоположительные | Рис. 13а: семейство Acetobacteraceae |
| <i>Bacillus</i> sp. | Питательная среда общего назначения | Грамположительные палочковидные, образуют внутриклеточные споры. Аэробы. Каталазная и оксидазная активности – положительные. | Рис. 13б: порядок Bacillales |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | Luria-Bertani (LB) agar | Грамотрицательные, палочковидные, не образуют спор. Аэробы. Каталаза ⁺ , оксидаза ⁺ | Рис. 13в: род <i>Pseudomonas</i> . |
| <i>Rhizobium</i> sp. | Yeast mannitol agar | Грамотрицательные, небольшие палочковидные аэробы. Среду с минеральными солями при росте подкисляют. | Рис. 13г: порядок Rhizobiales |

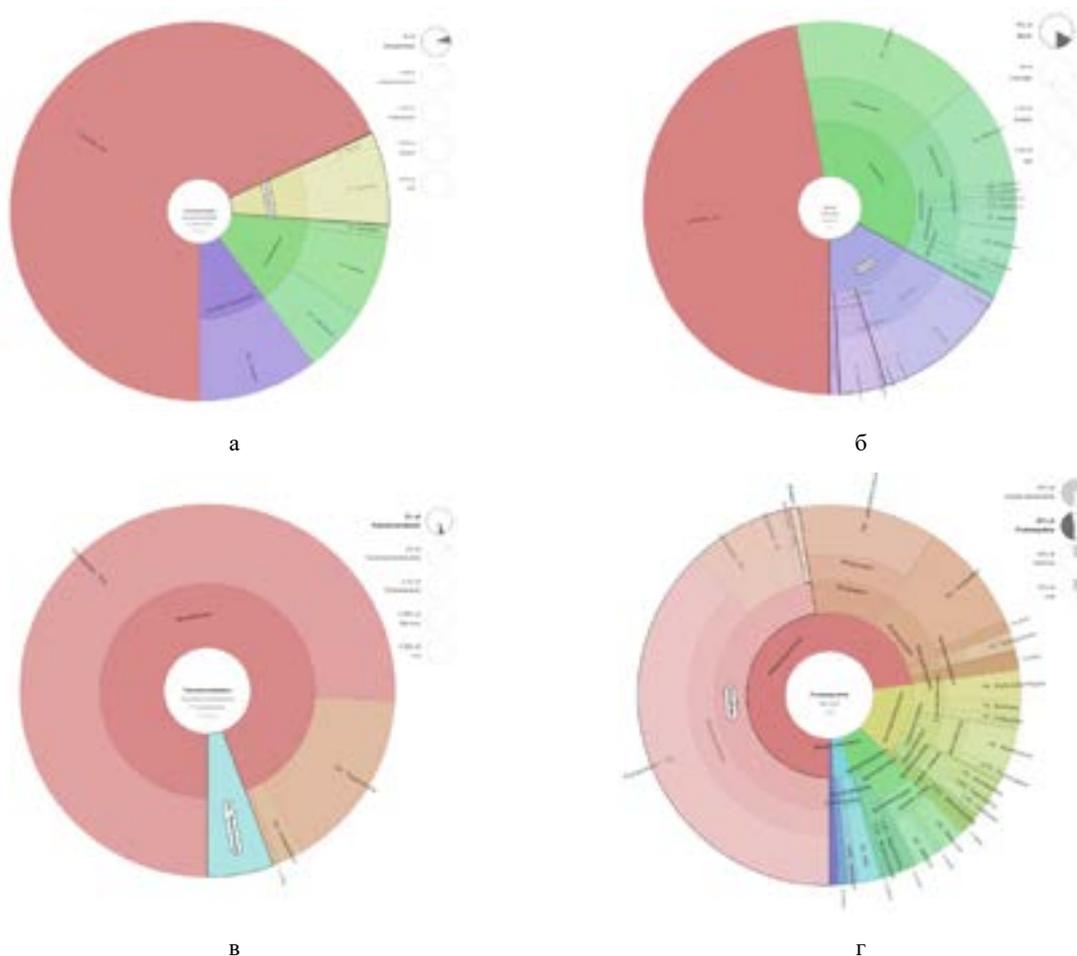


Рисунок 13 – Визуализация веб-таксономии Крона на примере:
 а – семейство *Acetobacteraceae*, б – порядок *Bacillales*, в – род *Pseudomonas*, г – порядок *Rhizobiales*

Проведенная работа позволяет связать особенности разнообразия и структуры микробных сообществ, изученные при помощи 16S rRNA и *in vitro*, с особенностями ризосферы как экологической ниши.

Два вида УЗ (УЗ-1: бедные углеродом (<80 мкм) и УЗ-2: богатые углеродом (> 80 мкм) были испытаны на модификацию с ГК. Результаты указывают на существенные различия в адсорбции ГК на обеих УЗ. В частности, УЗ-1 удерживает больше ГК (2,1 мг г⁻¹) по сравнению с УЗ-2 (1,7 мг г⁻¹), что напрямую связано с размером УЗ. Время взаимодействия адсорбент-адсорбата и кислотность раствора, которые эффективны при

разработке процесса адсорбции, имеют большое значение в феномене модификации. Удержание ГК в УЗ увеличивается в течение первых 30 мин, а затем остается практически константным; то есть достигает равновесного состояния. Кислотность раствора влияет как на поверхностный заряд адсорбента, так и на равновесие протонирования-депротонирования адсорбата. Рис. 14 показывает, что нейтральные рН в основном способствуют адсорбции ГК на УЗ. Повышение рН может привести к депротонированию как УЗ, так и ГК, в то время как при низких значениях рН и адсорбат, и адсорбент становятся положительно заряженными.

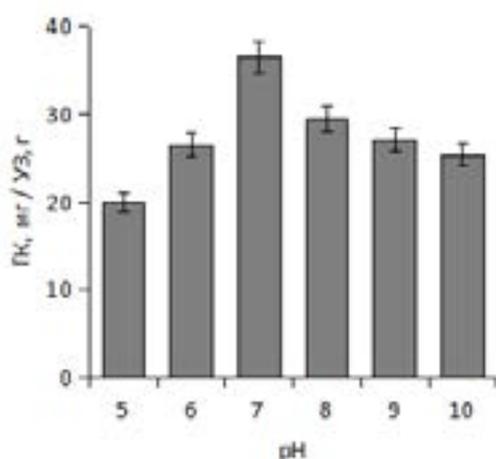


Рисунок 14 – Удержание ГК при изменении рН

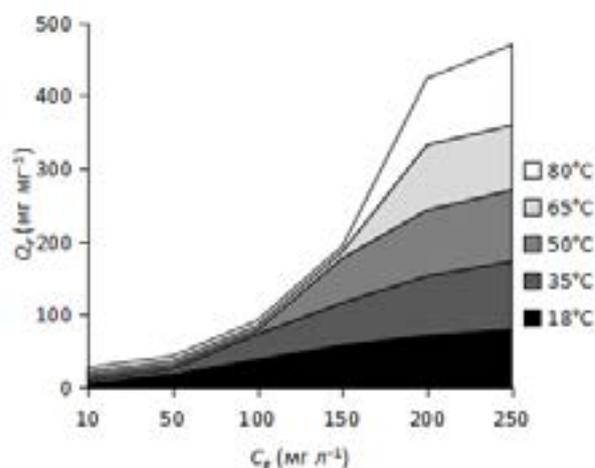


Рисунок 15 – Адсорбция ГК на УЗ с изменением температуры

Адсорбция равновесная. На рис.15 показаны значения равновесного ГК содержания Q_e в УЗ в зависимости от ГК в растворе C_e (равновесная концентрация) при температурах 18, 35, 50, 65, и 80°C. Как видно, все изотермы имеют сигмоидальную форму, соответствующую изотерме адсорбции по классификации Брунауэра-Деминга-Деминга-Теллера (БДДТ), которая становится более отчетливой с повышением температуры. Адсорбция ГК на УЗ составляет от 0,5 до 100 мгГК / г УЗ при температурах от 18 до 80 °С, соответственно. Адсорбционная способность увеличивается с повышением температуры от 1 до 50 мг ГК / г УЗ при температурах от 18 до 80 °С, соответственно.

Адсорбция сопровождается разными процессами, такими как, энергетическими барьерами,

конформационные изменения, множественные равновесия и механизмами удерживания, которые вносят вклад в эндотермический характер адсорбции [28]. Таким образом, «перегиб» на изотерме адсорбции представляет собой перезапуск адсорбции, возможно, из-за образования многослойности и/или начала другого подпроцесса адсорбции [29].

Изотермы адсорбции. Для выявления различных физико-химических свойств, характеризующих изотермы адсорбции, использовались действующие модели адсорбции (изотермы Фрейндлиха, Гаркинса-Юра, БЭТ (Брунауэр, Эммет, Теллер) и Дубинина-Радушкевича) (рис. 16).

Уравнение изотерма адсорбции Фрейндлиха [30] обеспечивает адекватную математиче-

скую модель для описания процесса адсорбции (табл.10), определяя неоднородно-распределенные сайты адсорбции. Доказано, что такое неравномерное расположение гетерогенно адсорбированных ГК способствует развитию локальных мультислоев и агрегатов адсорбата [31].

Уравнение изотермы адсорбции Гаркинса-Юра [32] в основном основано на предположе-

нии о неравномерном распределении сайтов адсорбции и неприменима, если не сформирован конденсированный слой. По сравнению с моделью БЭТ наличие линейной области намного шире, включая более высокие концентрации адсорбата. Однако совокупность мультислоев в случае адсорбции ГК, по-видимому, лучше соответствует требованиям БЭТ (табл. 10).

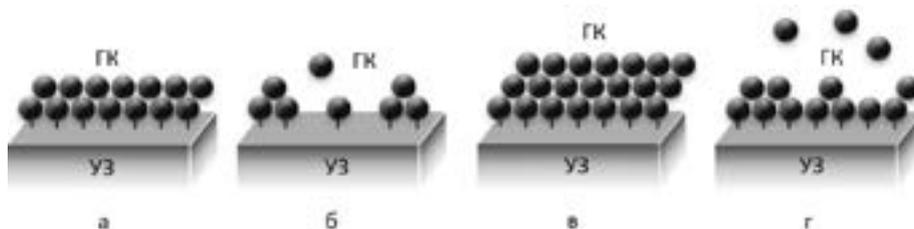


Рисунок 16 – Разные модели изотерм адсорбции: а – изотермы Фрейндлиха, б – Гаркинса-Юра, в – БЭТ, г – Дубинина-Радушкевича. ГК – гуминовая кислота, УЗ – угольная зола

Таблица 10 – Коэффициенты корреляции линейных уравнений адсорбции

| Модели изотермы | Уравнение изотермы | Температура, °С | Значение, R ² |
|--------------------|--|-----------------|--------------------------|
| Фрейндлих | $\log Q_c = \log K_f + (1/n) \log C_c$ | 18 | 0.99 |
| | | 35 | 0.98 |
| | | 50 | 0.89 |
| | | 65 | 0.81 |
| | | 80 | 0.79 |
| Гаркинс-Юра | $1/Q_c^2 = B/A - (1/A) \log C_c$ | 18 | 0.86 |
| | | 35 | 0.98 |
| | | 50 | 0.81 |
| | | 65 | 0.53 |
| | | 80 | 0.84 |
| БЭТ | $C_c/Q_c(1-C_c) = 1/X_m K_B + ((K_B-1)/X_m K_B) C_c$ | 18 | 0.99 |
| | | 35 | 0.94 |
| | | 50 | 0.86 |
| | | 65 | 0.89 |
| | | 80 | 0.93 |
| Дубинин-Радушкевич | $\ln Q_c = \ln X_m - \beta [RT \ln(1 + (1/C_c))]^2$ | 18 | 0.96 |
| | | 35 | 0.86 |
| | | 50 | 0.99 |
| | | 65 | 0.81 |
| | | 80 | 0.89 |

Уравнение изотермы адсорбции БЭТ [33] лучше описывает адсорбционное поведение ГК на частицах УЗ, хотя эта модель не учитывает однородную адсорбционную поверхность и дает линейную область только при более низких концентрациях адсорбата. Исходя из этого, применимость уравнения БЭТ является следствием существования различных участков однородной

поверхности, на которых адсорбция происходит последовательно [31, 34].

Уравнение изотермы адсорбции Дубинина-Радушкевича [35] предполагает распределение Гаусса, адсорбционного пространства по отношению к адсорбционному потенциалу. Считается, что адсорбция является результатом проникновения молекулы адсорбата в пору; процесс

описывается в соответствии с уравнением Поляни энергетика внутри пустого пространства твердых тел и применяется, скорее, к структурно однородным системам [36]. Данная модель вполне соответствует экспериментальным данным по адсорбции ГК (табл. 10).

Изучение процесса десорбции. Проведены эксперименты по десорбции для оценки способности УЗ «отдавать» адсорбированные ГК обратно, что полезно при потенциальном применении поверхностно модифицированной УЗ в качестве мелиоранта с медленным высвобождающим эффектом. Так как ГК медленнее освобождается в кислой или в нейтральной средах, эксперименты проводились в щелочной среде (рН = 8-10). Более высокие значения рН не эффективны поскольку не являются необходимыми для обработки почвы. Результаты, представленные на рис. 17,

демонстрируют, что большая часть ГК (80%) высвобождалась во время первых трех промываний; однако ГК были обнаружены и после шестого промывания УЗ. Эти тенденции явно указывают на тот факт, что ГК прочно связана с УЗ, что обеспечивает ее медленное высвобождение при многократном промывании в щелочных условиях.

УЗ-ГК готовили с различным соотношением ГК к УЗ. Бурый уголь Экибастузского угольного месторождения использовался в качестве сырья для получения как УЗ, так и ГК. Удерживание ГК на УЗ исследовали при 18, 35, 50, 65 и 80°C и при нескольких значениях рН (5-10). Было обнаружено, что адсорбционная способность увеличивается при нейтральном рН, а также при повышении температуры, т.е. с 760 до 1300 мг ГК / г УЗ при температурах от 18 до 80°C, соответственно.

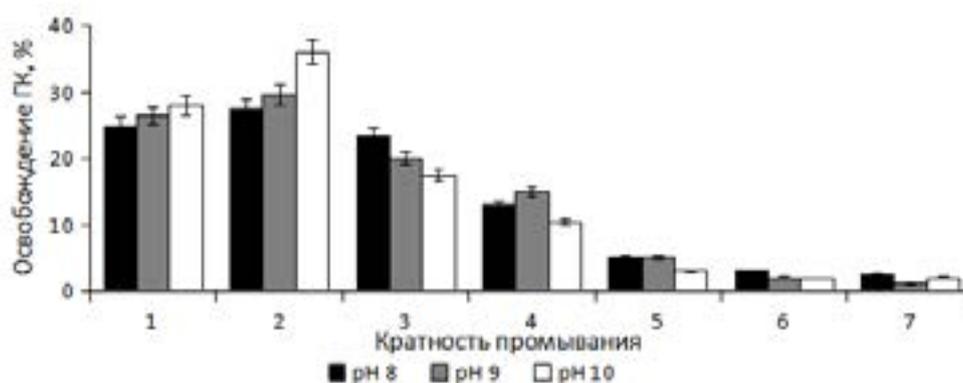


Рисунок 17 – Десорбция ГК из УЗ

УЗ продемонстрировала высокую способность к «кооперации» с ГК. Модели изотерм Фрейндлиха, Гаркинса-Юра, БЭТ и Дубинина-Радушкевича были использованы для интерпретации адсорбции и физико-химических свойств системы адсорбент-адсорбат. Медленное высвобождение адсорбированных ГК во время процесса десорбции может послужить эффективной биофункциональной стратегией для использования УЗ-ГК в сельском хозяйстве.

РСРР являются важной частью микробных сообществ почвы, функция которых заключается в модуляции естественных процессов для повышения усвоения и эффективности питательных веществ в почве, устойчивости к стрессовым факторам, а также производительности и качества растений. Цель данного этапа исследования

состояла в изучении биотехнологического потенциала (физиологические и функциональные свойства, активность солибилизации фосфатов, способность к биологической фиксации азота) выделенных культур.

Физиолого-функциональные свойства культур бактерий. Изучение функциональной роли выделенных культур является основанием для прикладных исследований при использовании изолятов, направленных, прежде всего, на развитие системы мелиорации [37]. Физиологическое и функциональное профилирование проводилось на основе мультисубстратного тестирования BiologEcoPlate™. После 10 дней обработки изоляты бактерий показали высокую тенденцию утилизации источников углерода (рис. 18).

Субстратами, которые утилизируются бактериями больше всего, были следующие карбоновые кислоты: D-глюкозаминовая кислота, D-галактон- γ -лактонная кислота, D-галакту-

роновая кислота, γ -аминомасляная кислота; углеводы: метиловый эфир пировиноградной кислоты, β -метил-D-гликозид; аминокислоты: L-треонин и L-аргинин; и полимер: гликоген.

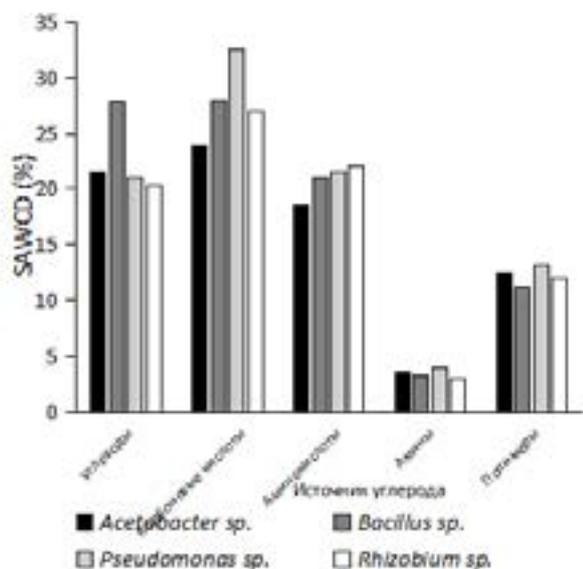


Рисунок 18 – Степень использования субстратов С, выраженная в процентах от SAWCD

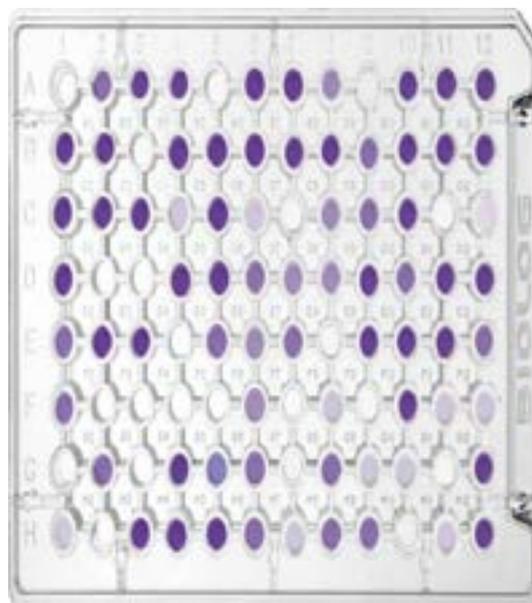


Рисунок 19 – BiologEcoPlates™ штамма *Pseudomonas sp.*

Субстратами с наименьшим расходом были карбоновые кислоты: итаконовая кислота, 4-гидроксибензойная кислота, D-яблочная кислота, 2-гидроксибензойная кислота, α -кетомасляная кислота; углеводы: глюкозо-1-фосфат, изо-эритрит, D-целлобиоза, D-ксилоза, α -D-лактоза, D-маннит, N-ацетил-D-глюкозамин; аминокислоты: L-фенилаланин, L-серин, глицил-L-глутаминовая кислота, L-аспарагин; полимеры: твин 80, твин 40, α -циклодекстрин; и амины: фенилэтиламин, путресцин. Высокая физиолого-функциональная активность изолята *Pseudomonas sp.* была отмечена в отношении D-галактонная кислота γ -лактон, β -метил-D-гликозид, D-ксилозы, α -D-лактозы, метиловый эфир пировиноградной кислоты (рис. 19). Таким образом, данная модель использования источников С может быть связана с наличием множества источников С на разных уровнях трансформации, которые доступны для микроорганизмов. Такое метаболическое разнообразие среди изолятов может способствовать реализации уникальных метаболических стратегий.

Фосфатрастворяющая активность культур бактерий. Эксперименты на PVK с культурами

бактерий показали высокие результаты при исследовании способности изолятов растворять фосфат (рис. 20, 21). Эффективность солиubilизации фосфатов культурой *Pseudomonas sp.* (морфология клеток показана на рис. 22). была значительно выше по сравнению с другими культурами. Способность этой культуры растворять фосфаты поддерживалась на более высоком уровне в течение 4 дней. Среди различных протестированных бактерий *Acetobacter sp.* образовала небольшой ореол на PVK.

Определение азотфиксирующей способности изолята *Rhizobium sp.* Бактерии, фиксирующие азот, являются свободноживущими и хорошо растут на безазотной среде. Эти микроорганизмы используют атмосферный азот для синтеза клеточного белка. Минерализуемый, таким образом в почве азот, становится более доступным для сельскохозяйственных культур.

Рост культур бактерий на среде Дженсена показывает их способность связывать азот. Было обнаружено, что изолят *Rhizobium sp.* способен расти на среде Дженсена, образуя полупрозрачные колонии (рис. 23).

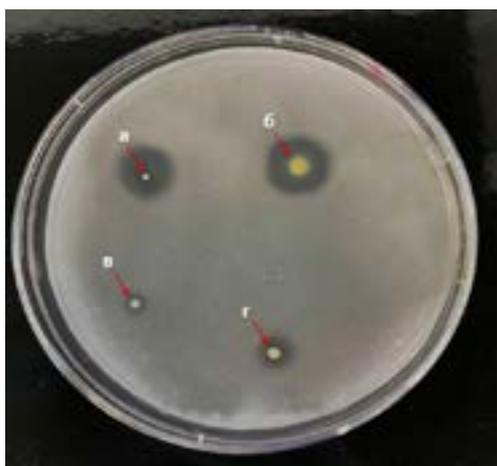


Рисунок 20 – Прозрачные ореолы культур на PVK: а-*Pseudomonas* sp., б-*Bacillus* sp., в-*Acetobacter* sp., г-*Rhizobium* sp.

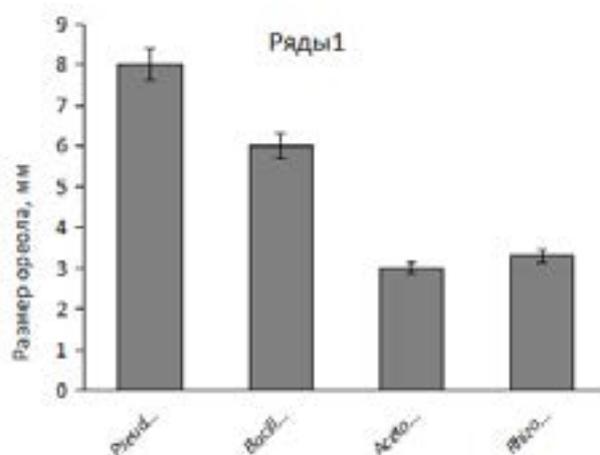


Рисунок 21 – Учет результатов по диаметру ореола на PVK



Рисунок 22 – *Pseudomonas* sp. (окраска по Граму)



Рисунок 23 – Колонии *Rhizobium* sp. на среде Дженсена

Химические и минералогические свойства компонентов/композита на основе угля зависят от свойств и природы исходного состава субстрата. УЗ содержит большое количество гидроксидов, оксидов и сульфатов кальция и железа, и выщелачиваемых микроэлементов. Их содержание в УЗ-ГК после интеграции практически осталось неизменными. Наиболее важными составляющими УЗ и УЗ-ГК являлись SO_2 , Fe_2O_3 , Al_2O_3 , CaO , SiO_2 , K_2O , TiO_2 и MgO (табл. 11).

СЭМ-изображения УЗ и ее композита, заполненного ГК показаны на рис. 24. На снимках УЗ видны твердые и некоторые полые частицы различного размера, тогда как, на снимках УЗ-ГК можно увидеть несколько более крупных ча-

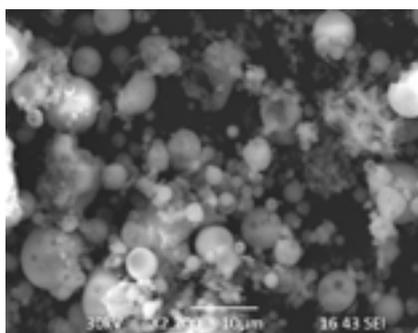
стиц, которые могут быть сформированы путем агломерации ГК.

На рис. 25 представлены рентгенограммы образцов УЗ и УЗ-ГК. Дифрактограммы содержат несколько отчетливых пиков с идентификацией минералов; кварц (quartz) и муллит (mullite) встречались преимущественно с примесями других минералов. О присутствии этих минералогических компонентов в образцах УЗ также сообщалось в литературе [4, 11].

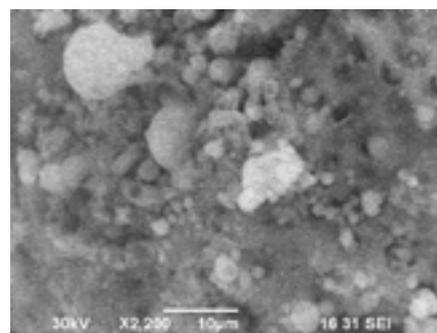
На дальнейшем этапе работы композит на основе УЗ-ГК был интегрирован с образцами из почвенного микроскопа для изучения его целостности и стабильности в качестве агро-мелиоранта.

Таблица 11 – Химический состав УЗ и композита

| Соединение, % | УЗ | УЗ-ГК | Соединение, ppm | УЗ | УЗ-ГК |
|--------------------------------|--------|--------|--------------------------------|-------|-------|
| MgO | 0,232 | 0,263 | NiO | 8,9 | 24,9 |
| Al ₂ O ₃ | 13,297 | 13,436 | CuO | 88,9 | 93,9 |
| SiO ₂ | 32,325 | 33,593 | ZnO | 56,1 | 67,5 |
| P ₂ O ₅ | 0,277 | 0,290 | Ga ₂ O ₃ | 38,9 | 41,5 |
| SO ₃ | 0,186 | 0,159 | As ₂ O ₃ | 19,5 | 21,4 |
| K ₂ O | 0,535 | 0,618 | SeO ₂ | 22,2 | 3,6 |
| CaO | 1,665 | 1,797 | Rb ₂ O | 470,9 | 24,2 |
| TiO ₂ | 1,011 | 1,011 | SrO | 57,5 | 467,7 |
| Fe ₂ O ₃ | 4,859 | 4,713 | Y ₂ O ₃ | 389,1 | 54,8 |
| | | | ZrO ₂ | 14,1 | 380,9 |
| | | | Nb ₂ O ₅ | 112,7 | 12,7 |
| | | | Ag ₂ O | 46,4 | 544,0 |
| | | | V ₂ O ₅ | 282,9 | 266,1 |
| | | | Cr ₂ O ₃ | 35,5 | 47,5 |
| | | | MnO | 824,0 | 810,6 |



а



б

Рисунок 24 – СЭМ-изображения образцов: а – УЗ; б – УЗ-ГК композита

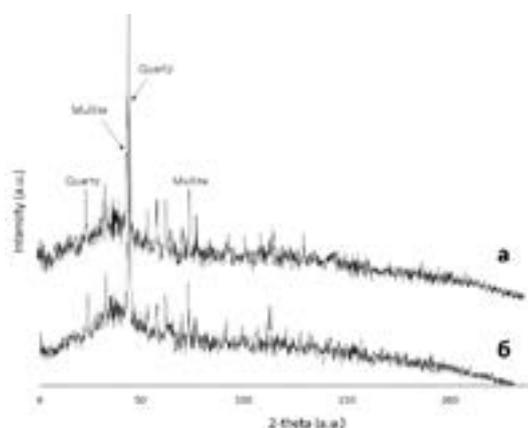


Рисунок 25 – Рентгенограммы образцов УЗ и УЗ-ГК

Сообщаемые концентрации обоих компонентов ГК и УЗ, используемые для обработки почвы, значительно различаются. Например, Chen и Aviad [38] оценили среднюю дозу для полевых применений в 75 кг ГК на га (10-250 кг га⁻¹). В отличие от коммерчески доступных ГК, которые были тщательно изучены в горшечных условиях, данные о ГК, полученных из бурого угля, немногочисленны. Применимая концентрация ГК на основе угля может сильно варьироваться, что затрудняет определение эффективных доз обработки. Кроме того, структура и содержание угольных ГК могут отличаться от почвенных ГК [39, 40]. Другие факторы, такие как технология экстракции, предварительной обработки и применения ГК, также могут иметь значительное влияние на общую продуктивность урожая [41, 42]. В случае УЗ, установленная доза составляет 1 г (в пересчете на сухой вес) на 1 кг почвы, что эквивалентно полевому внесению 1 т га⁻¹ [42].

В данной работе композит в дозе 1 г кг⁻¹ был выбран для дальнейших этапов анализа по следующим причинам: (1) уровни ГК в горшках могут быть выше, чем в полевых испытаниях, (2)

исследуемые почвы имели относительно низкое содержание органических веществ и обрабатывались только разовой дозой ГК на протяжении всего опыта, и (3) биодоступность ГК, полученных из бурого угля, может отличаться от таковых в почве и торфе. Соотношение 10 мг ГК: 1 г УЗ было выбрано как оптимальное для увеличения поступления органического углерода в почву и для поддержания наиболее динамического уровня НРК. Кроме того, интактные образцы почвы обрабатывались УЗ и ГК отдельно для изучения их единоличного действия. В качестве контроля подготовлены почвы без добавок. Каждый эксперимент имел не менее 5 повторностей.

Горшечные опыты проводились со следующими почвами, инокулированными РСРР:

1. Темно-каштановая почва была получена из Ботанического сада в г. Алматы, Казахстан (43°13'07.9» N 76°54'49.6»E).

2. Илесто-глинистая почва была взята на территории агробиостанции КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан (43°27'57.4»N 76°58'32.5»E).

Физико-химические свойства образцов почв показаны в таблице 12.

Таблица 12 – Основные характеристики состава и свойств почв

| Варианты почвы | Физический состав, % | | | Химические характеристики | | |
|----------------|----------------------|------|-------|---------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Песок | Ил | Глина | pH | Соли, г кг ⁻¹ | Орг. вещ., г кг ⁻¹ |
| № 1 | 20,3 | 33,9 | 45,8 | 6,8 | 0,02 | 1,6 |
| № 2 | 24,8 | 69,4 | 5,8 | 6,1 | 0,03 | 1,8 |

Пробы почвы отбирали после 10, 30 и 60 дней обработки в соответствии с действующими нормативными документами [20] для проведения физико-химических и биохимических анализов.

Внесение компонентов/композита обусловило изменение водно-физических свойств почв. Исследование показало, что УЗ-ГК позволяет повысить влажность почвы. В среднем, за период проведения эксперимента в слое <15 см влажность обеих почв в УЗ-ГК имела значения выше контроля на ~10%.

Объемная масса почвы является важным показателем ее физического состояния. В данным

опыте снижение данного показателя в слое <15 см наблюдалось в вариантах с УЗ-ГК по сравнению с контролем (табл. 13).

Внесение компонентов угля обусловило также снижение твердости почвы; в среднем за время исследования твердость почвы по сравнению с контролем снизилась на 10%. Максимальное снижение твердости было отмечено в варианте с УЗ-ГК.

Внесение компонентов обусловило и изменение водопроницаемости почвы от средней до хорошей оценки. При этом, в контроле водопроницаемость почвы была незначительной (рис. 26).

Таблица 13 – Водно-физические свойства почв при внесении угольных компонентов (60 дней)

| Варианты | Влажность, % (d.w.) | | Объемная масса, г см ⁻³ | | Твердость, г см ⁻³ | |
|----------|---------------------|----------|------------------------------------|----------|-------------------------------|----------|
| | Почва №1 | Почва №2 | Почва №1 | Почва №2 | Почва №1 | Почва №2 |
| Контроль | 46,6 | 45,0 | 1,36 | 1,19 | 7,6 | 8,1 |
| УЗ | 55,5 | 51,3 | 1,24 | 1,13 | 6,8 | 7,3 |
| ГК | 49,2 | 47,1 | 1,31 | 1,18 | 7,2 | 7,8 |
| УЗ-ГК | 55,4 | 51,0 | 1,06 | 0,89 | 6,9 | 7,3 |

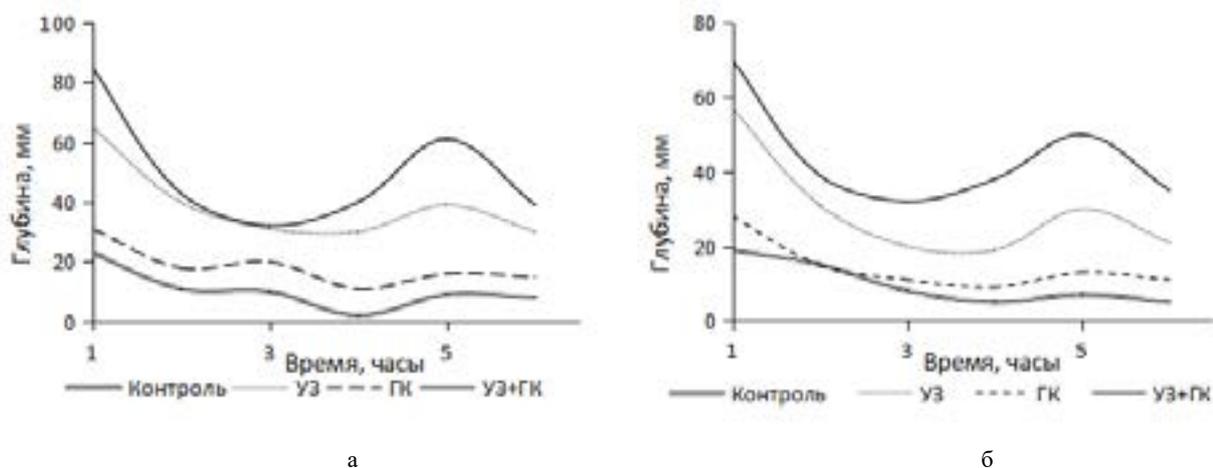


Рисунок 26 – Влияние компонентов угля на водопроницаемость почвы (напор воды Н=5 см): а – почва №1; б – почва №2

Наличие в почве достаточного количества питательных веществ (НРК) является одним из главных условий формирования урожаев. Например, N питание оказывает влияние на общее развитие и продуктивность агрокультуры; P стимулирует созревание плодов повышает устойчивость к заболеваниям, способствует здоровому развитию корневой системы и положительно

влияет на засухоустойчивость агрокультуры; K показывает существенное влияние на физиологические процессы и рост растений [5, 9].

В ходе работ, эффект от внесения угольных компонентов проявился также в снижении кислотности почвы. Внесение УЗ-ГК в почву обусловило снижение водной кислотности на <5% для почвы №1 и на ~10% для почвы №2 (табл. 14).

Таблица 14 – Изменение химических свойств почв при внесении угольных компонентов (60 дней)

| Почва → | рН | | NO ₃ , мг кг ⁻¹ | | P ₂ O ₅ , мг кг ⁻¹ | | K ₂ O, мг кг ⁻¹ | |
|----------|-----|-----|---------------------------------------|---------|---|--------|---------------------------------------|---------|
| | №1 | №2 | №1 | №2 | №1 | №2 | №1 | №2 |
| Контроль | 6.8 | 6.1 | 5.2±0.1 | 5.0±0.1 | 73±0.4 | 70±0.3 | 150±0.1 | 138±0.2 |
| УЗ | 7.0 | 6.5 | 5.3±0.2 | 5.1±0.3 | 76±0.2 | 75±0.2 | 184±0.3 | 177±0.6 |
| ГК | 6.8 | 6.2 | 5.1±0.1 | 5.0±0.3 | 73±0.2 | 71±0.3 | 153±0.5 | 141±0.3 |
| УЗ-ГК | 7.1 | 6.8 | 5.3±0.2 | 5.1±0.2 | 79±0.3 | 77±0.2 | 186±0.3 | 179±0.2 |

Внесение продуктов угля в почву привело к незначительному изменению содержания нитратного азота, однако содержание водорастворимого фосфора возросло на ~10% по сравнению с контролем. Внесение УЗ-ГК обусловило повышение содержания обменного калия в почве на 24-30% по сравнению с контролем.

Микробное дыхание и активность ферментов. Внесение мелиорантов в почву может сильно повлиять на микробное разнообразие почвы, ее численность и состав, что приведет к изменению динамики почвенного органического углерода (ПОУ) и увеличению выбросов CO_2 . Состав почвенного микробного сообщества по-разному реагирует на субстраты, различающиеся по химическим свойствам [43, 44]. Опыты проводились с илисто-глинистой почвой (№2) территории агробиостанции КазНУ им. аль-Фараби с целью подготовки биогеологической основы для дальнейших исследований в полевых условиях. В целом, эмиссия CO_2 проходила по схожей схеме во всех вариантах обработки; в течение первых дней внесение компонентов угля имело значительно более низкую частоту дыхания ($P < 0,05$). Увеличение дыхания почвы с УЗ-ГК было отражено как кумулятивное дыхание; на рис. 27 заметно, что УЗ повышает общее количество выдыхаемого почвой CO_2 за 90 дней как в отдельной, так и в комбинированной форме. Почва, обработанная ГК, имела более низкое

кумулятивное дыхание, чем УЗ. Это явление согласуется с предыдущими данными, показывающими, что применение продуктов угля стимулирует гетеротрофное дыхание. В результате, лабильные компоненты угля метаболизируются почвенными микроорганизмами или происходит естественный процесс минерализации [45, 46].

Активность ферментов является чувствительным индикатором экологического стресса во многих сельскохозяйственных системах, а окислительные ферменты, такие как пероксидаза и фенолоксидаза, играют ключевую роль в процессах биодegradации и детоксикации ароматических загрязнителей. Эти ферменты выделяются грибами и бактериями для разложения разных углей и стойких органических веществ [47].

Активность дегидрогеназы снижалась в течение инкубационного периода, но существенно не различалась между вариантами обработки (рис. 28). В течение первой недели активность фермента была относительно постоянной, после чего наблюдалось значительное снижение во всех вариантах обработки почвы. В конце инкубационного периода его активность составляла около 2 мг ТРФ (трифенилформазан) г^{-1} в сухой почве ч^{-1} . Компоненты угля (УЗ и ГК) не повлияли на активность этого фермента; однако у варианта с композитом УЗ-ГК наблюдалось увеличение активности фермента.

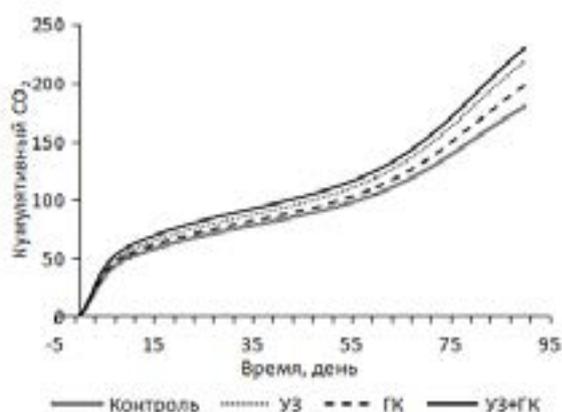


Рисунок 27 – Влияние компонентов угля на дыхание почвы

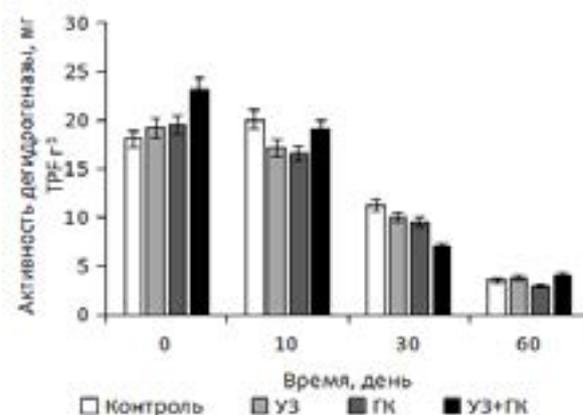


Рисунок 28 – Изменение активности дегидрогеназы при внесении компонентов угля

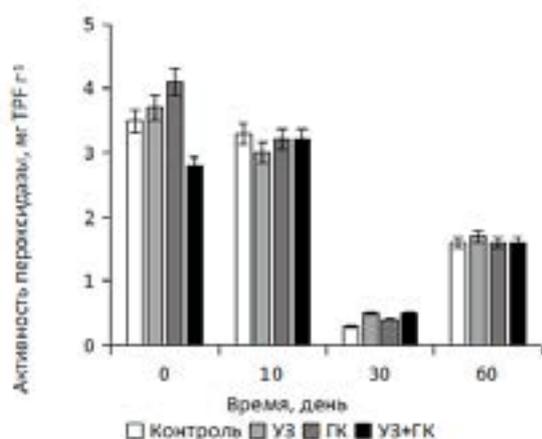


Рисунок 29 – Изменение активности пероксидазы при внесении компонентов угля

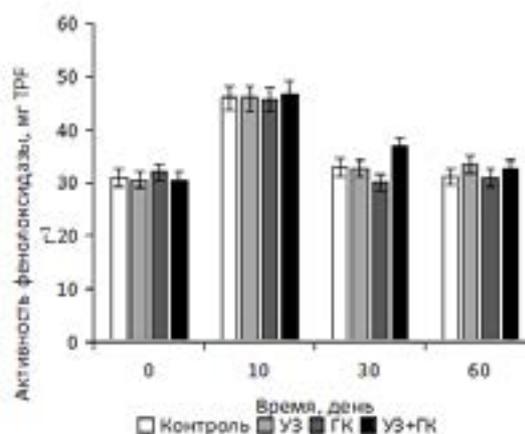


Рисунок 30 – Изменение активности фенолоксидазы при внесении компонентов угля

Активность пероксидазы оставалась высокой в течение первой недели до резкого снижения, измеренного через 30 дней (рис. 29). Увеличение активности этого фермента в почвах, обработанных компонентами угля, по сравнению с контролем при том же времени отбора проб наблюдалось через 60 дней после инкубации.

Активность фенолоксидазы была схожей во всех вариантах лечения (рис. 30); ее активность увеличивалась и достигала пика через 10 дней инкубации, после чего она снижалась и оставалась неизменной до конца инкубации. Активность этого фермента при обработках УЗ-ГК была выше, чем при обработках УЗ или ГК, и различия наблюдались на протяжении всего периода инкубации. Таким образом, было обнаружено, что применение композита УЗ-ГК имело незначительное влияние на активность ферментов почвы.

Заключение

В ходе проведения физико-химических анализов проб УЗ Аксуской электростанции установлены следующие качественные характеристики: содержание элементов (%) С – 67,67, О – 20,93, Si – 6,31, Al – 3,08 и другие 2,01. Установлено, что основными компонентами УЗ являются SiO_2 и Al_2O_3 , содержание которых равно 59,74% и 27,44%, соответственно. Раман-спектроскопией выявлено наличие в пробах УЗ кварца и оксида железа. Распределения частиц по размеру характеризуются значениями d_{10} – 4,3 мкм, d_{50} – 31,5 мкм и d_{90} – 86,0 мкм. Основными морфологи-

ческими типами частиц являются микросферы с непористой гладкой поверхностью.

По результатам физико-химических анализов проб БУ Экибастузского угольного месторождения установлены следующие качественные характеристики угля (%): W – 7,1%, А – 38,9, V – 23, а Q – 32 МДж/кг. Элементный анализ БУ показал следующие содержания (%): С – 77,1, Н – 5,08, N – 2,12, S – 0,9, О – 14,8. Из данного БУ модифицированным методом была экстрагирована ГК, ее выход составил 75,1%. Результаты ИК-спектроскопии показали, что в спектрах ГК присутствуют моды колебаний, относимые к основным С-Н, CH_2 , COO^{-1} , С-О группам. Значения спектров флуоресцентной ЕЕМ выявили автохтонную (FI – 1,15, ВIX – 0,12) природу гуминовых веществ, а индекс НIX продемонстрировал более высокую гумификацию продуктов БУ (13,86).

Впервые на основе высокопроизводительного секвенирования нового поколения Illumina описаны таксономическая структура и биоразнообразие микробного сообщества проб ризосферы пришахтной территории Экибастузского угольного месторождения. По результатам были проанализированы группы бактерий, принадлежащие к *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Выделены и идентифицированы PCPP родов *Azospirillum* sp., *Acetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. и *Rhizobium* sp. Изучены их морфолого-культуральные и физиологические особенности.

УЗ продемонстрировала более высокую аффинность в отношении ГК; было обнаружено, что адсорбционная способность УЗ увеличи-

вается при нейтральном рН, а также при повышении температуры с 1 до 50 мг ГК / г УЗ при температуре от 18 до 80 °С, соответственно. Модели изотермы Фрейндлиха, Гаркинса-Юра, БЭТ и Дубинина-Радушкевича были использованы для оценки продолжающейся адсорбции и выяснения физико-химических свойств системы адсорбент-адсорбат. Медленное высвобождение адсорбированных ГК из УЗ во время промывания считается эффективным для использования УЗ-ГК в биофункциональных сельскохозяйственных системах для корректировки почвы.

BiologEcoPlate™ анализ показал, что изоляты имеют более высокую эффективность использования источников углерода карбоновых кислот, аминокислот, аминов и полимеров. Аналогичную тенденцию выявил анализ SAWCD. По результатам измерений прозрачных ореол, из четырех изолятов штаммы *Pseudomonas* sp. и *Bacillus* sp. оказались наиболее активны в фосфатрастворении. Анализ азотфиксирующей способности *Rhizobium* sp. показал, что активность этого изолята высокая, что делает его перспективным для коллективного использования в РСРР.

В работе композит УЗ-ГК был использован в дозе 1 г кг⁻¹, что эквивалентно полевому внесению 1 т га⁻¹. Такая доза была выбрана как самая

эффективная на основе результатов анализов и как средняя на основе анализа литературных данных. Горшечные опыты проводились с использованием темно-каштановой и илисто-глинистой почв.

Внесение компонентов/композита угля способствовало улучшению физико-химических свойств почв: возросла влажность почвы в слое <15 см на ~10%. Несение УЗ-ГК снизило объемную массу почвы на ~20% и твердость почвы на 10%. Внесение продуктов угля снизило почвенную кислотность, увеличило содержание P₂O₅ и K₂O. Композит УЗ-ГК незначительно увеличивал активность ферментов в почвах. Кроме того, тот факт, что интенсивность дыхания почв, обработанных УЗ-ГК была выше, чем у обработанных отдельными компонентами угля (УЗ или ГК), подтверждает утверждение о том, что композит представляет собой стабильный органический мелиоранта с высоким потенциалом для использования в сельском хозяйстве и охране окружающей среды.

Финансирование

Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (грант № AP08855394).

Литература

- 1 Ram, L.C.; Masto, R.E. Fly ash for soil amelioration: A review on the influence of ash blending with inorganic and organic amendments. *Earth-Science Rev.* 2014, *128*, 52–74.
- 2 Li, M. *Peak oil, climate change, and the limits to China's economic growth*; New York : Routledge: New York, 2014; ISBN 1317820304.
- 3 Riazi, M.R.; Gupta, R. *Coal Production and Processing Technology*; 1st Editio.; CRC Press, 2015; ISBN 9780429161933.
- 4 Izquierdo, M.; Querol, X. Leaching behaviour of elements from coal combustion fly ash: An overview. *Int. J. Coal Geol.* 2012, *94*, 54–66.
- 5 Aradottir, A.L.; Hagen, D. Chapter Three – Ecological Restoration: Approaches and Impacts on Vegetation, Soils and Society. In: Sparks, D.L.B.T.-A. in A., Ed.; Academic Press, 2013; Vol. 120, pp. 173–222 ISBN 0065-2113.
- 6 Lowder, S.K.; Scoet, J.; Raney, T. The Number, Size, and Distribution of Farms, Smallholder Farms, and Family Farms Worldwide. *World Dev.* 2016, *87*, 16–29.
- 7 Ram, L.C.; Masto, R.E. An appraisal of the potential use of fly ash for reclaiming coal mine spoil. *J. Environ. Manage.* 2010, *91*, 603–617.
- 8 Ukwattage, N.L.; Ranjith, P.G.; Bouazza, M. The use of coal combustion fly ash as a soil amendment in agricultural lands (with comments on its potential to improve food security and sequester carbon). *Fuel* 2013, *109*, 400–408.
- 9 Usmani, Z.; Kumar, V.; Gupta, P.; Gupta, G.; Rani, R.; Chandra, A. Enhanced soil fertility, plant growth promotion and microbial enzymatic activities of vermicomposted fly ash. *Sci. Rep.* 2019, *9*, 10455.
- 10 Ahmad, G.; Khan, A.A.; Mohamed, H.I. Impact of the low and high concentrations of fly ash amended soil on growth, physiological response, and yield of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. Ex Poiret L.). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2021, *28*, 17068–17083.
- 11 Belyaeva, O.N.; Haynes, R.J. Chemical, microbial and physical properties of manufactured soils produced by co-composting municipal green waste with coal fly ash. *Bioresour. Technol.* 2009, *100*, 5203–5209.
- 12 Yan, S.; Zhang, N.; Li, J.; Wang, Y.; Liu, Y.; Cao, M.; Yan, Q. Characterization of humic acids from original coal and its oxidization production. *Sci. Rep.* 2021, *11*, 15381.

- 13 Backer, R.; Rokem, J.S.; Ilangumaran, G.; Lamont, J.; Praslickova, D.; Ricci, E.; Subramanian, S.; Smith, D.L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci.* 2018, 9, 1473.
- 14 Huculak-Mączka, M.; Hoffmann, J.; Hoffmann, K. Evaluation of the possibilities of using humic acids obtained from lignite in the production of commercial fertilizers. *J. Soils Sediments* 2018, 18, 2868–2880.
- 15 Insam, H. A New Set of Substrates Proposed for Community Characterization in Environmental Samples BT – Microbial Communities.; Insam, H., Rangger, A., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1997; pp. 259–260.
- 16 Siles, J.A.; Rachid, C.T.C.C.; Sampedro, I.; García-Romera, I.; Tiedje, J.M. Microbial diversity of a Mediterranean soil and its changes after biotransformed dry olive residue amendment. *PLoS One* 2014, 9, e103035.
- 17 Çakmakçı, R.; Kantar, F.; Sahin, F. Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2001, 164, 527–531.
- 18 Çakmakçı, R.; Dönmez, F.; Aydın, A.; Şahin, F. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biol. Biochem.* 2006, 38, 1482–1487.
- 19 Water Content and Loss on Ignition BT – Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. In; Pansu, M., Gautheyrou, J., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006; pp. 3–13 ISBN 978-3-540-31211-6.
- 20 Wilke, B.-M. Determination of Chemical and Physical Soil Properties BT – Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. In; Margesin, R., Schinner, F., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2005; pp. 47–95 ISBN 978-3-540-28904-3.
- 21 Arriaga, F.J.; Guzman, J.; Lowery, B. Chapter 5 – Conventional Agricultural Production Systems and Soil Functions. In; Al-Kaisi, M.M., Lowery, B.B.T.-S.H. and I. of A., Eds.; Academic Press, 2017; pp. 109–125 ISBN 978-0-12-805317-1.
- 22 pH Measurement BT – Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. In; Pansu, M., Gautheyrou, J., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2006; pp. 551–579 ISBN 978-3-540-31211-6.
- 23 Sah, R.N. Nitrate-nitrogen determination—a critical review. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 1994, 25, 2841–2869.
- 24 Jakmunee, J.; Junsomboon, J. Determination of available phosphorus in soils by using a new extraction procedure and a flow injection amperometric system. *Talanta* 2009, 79, 1076–1080.
- 25 Liao, X.; Zhao, D.; Yan, X. Determination of potassium permanganate demand variation with depth for oxidation-remediation of soils from a PAHs-contaminated coking plant. *J. Hazard. Mater.* 2011, 193, 164–170.
- 26 Allison, S.D.; Jastrow, J.D. Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 2006, 38, 3245–3256.
- 27 Tabatabai, M.A. Soil Enzymes. *Methods Soil Anal.* 1994, 775–833.
- 28 Wang, S.; Zhu, Z.H. Humic acid adsorption on fly ash and its derived unburned carbon. *J. Colloid Interface Sci.* 2007, 315, 41–46.
- 29 Yang, S.; Huang, G.; An, C.; Li, H.; Shi, Y. Adsorption behaviours of sulfonated humic acid at fly ash-water interface: Investigation of equilibrium and kinetic characteristics. *Can. J. Chem. Eng.* 2015, 93, 2043–2050.
- 30 Sparks, D.L. 5 – Sorption Phenomena on Soils. In; Sparks, D.L.B.T.-E.S.C. (Second E., Ed.; Academic Press: Burlington, 2003; pp. 133–186 ISBN 978-0-12-656446-4.
- 31 Roulia, M.; Vassiliadis, A.A. Sorption characterization of a cationic dye retained by clays and perlite. *Microporous Mesoporous Mater.* 2008, 116, 732–740.
- 32 Erdogan, F.O. Freundlich, Langmuir, Temkin, DR and Harkins-Jura Isotherm Studies on the Adsorption of CO₂ on Various Porous Adsorbents. *Int. J. Chem. React. Eng.* 2019, 17.
- 33 Jaroniec, M.; Kruk, M.; Sayari, A. Adsorption methods for characterization of surface and structural properties of mesoporous molecular sieves. In *Mesoporous Molecular Sieves 1998*; Bonneviot, L., Béland, F., Danumah, C., Giasson, S., Kaliaguine, S.B.T.-S. in S.S. and C., Eds.; Elsevier, 1998; Vol. 117, pp. 325–332 ISBN 0167-2991.
- 34 Ansón, A.; Jagiello, J.; Parra, J.B.; Sanjuán, M.L.; Benito, A.M.; Maser, W.K.; Martínez, M.T. Porosity, Surface Area, Surface Energy, and Hydrogen Adsorption in Nanostructured Carbons. *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 15820–15826.
- 35 Palomba, V.; Frazzica, A. 15 – Modeling of sorption systems for thermal energy storage. In *Woodhead Publishing Series in Energy*; Cabeza, L.F.B.T.-A. in T.E.S.S. (Second E., Ed.; Woodhead Publishing, 2021; pp. 453–475 ISBN 978-0-12-819885-8.
- 36 Dąbrowski, A. Adsorption — from theory to practice. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2001, 93, 135–224.
- 37 Bhattacharyya, P.N.; Jha, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2012, 28, 1327–1350.
- 38 Chen, Y.; Aviad, T. Effects of Humic Substances on Plant Growth. *Humic Subst. Soil Crop Sci. Sel. Readings* 1990, 161–186.
- 39 Zhou, L.; Yuan, L.; Zhao, B.; Li, Y.; Lin, Z. Structural characteristics of humic acids derived from Chinese weathered coal under different oxidizing conditions. *PLoS One* 2019, 14, e0217469.
- 40 Jin, J.; Sun, K.; Yang, Y.; Wang, Z.; Han, L.; Wang, X.; Wu, F.; Xing, B. Comparison between Soil- and Biochar-Derived Humic Acids: Composition, Conformation, and Phenanthrene Sorption. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52, 1880–1888.
- 41 Seyedbagheri, M.M.; He, Z.; Olk, D.C. Yields of Potato and Alternative Crops Impacted by Humic Product Application BT – Sustainable Potato Production: Global Case Studies. In; He, Z., Larkin, R., Honeycutt, W., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2012; pp. 131–140 ISBN 978-94-007-4104-1.
- 42 Mosa, A.A. Effect of the Application of Humic Substances on Yield, Quality, and Nutrient Content of Potato Tubers in Egypt BT – Sustainable Potato Production: Global Case Studies. In; He, Z., Larkin, R., Honeycutt, W., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2012; pp. 471–492 ISBN 978-94-007-4104-1.

- 43 Baumann, K.; Marschner, P.; Smernik, R.J.; Baldock, J.A. Residue chemistry and microbial community structure during decomposition of eucalypt, wheat and vetch residues. *Soil Biol. Biochem.* 2009, *41*, 1966–1975.
- 44 Paterson, E.; Sim, A. Soil-specific response functions of organic matter mineralization to the availability of labile carbon. *Glob. Chang. Biol.* 2013, *19*, 1562–1571.
- 45 González, M.; Gomez, E.; Comese, R.; Quesada, M.; Conti, M. Influence of organic amendments on soil quality potential indicators in an urban horticultural system. *Bioresour. Technol.* 2010, *101*, 8897–8901.
- 46 Smith, J.L.; Collins, H.P.; Bailey, V.L. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biol. Biochem.* 2010, *42*, 2345–2347.
- 47 Cycoń, M.; Piotrowska-Seget, Z.; Kozdrój, J. Dehydrogenase activity as an indicator of different microbial responses to pesticide-treated soils. *Chem. Ecol.* 2010, *26*, 243–250.
- 48 Kushnerova O. A., Akimochkina G.V., Fomenko E.V. Single-Stage Aerodynamic Separation of Fly Ash Produced after Pulverized Combustion of Coal from the Ekibastuz Basin // *Solid Fuel Chem.* – 2018. – V. 52. – I. 3. – P. 188–200.
- 49 Huculak-Mączka M., Hoffmann J., Hoffmann K. Evaluation of the possibilities of using humic acids obtained from lignite in the production of commercial fertilizers. *J. Soils Sediments* 2018, *18*, 2868–2880.
- 50 Cheng, G.; Niu, Z.; Zhang, C.; Zhang, X.; Li, X. Extraction of humic acid from lignite by KOH-hydrothermal method. *Appl. Sci.* 2019, *9*.
- 51 Delmont T.O., Robe P., Cecillon S., Clark I.M., Constancias F. Accessing the soil metagenome for studies of microbial diversity // *Appl Environ Microbiol.* – 2011. – № 77. – P. 1315-1324.
- 52 Oulas A., Pavludi C., Polymenakou P., Pavlopoulos G.A., Papanikolaou N., Kotoulas G. Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies // *Bioinform Biol Insights.* – 2015. – № 9. – P.75-88.
- 53 Blissett R. S. A review of the multi-component utilisation of coal fly ash / R. S. Blissett, N. A. Rowson // *Fuel.* – 2012. – V.97. – P. 1–23.
- 54 Manzak A, Kurşun C, Yıldız Y. 2017. Characterization of humic acid extracted from aqueous solutions with polymer inclusion membranes. // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 81:14-20.
- 55 Gonzalez-Vila F.J., Martin F., Del Rio J.C., Fründ R. Structural characteristics and geochemical significance of humic acids isolated from three Spanish lignite deposits // *Sci. Total Environ.* 117–118 (1992) 335–343.
- 56 Nasir S., Sarfaraz T.B., Verheyen T.V., Chaffee A.L. Structural elucidation of humic acids extracted from Pakistani lignite using spectroscopic and thermal degradative techniques // *Fuel Process. Technol.* 92 (2011) 983–991.
- 57 Jiang F., Li Z., Lv Z., Gao T., Yang J., Qin Z., Yuan H. The biosolubilization of lignite by *Bacillus* sp. Y7 and characterization of the soluble products // *Fuel.* – 2013. – № 103. – P.639-645.
- 58 Zsolnay A., Baigar E., Jimenez M., Steinweg B., Saccomandi F. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. // *Chemosphere.* 38 (1999) 45–50.
- 59 Fu P., Kawamura K., Chen J., Qin M., Ren L., Sun Y., Wang Z., Barrie L.A., Tachibana E., Ding A., Yamashita Y. Fluorescent water-soluble organic aerosols in the High Arctic atmosphere. // *Sci. Rep.* 5 (2015) 9845.
- 60 Doskočil L., Burdíková-Szewieczková J., Enev V., Kalina L., Wasserbauer J., Spectral characterization and comparison of humic acids isolated from some European lignites. // *Fuel.* 213 (2018) 123–132.