

Meitan Shengwu
Jiangjie Zhuanhua
Xin Junzhong
JiyinGongcheng
de
煤炭生物降解转化
新菌种基因工程的
构建研究
Goujian Yanjiu

徐敬尧○著

合肥工业大学出版社

国家自然科学基金(编号 51074007)资助项目

徐敬尧○著

MEITAN SHENGWU JIANGJIE ZHUANHUA XINJUNZHONG JIYIN GONGCHENG JIYIN YANJIU

煤炭生物降解转化

新菌种基因工程的构建研究



合肥工业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

煤炭生物降解转化新菌种基因工程的构建研究/徐敬尧主著. —合肥: 合肥工业大学出版社, 2012. 6

ISBN 978-7-5650-0739-2

I. ①煤… II. ①徐… III. ①煤炭—生物降解—转化—基因工程—研究 IV. ①TQ536

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 109661 号

煤炭生物降解转化新菌种基因工程的构建研究

徐敬尧 著

责任编辑 疏利民 魏亮瑜

出 版	合肥工业大学出版社	版 次	2012 年 6 月第 1 版
地 址	合肥市屯溪路 193 号	印 次	2013 年 2 月第 1 次印刷
邮 编	230009	开 本	710 毫米×1000 毫米 1/16
电 话	总 编 室:0551—62903038	印 张	14
	市场营销部:0551—62903198	字 数	340 千字
网 址	www.hfutpress.com.cn	印 刷	合肥星光印务有限责任公司
E-mail	hfutpress@163.com	发 行	全国新华书店

ISBN 978-7-5650-0739-2

定价: 28.00 元

如果有影响阅读的印装质量问题,请与出版社市场营销部联系调换。

序

煤炭是我国分布最广、储量最多的能源资源。我国是世界上最大的煤炭生产和消费国，煤炭作为我国的基础能源和化工原料，其地位在今后相当长的时间内不会改变。

煤炭生物降解转化是应用于煤炭工业的一项生物工程新技术，它以能耗小、成本低、污染小等优点，备受世界各国的瞩目，目前已成为国内外能源界开发研究的热点。

我国富煤贫油的国情、对国外石油依存度的快速提升以及从国家战略安全和可持续发展的层面上决定了我国的能源战略应以立足国内为主，研究寻找新的可靠的替代品，必须走以煤代油、煤炭绿色转化之路。煤炭生物降解转化彻底改变了传统煤炭液化高能耗、高危险及高污染的“三高”局面，实现了煤炭的“绿色”洁净转化，开辟了煤炭工业可持续发展的新道路。

《煤炭生物降解转化新菌种基因工程的构建研究》一书，通过对煤炭具有降解转化作用的黄孢原毛平革菌和球红假单胞菌进行分析，利用生物基因工程的方法构建高效工程菌，并对降解产物采用先进的 FTIR、MS、XRD 和 TG-DTA 等多种现代分析测试技术进行深入地系统研究，得出了很多有价值的研究结论。

徐敬尧博士后多年来从事矿物加工和洁净煤技术的研究。近年来，他主要是对煤炭生物降解转化这一新型交叉学科中具有前瞻性的基础研究课题进行研究。这本书具有较强的系统性，并具有多项创新性的研究成果。相信该书的出版必将会推动煤炭生物降解转化理论和实践研究更深入地进行，并促使我国洁净煤技术的更快发展。

徐敬尧博士后学风严谨、勤奋努力、刻苦钻研。祝徐敬尧博士后的研究不断深入，在煤炭生物降解转化的研究领域取得新的、更大的成就。

安徽理工大学党委书记、教授、博士生导师

徐敬尧

2011 年 10 月 18 日

前 言

煤炭生物降解转化是一种生物技术和矿物加工以及煤化工技术相结合的跨学科、跨专业的生物工程创新研究，具有能耗低、转化条件温和、绿色环保的特点。其实现了煤炭的“绿色”洁净转化，开辟了煤炭工业可持续发展的新技术，是一项前瞻性的基础研究课题。

本书对具有木质素降解酶系统的黄孢原毛平革菌和具有芳环结构降解酶系统的球红假单胞菌进行了煤炭生物降解转化的系统研究，进而利用生物基因工程的方法对球红假单胞菌和黄孢原毛平革菌进行细胞融合、基因重组方面的尝试，获得了对煤炭生物降解转化的高效工程菌。另外，同步对球红假单胞菌和黄孢原毛平革菌及其原生质体进行紫外和微波的物理诱变育种，用经典的诱变育种方法对其进行菌种改造，选育了优良的煤炭生物降解转化新菌种。

本书对降解产物的特性进行了分析，采用 FTIR、MS、XRD 和 TG-DTA 等多种现代分析测试技术，对原煤、硝酸处理煤、煤炭降解后的残渣及煤炭降解产物进行了分析和研究。书中还对煤炭生物降解转化的机理及黄孢原毛平革菌和球红假单胞菌利用生物基因工程的方法进行细胞融合、基因重组的高效工程菌对煤炭的特殊降解转化机理进行了分析和论述。

由于作者水平有限，书中的疏漏与谬误之处在所难免，敬请广大读者批评指正。

徐敬尧

2011 年 10 月 18 日

目 录

序	(1)
前 言	(2)
1 绪 论	(1)
1. 1 煤炭生物降解转化研究的意义	(1)
1. 2 煤炭的加氢液化及微生物液化技术的研究	(3)
1. 3 煤炭生物降解转化可行性研究	(6)
1. 4 煤炭生物降解转化研究概况	(10)
1. 5 微生物菌种选育技术	(16)
1. 6 主要研究内容、技术关键及创新点	(25)
2 材料、研究方法及主要设备	(29)
2. 1 试验材料	(29)
2. 2 煤样实验分析及煤炭微生物降解转化率计算方法	(30)
2. 3 降解用微生物的生物特性的研究	(32)
2. 4 煤及煤生物降解转化产物的结构特性分析	(36)
2. 5 试验用主要仪器及设备	(43)
3 黄孢原毛平革菌及其紫外、微波诱变菌用于煤炭降解转化的实验研究	(45)
3. 1 黄孢原毛平革菌的选择、培养及生物学特征	(45)
3. 2 黄孢原毛平革菌用于煤炭降解转化实验研究	(52)
3. 3 黄孢原毛平革菌的紫外诱变及其煤炭降解转化实验研究	(56)
3. 4 黄孢原毛平革菌的微波诱变及其煤炭降解转化实验研究	(61)
4 球红假单胞菌及其紫外、微波诱变菌用于煤炭降解转化实验研究	(66)
4. 1 球红假单胞菌的选择、培养及生物学特征	(66)

4. 2	球红假单胞菌用于煤炭降解转化实验研究	(71)
4. 3	球红假单胞菌的紫外诱变及其煤炭降解转化实验研究	(79)
4. 4	球红假单胞菌的微波诱变及其煤炭降解转化实验研究	(82)
5	球红假单胞菌、黄孢原毛平革菌原生质体的制备、诱变和跨界融合 及其用于煤炭降解转化实验研究	(86)
5. 1	球红假单胞菌原生质体的制备与再生	(86)
5. 2	球红假单胞菌原生质体的紫外诱变及其煤炭降解转化实验 研究	(90)
5. 3	球红假单胞菌原生质体的微波诱变及其煤炭降解转化实验 研究	(92)
5. 4	黄孢原毛平革菌原生质体的制备与再生	(94)
5. 5	黄孢原毛平革菌原生质体的紫外诱变及其煤炭降解转化实 验研究	(97)
5. 6	黄孢原毛平革菌原生质体的微波诱变及其煤炭降解转化实 验研究	(99)
5. 7	球红假单胞菌、黄孢原毛平革菌的跨界融合及其煤炭降解 转化实验研究	(101)
6	煤炭生物降解转化产物的特性研究	(110)
6. 1	球红假单胞菌降解转化煤炭产物的特性研究	(110)
6. 2	黄孢原毛平革菌降解转化煤炭产物的特性研究	(127)
6. 3	球红假单胞菌和黄孢原毛平革菌原生质体融合子降解转化 煤炭产物的特性研究	(156)
7	煤炭生物降解转化机理研究与分析	(167)
7. 1	碱作用机理	(167)
7. 2	生物分泌的螯合剂的作用机理	(169)
7. 3	生物酶作用机理	(170)
8	结 论	(192)
	参考文献	(198)
	后 记	(215)

1 绪 论

1.1 煤炭生物降解转化研究的意义

资源的合理利用和环境的绿色保护是人类生存和发展的基本前提条件，二者的关系应该是和谐统一的，经济的发展应该建立在对资源的合理利用和对环境的最小伤害之上。对当今世界而言，矿物燃料提供了 91% 的一次商品能源，其中煤炭占 28%，石油超过 40%^[1-2]。在世界范围内，煤炭资源相对于其他化石能源要丰富得多，这种能源结构在中国表现得尤为突出。按中国煤炭地质总局 1999 年第三次全国煤炭资源预测，全国煤炭资源总量为 55700 亿吨，但探明煤炭储量为 10421.35 亿吨，探明可经济开发的剩余总储量为 1145 亿吨；在探明储量中，烟煤占 75%，无烟煤占 12%，褐煤占 13%。中国一次商品能源以煤为主，在我国能源构成中占 70% 以上。其中，75% 的发电燃料、75% 的工业燃料、80% 的居民生活燃料和 60% 的化工原料，都是来自煤炭^[3]。中国是煤炭生产和消费第一大国，从 2005 年开始，国家对煤炭的需求在年 20 亿吨的基础上快速增长，全球每年 1/4 到 1/3 的煤炭在中国消耗掉。由此可见：我国能源结构与世界其他国家显著不同，在相当长的时期内，煤炭在中国能源资源中居绝对优势地位，其在中国一次能源结构中的基础地位将是不可替代的。煤炭在加工利用（包括燃烧、传统的转化等）中产生了一系列严重的环境问题，所以对其进行洁净利用已成为趋势。环顾世界，美国的“洁净煤技术示范计划”、日本的“新阳光计划”和“21 世纪煤炭技术战略”、欧盟的“兆卡计划”及我国的“中国洁净煤技术‘九五’计划和 2010 年发展规划”，诸多构想和计划都是以实现煤炭作为燃料的净化为最终目的的^[1]。

中国的煤炭资源特别是褐煤、风化煤等低阶煤资源十分丰富^[4]，已探明的褐煤保有储量达 1303 亿吨，约占全国煤炭储量的 13%^[5]。这些

低阶煤资源直接燃烧热效率低,工业应用价值低;此外,长期露天堆放,不仅造成能源的浪费,而且容易造成环境污染^[6]。因此,如何合理开发和充分利用褐煤及低阶煤资源将是一项值得深入研究的课题。

煤炭作为资源,它的使用既可以作为能源,又可以提取有用的化工产品,其中60%以上的化工原料就来自煤炭。采用高温、高压等手段把煤转变为液体、气体^[7-9]等其他类燃料代替油类物质,就是利用其高效转化的一种;而从煤炭中提取化工产品,通常是通过物理和化学的方法在高温、高压条件下进行能源形式的转化,从煤炭转化为油类物质及醇类物质和提取化工产品的过程来看,成本较高、条件苛刻和对环境的高污染是其致命缺陷。而采用微生物转化技术来处理煤炭,使之转化成另一种产品,如燃料、化工产品或作为其他类物质,具有工艺简单、低能耗、无污染和绿色环保等许多常规处理技术难以比拟的优点。因此,煤炭生物转化技术成为国内外研究的热点。我国政府制订的S-863计划生物技术领域,也把环境生物技术列为7个重大关键技术研究与发展项目之一^[10]。

煤炭的生物降解转化研究是煤炭加工利用中的新领域,也是化工和能源的新领域,在我国尤其具有重要的研究价值^[11]。其一,我国有丰富的煤炭资源,尤其是变质程度、热值和利用价值低的褐煤、风化煤及泥炭的储量和产量很大,适用于煤炭的生物转化。其二,从国家能源和战略安全这一战略角度考虑,不能过分依赖国外石油和天然气资源。这些年我国石油进口迅速增长,据海关统计:2000年中国石油进口量达70.00Mt(约耗资140亿美元);2003年日均进口原油超过180万桶,进口量占总消费量的比例已经超过30%,新增原油消费量每天达到60.3万桶,占全球新增消费量的40%以上,已经成为石油需求绝对水平的二号大国,增量水平上的头号大国;2007年原油进口量为16317万吨,耗资巨大,且随着我国经济的高速发展,石油进口量有加速增长的趋势,如此景不改,石油能源危机必将成为我国社会主义发展道路上的主要障碍之一。所以,从国家的战略安全和可持续发展的角度考虑,必须研究新的可靠的替代品,回到以煤代油,煤转化的路子上。另外,石油价格的飞涨,增加了国内各方面的负担,有的已经到了难以为继的地步,所以必须研究新的可靠的替代品。其三,由于石油资源逐步的减少和枯竭,也必须寻找新的可靠的替代品。我国化石燃料总资源为4.16万亿吨,其中煤炭占95.6%,石油占3.2%,天然气占1.2%,而占

95%以上的煤炭势必成为必须和必然的替代品，尤其目前我国还具有很多特大型煤化工转化基地，所以本课题的研究有着重要意义。发达国家目前也在朝此努力，早在2001年，美国总统布什就谈到要减少对外国石油的依赖，煤炭将成为美国政府能源政策的核心。

煤炭的生物降解转化与利用研究开辟了一条实现煤炭高效、清洁利用、可持续发展的新道路，采用微生物作为煤炭转化的媒介，可参考现行的一些已经通过微生物进行产业化的行业；煤炭的生物降解转化不需要高温、高压，处理得当不会产生较大的和长期的污染，也不需要高成本的建设和运行，具有工艺简单、能耗低、成本低、低污染等许多常规处理技术难以比拟的优点，其一系列优越性日益受到人们的重视和关注。

从当前生物技术的发展来看：各种新技术、新方法的出现和突破为我们彻底改造煤炭生物降解转化菌，培育性能优异的新菌种，逐步实现煤炭的生物降解转化提供了理论上和技术上的支持。通过对煤炭生物降解转化的系统研究，引入现代生物技术的最新成果，实现煤炭的绿色高效转化，这对于高速发展同时环境污染正在局部加剧、迫切需要大量能源的我国现代化的建设和发展将具有十分重要的意义。

1.2 煤炭的加氢液化及微生物液化技术的研究

1.2.1 煤炭的加氢液化

煤炭的加氢液化机理是煤和石油具有类似的结构，其差别在于C/H比不同。将煤由固态转化为液态的过程称为煤炭液化，煤液化涉及一系列复杂的化学反应^[12]。煤的分子结构显示煤中非共价键力在煤大分子构成中起主要作用，其次是共价键力。煤液化反应过程就是煤中非共价键和共价键的断裂及芳环加氢生成小分子的过程。

目前国内外煤炭液化的工艺包括间接液化和直接液化^[13]。

1. 煤炭的间接液化

间接液化工艺可分为合成气法和甲醇法，其中以合成气法为主。该方法是将煤气化转化为合成气($\text{CO} + \text{H}_2$)，完全破坏煤的化学结构，然后以合成气为原料，在一定压力、温度、催化剂的条件下，合成液态产品和其他化工产品。合成油中无硫、无氮化物，也不含芳烃，其汽

油、煤油、柴油馏分是极其高级的清洁油品或调和组分。典型的煤间接液化工艺是 F-T 合成法。目前, 南非 Sasol 公司以煤为原料制取液体燃料已实现商业化运行。图 1-1 是煤间接液化工艺流程图。

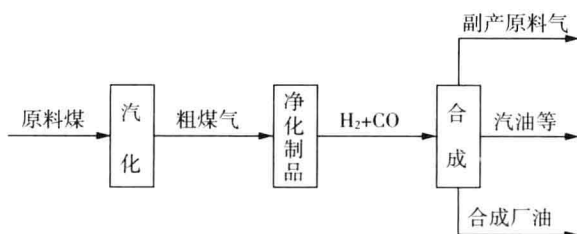


图 1-1 煤间接液化工艺流程简图

Fig 1-1 Coal indirect liquefaction process flow chart

2. 煤炭的直接液化

煤炭的直接液化是在高压氢气和催化剂存在的情况下将煤加热至 400℃~450℃, 使煤粉在溶剂中发生热解、加氢和加氢裂解反应, 继而通过气相催化加氢裂解等处理过程, 使煤中有机大分子转化为可作液体燃料的小分子, 再通过精馏制取汽油、柴油、燃料油等成品油^[14]。典型的煤直接液化技术是在 400℃、150 个大气压左右下将合适的煤催化加氢液化, 产出的油品芳烃含量高, 硫氮等杂质需要经过后续深度加氢精制才能达到目前石油产品的等级^[15]。直接液化的特点是液化油收率高, 馏分油以汽油、柴油为主, 目标产品的选择性相对较高, 但反应条件相对较苛刻。如德国老工艺液化压力甚至高达 70MPa, 现代工艺如 IGOR、HTI、NEDOL 等液化压力也达到 17~30MPa。然而液化产物组成复杂、分离相对困难、氢耗量大, 一般在 6%~10%, 这样会造成装置的生产能力降低, 对煤种的依赖性高。直接液化工艺可分为热裂解法、溶剂法、催化加氢法, 以溶剂法和催化加氢法或两种方法结合为主。图 1-2 是煤炭直接液化工艺流程简图。

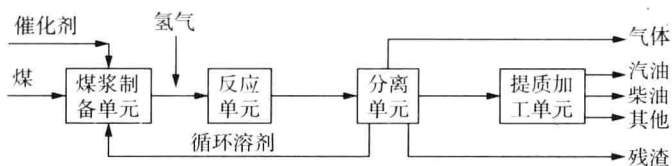


图 1-2 煤炭直接液化工艺流程简图

Fig 1-2 Coal direct liquefaction process flow chart

当前,世界各国相继投入了大量的人力和物力进行研究和开发,并形成许多相对成熟的工艺,如德国的 IGOR 工艺,日本的 NEDOL 工艺,美国的 SRC 溶剂精炼煤法、氢煤法 H-Coal、供氢溶剂法 EDS、两段催化法 CTSL、HTI 工艺和煤-油共炼法 UOP,俄罗斯的 FFI 低压加氢液化工艺等^[16-20]。

尽管国内外在煤液化方面已做了大量工作,但仍有许多问题尚待解决。如煤液化制油的成本居高不下,而目前技术的生产成本还不足以与石油竞争。所以,提高煤液化合成油技术水平和技术成熟程度是实现产业化的关键。同时,煤液化还伴随着如水和空气污染、地表破坏、固体废物处理及热效率低等问题。通常,直接液化工艺的热效率为 65%~70%,而间接液化工艺的热效率只有 37%~55%。因此,各国科研人员正积极探索反应条件温和、操作工艺简易和产品附加值高的煤液化工艺,以及提高煤液化合成油技术水平和技术成熟程度的新途径和方法。

煤炭液化技术在我国的发展还很不成熟,仍有很多技术上的问题有待解决。但是经过广大科研人员的努力,已取得了可喜的进展。2002 年,内蒙古伊泰集团与中国科学院山西煤炭化学研究所共同开发了“煤基合成油浆态床反应器技术”,在“国家 863”计划、中国科学院及多家企业的支持下,浆态床反应器技术在千吨级装置上试车成功,获得了油品大样;其煤基合成油核心技术于 2004 年通过中国科学院技术鉴定,2005 年通过科技部“国家 863”计划项目验收^[21]。另有神华集团内蒙古煤制油直接液化项目、潞安集团山西煤制油间接液化项目在建^[22]。

1.2.2 煤炭的生物降解转化

利用微生物加工处理煤炭是煤炭综合利用的一种新的尝试和努力。煤炭的微生物液化的研究,最早可追溯到 20 世纪初,但对煤炭的微生物液化现象的系统研究是 20 世纪 80 年代才开始的。80 年代初,德国 E. v. Fkaioussa 博士^[23]和美国 M. s. coken 教授^[24]分别报道了某些真菌能在煤块上生长,并能将高度氧化的褐煤转化成黑色水溶物。由此,煤炭的生物液化技术在世界上引起了许多研究者的注意^[25-27]。由于生物催化作用的特异性,使得煤炭的生物处理可以在相对常规过程更温和的条件下完成,同时煤炭的微生物处理将有利于特殊产物的生成,转化产物中或许包含有高附加值的化工产品^[28-29]。

低阶煤中通常含有大量木质素结构的物质^[7],用降解木质素的微生物

物来降解转化低阶煤,就有可能从中得到一些有特殊价值的化学品。这些化学品往往是高度水溶性的,其芳香结构上多含氧和含氮官能团,具有调节土壤性质、促进植物生长和稳定水煤浆的作用,还可用于作为免疫辅药和污水处理剂等。此外,低阶煤的生物加工方法明显的优点是操作可在常温、常压下进行,避免了传统煤加工方法的高温 and 高压过程,以及由此带来的诸多不利。从长远来看,煤炭的生物降解转化可能是煤炭液化、气化乃至微生物采煤的新途径。

煤炭的生物降解转化与利用研究开辟了一条实现能源良性的、可持续发展的新道路。这在当前全球能源危机和环境保护问题日益紧迫的形式下,对维护全球经济的健康发展有着重要的贡献和深远意义。目前,煤炭的生物降解转化与利用研究虽然尚处于初期,有许多问题亟待解决,但与传统的工业转化方法相比,它具有能耗低、转化条件温和、转化效率高、转化产物的经济效益、应用价值高、设备要求简单和绿色环保等一系列优越性,因而日益受到人们的重视和关注,其研究正方兴未艾。

1.3 煤炭生物降解转化可行性研究

煤、石油和木质素三者在大结构组成上的同源性以及某些微生物在碳素循环中的特殊性决定了煤炭生物转化的可行性。煤的生物降解转化研究是继煤的热化学加工(气化、液化)之后的最新进展,是结合现代生物工程的最新技术。煤是一种燃料,更是一种重要的化工原料。随着煤炭资源的综合开发利用,煤的生物降解转化技术越来越受到人们的重视。这方面的研究工作于20世纪80年代初蓬勃兴起,目前已取得不少研究成果。尤其随着现代生物技术的发展,更引起人们对煤炭生物降解转化的期望。目前发达国家已取得了一些初步成果,已经筛选出10多种有转化效果的菌类,也筛选出一些适合转化的煤种,并且对煤炭生物降解转化的预处理也进行了广泛研究。我国也在积极探索煤炭转化产物的应用,其转化的一些中间产品已经取得初步的应用成果。

1.3.1 煤炭生物加工的研究

煤炭生物加工的研究起源于金属矿的生物加工研究。由于金属矿的

品位越来越低,利用常规的加工提质手段成本太高;而利用微生物来加工提纯金属矿如铜、金等,其成本降低很多,而且条件温和,不污染环境,并已实现工业化生产。当前,煤炭生物加工的研究主要集中在两个领域^[30-31]:煤炭的生物净化和煤炭的生物转化。

1. 煤炭的生物净化

煤炭的生物净化即生物脱硫,生产条件温和且成本低,不仅不会降低煤的热值,还能脱除煤中的有机硫,从而引起世界各国的广泛关注。这方面的研究开展较早,研究结果报道较多^[32-37],未来微生物脱硫技术只要解决好高效功能菌的选育、硫代谢产物的控制与处理等问题,并着重开展多因素、多菌群、多相反应的复合技术的研究,其大规模应用前景就很乐观^[38-39]。

2. 煤炭的生物转化

煤炭的生物降解转化(Biotransformation)属于煤炭生物加工的范畴,是指煤在微生物参与下发生大分子的解聚作用,称为生物降解(Biodegradation)或生物溶解(Biosolubilization),其过程主要是利用真菌、细菌和放线菌等微生物的降解转化作用来实现煤的溶解、液化和气化,使之转化成易溶于水的物质或者烃类气体,从中提取有特殊价值的化学品及制取清洁燃料、工业添加剂与植物生长促进剂等^[11],最终实现煤的溶解、液化和气化,如把溶煤产物转化为具有很高附加值的单一低分子芳烃类和可替代石油作为清洁燃料的甲烷、甲醇和乙醇等物质。目前微生物将纤维素转化为醇、沼气、氢气和一氧化碳为主的煤气,甲烷化技术基本成熟,在常温和常压下即可。利用微生物降解石油和木质素的研究进展迅速,煤与石油、木质素同源,特别是年轻的低阶煤中就含有大量的木质素物质,已试验证明其能被微生物大量降解。因此,开拓具有广泛应用价值和前景的煤炭生物降解转化技术,将有十分重要的意义。

1.3.2 煤炭生物降解转化研究的可行性

研究表明^[40],煤是古代植物在不同自然环境下,经过了一系列生物、化学及物理化学变化而形成的复杂大分子固体混合物,具有多环芳香烃复杂结构^[41],如图1-3所示。从过程来看,其经历了两个阶段:泥炭化阶段与煤化阶段。

在泥炭化阶段,成煤的植物残体在泥炭沼泽中受到微生物及自然因素

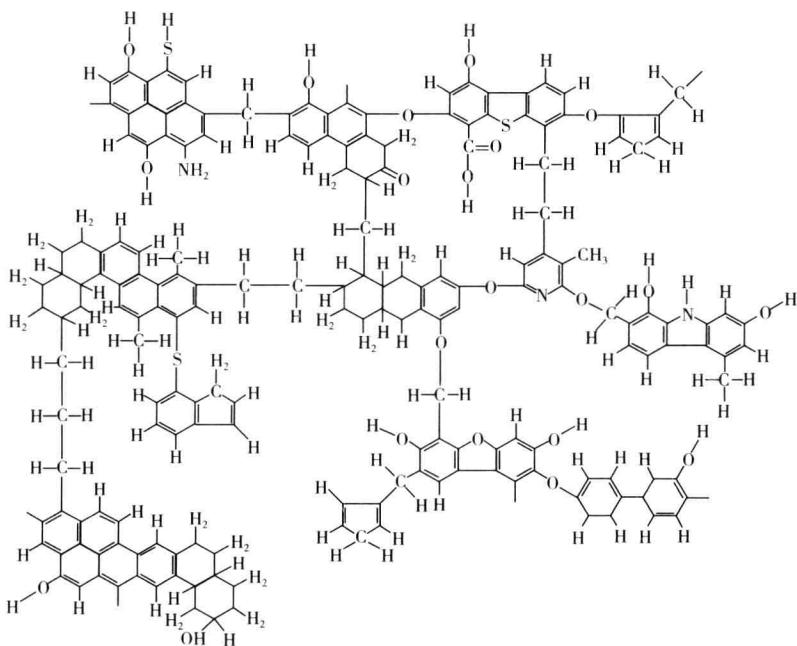


图 1-3 煤的微观结构示意图

Fig 1-3 Schematic representation of structural groups and connecting bridges in bituminous coal

的作用首先分解，纤维素很快分解成单糖类，木质素逐渐氧化成为复杂的、结构多变的腐植酸及水能溶解的苯环衍生物，结果植物残体就逐渐转化成为“腐植质”；其中含有大量的活性官能团，如 $=CO$ 、 $-OH$ 、 $-COOH$ 及 α -氢，它们相互作用，相互反应合成了新的产物，如腐植酸和沥青等。当形成的泥炭被其他沉积物覆盖时，泥炭化阶段作用结束，生物化学作用逐渐减弱直至停止，紧接着在温度和压力为主的物理化学作用下，泥炭逐步转化为褐煤、次烟煤、烟煤^[41]，如图 1-4 所示。

煤炭生物降解转化是煤在微生物作用下发生的大分子的氧化解聚作用，称之为生物降解（Biodegradation）或生物溶解（Biosolubilization），两者在概念上没有什么区别。煤炭生物降解转化基本上可以说是煤形成过程的逆过程，通过微生物的作用来达到它的降解。

对木质素结构的大量研究表明，木质素（lignin）是一类复杂的有机聚合物，大量存在于植物细胞壁中。木质素的单体是一类具有苯丙烷

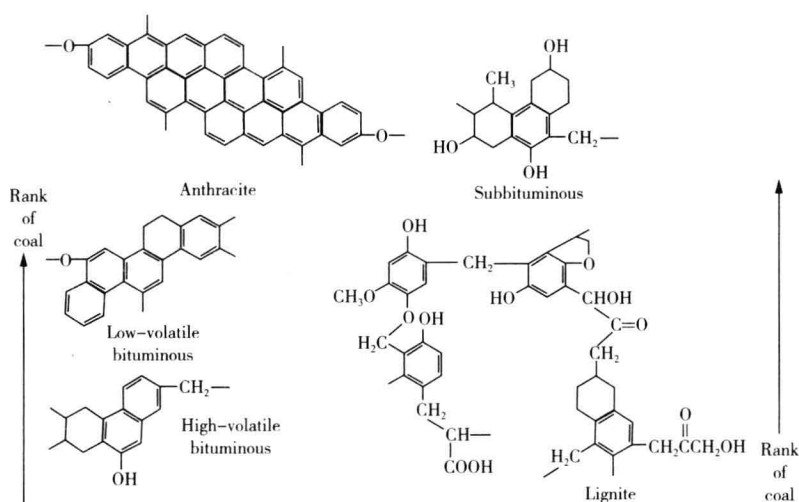


图 1-4 不同阶煤的部分结构

Fig 1-4 Representative partial structure of different ranks of coal

骨架的多羟基化合物，单体间通过 C—C 键和 C—O—C 键形成复杂的无定型高聚物^[42-43]。另外，科学研究表明某些真菌能释放木质素降解酶^[44]，如木质素过氧化物酶（LiP）和锰过氧化物酶（MnP），从而降解木质素。利用微生物降解木质素和芳香族化合物在造纸工业和环境微生物处理污染物质中报道很多，如吕镇梅、李硕文等研究了用白腐菌降解造纸黑液中木质素的影响因素^[45]，这方面的论文^[46-47]和书籍^[48-49]大都阐明了木质素类物质能够被微生物很好地降解。

一方面，煤是由植物演化而来的，对于低变质程度的煤，如褐煤中存在许多类木质素结构，煤分子中的侧链及桥键较多，活性官能团含量较高，最易被微生物作用，从图 1-4 可清楚地看出。由此联想到培养能降解木质素的微生物来作为降解煤的生物催化剂而降解煤。

另一方面，组成煤的高分子有机聚合物是多环芳香烃结构，假单胞菌属用于降解多环芳香烃类研究与实践已有很多报道，如利用假单胞菌进行石油与有机农药的降解^[50-52]，故假单胞菌属也可以用来降解煤炭。此外，现代生物工程技术为培养专一、高效、降解高聚物能力的菌种提供了有力的保证。

1.4 煤炭生物降解转化研究概况

煤炭生物降解转化研究作为一门新的矿物加工技术,从20世纪80年代开始进行研究,已取得一些成果。当前,研究主要集中在用微生物或微生物酶清洁、液化煤,尤其是作用于一些低阶煤^[53-57]。

1.4.1 降解转化煤炭的微生物

降解转化煤炭微生物的来源是根据它们的代谢产物,如分泌的酶、螯合剂等具有攻击煤或类似于煤的有机化合物中某些成分、结构等作用,这些都是从现有的各种微生物中筛选出来的。例如,低阶煤中含有大量的类木质素结构,所以可以选用能降解木质素的微生物如黄孢原毛平革菌来进行微生物溶煤研究,并已取得一定成果^[58-62]。煤中有芳环结构,故可选用能降解芳环的细菌如假单胞菌属来进行溶煤研究^[63]。此外,还可从生长在暴露于自然界中煤上的微生物中分离菌种, Gupta 从土壤中分离出一株 *Pseudomonas cepacia* 菌,能够使煤结构中的羧基碳、醚氧、芳香环和共轭的碳双键均有减少^[64]; Ward 从露天褐煤中分离得到12株真菌,都能以褐煤作为它们生长的碳源和能源^[65];国内如武丽敏^[66]在进行褐煤微生物综合肥料的研究中,从矿区的煤泥中分离纯化了若干株对褐煤有显著作用效果的微生物菌种。不同的微生物与不同的煤样的作用有一定的匹配关系,因此,不同煤种的溶降解煤的微生物的筛选就显得非常重要。我国的煤种繁多,低阶煤的储量很大,进行菌煤匹配的筛选工作具有重大的实际意义。

已经分离鉴定出用于溶降解煤试验的微生物有很多种。细菌类有 *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*^[67] 和 *Pseudomonas cepacia* strain DLC-07^[68];放线菌类有 *Streptomyces flavovirens*^[69], *Streptomyces viridosporus*, *Streptomyces setonii* 75Vi2 和 *Streptomyces badius* 252^[70-71];真菌类的担子菌属中有 *Trametes versicolor*, *Polyporus versicolor*^[72], *Poria placenta*^[73] 和 *Phanerochaete chrysosporium*^[74-76];酵母菌中的一些种^[77-78]及丝状真菌中的 *Aspergillus* sp.^[79], *Aspergillus terreus*^[77], *Aspergillus terricola*, *Aspergillus ochraceus*^[70], *Paecilomyces* spp.^[80-81] 和 *Cunninghamella* sp.^[78]。在这些种属中,云芝、