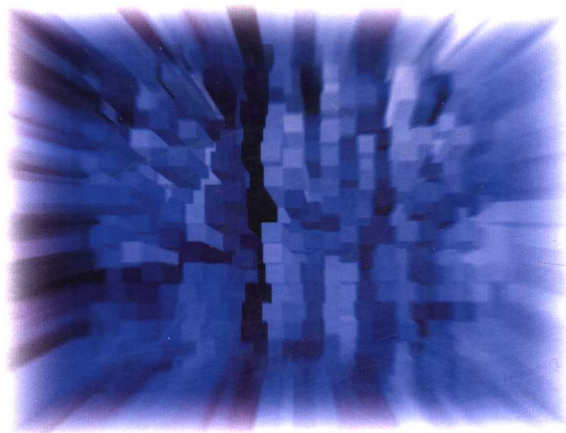


王龙贵 著

煤炭^的 微生物转化与利用



Chemical Industry Press



化学工业出版社
环境·能源出版中心

本著作得到以下项目资助

国家自然科学基金“煤炭生物转化技术的研究”(50474056)

2005 年度国家“高等学校博士学科点专项基金”项目“新型微生物用于煤炭生物转化的研究”

安徽省 2005~2006 年度自然科学基金项目“煤炭生物转化新菌种的筛选及其改良的研究”(050450102)

安徽省学术技术带头人后备人选 05 年资助项目“煤炭生物转化新菌种的培育及其应用研究”(2005hzbz09)

煤炭的微生物转化与利用

王龙贵 著



化学工业出版社
环境·能源出版中心

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

煤炭的微生物转化与利用/王龙贵著. —北京: 化学工业出版社, 2006. 5

ISBN 7-5025-8651-2

I. 煤… II. 王… III. 煤炭-转化-微生物催化作用-研究 IV. TQ530.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 043704 号

煤炭的微生物转化与利用

王龙贵 著

责任编辑: 王 斌

文字编辑: 张春娥

责任校对: 李 丽 徐贞珍

封面设计: 关 飞

*

化学工业出版社
环境·能源出版中心

出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市兴顺印刷厂印装

开本 850mm×1168mm 1/32 印张 6¼ 字数 159 千字

2006 年 6 月第 1 版 2006 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8651-2

定 价: 24.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

序 一

随着我国经济的快速发展，能源的需求量也日益增长。我国有较丰富的煤炭资源而且煤种齐全，是现在及未来的几十年内我国的主要能源。为了能高效和洁净地利用煤炭能源，发展洁净煤技术已成为我国重点发展的领域之一。煤炭转化是洁净煤技术的重要组成部分之一，也是目前煤炭技术发展的热点，煤炭的气化和液化尤其受到关注，并取得了较大的进展。

目前的气化和液化技术都是经过煤的热解过程，转化过程的条件苛刻，投资和运行成本较高，热能的利用率也较低。因此，近年来国内和国外都在寻找温和的、节能的、经济的煤炭转化方法，例如电化学法和生物转化方法。本书作者近几年来在煤炭生物转化方面做了大量扎实的研究工作，在不同煤种对生物转化的适应性、煤的预处理、菌种的选择与培育、煤降解的机理、转化产物的种类及其结构与应用等方面都做了大量探索，并有新的发现和新的观点。本书的内容丰富，除了作者的研究成果和翔实的数据外，还有作者对此研究方面的现状和未来发展的分析。

因此，本书的出版将会对从事煤炭生物转化研究的同行有所帮助，对本研究方向的发展及其工业化也会有较大的促进作用。

欧泽深 教授
2006 年 2 月
于中国矿业大学

序 二

煤炭是我国最主要的能源及化工原料，怎样使煤炭得到高效、清洁、无污染的利用，是当今科技工作者亟待解决的问题之一。我国有丰富的煤炭资源，特别是褐煤、风化煤等低阶煤资源，它们直接燃烧热效率低，工业应用价值低，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。如何合理开发与充分利用煤炭资源是一个值得深入研究的课题。

煤炭的生物转化研究是一项研究中的矿业生物工程低成本、低污染新技术，它利用当代生物工程的最新技术，力图把煤炭转变成高价值的化工品或油类物质，尤其对低阶的褐煤、风化煤的转化更具有优越性，因此受到许多发达国家的重视，目前已成为国内外学者们研究的热点。

本书作者多年从事矿物加工和洁净煤技术的研究。近年来主要对煤炭微生物转化这一新型交叉学科中具有前瞻性的课题进行研究。本书通过选择降解木质素类真菌与降解多环芳香烃类的球红假单胞菌，进行煤炭微生物转化研究，并考察了各种影响因素对煤炭降解转化效果的具体影响。书中对菌种的改良进行了一些有益的探索性研究，并应用于煤炭转化试验研究，取得了较好的试验结果。在研究过程中应用先进的 XRD、FTIR、MS 及全自动元素分析等多种现代分析测试技术，对煤及煤微生物转化后的产物及残渣进行了比较研究；书中还对煤微生物转化的机理方面进行了一些探索性研究，得到了很多有价值的认识和研究结论。本书具有较强的系统性，并具有多项创新性的研究成果。相信该书的出版会对正在兴起

的煤炭微生物转化的深入研究起到推动作用。

本书作者王龙贵博士学风严谨、勤奋努力、刻苦钻研。祝愿他的研究不断深入，在煤炭微生物转化的研究领域取得新的、更大的成就。

安徽理工大学副校长 博士生导师

張明旭

2006 年 2 月 13 日

前 言

煤炭是我国最主要的能源及化工原料，怎样使煤炭高效洁净转化，是一个多年来研究的问题；利用低成本的技术使之转变成高价值的化工品或油类物质是煤炭综合利用研究中的新领域。煤炭的微生物转化是一门新型交叉学科，是在矿业生物技术中具有前瞻性的基础研究课题。

本书系统地介绍了煤炭微生物转化的有关知识及煤炭微生物转化研究的有关方法。根据煤的结构和组成特点，选择两大类微生物——降解木质素类真菌和能降解多环芳烃类的球红假单胞菌作为煤炭转化用的微生物。

在煤炭的微生物转化试验研究中，比较系统地研究了各种因素如不同煤阶煤、菌种、培养方式、煤样预处理方式、煤样粒度、菌液用量、煤浆浓度、降解作用时间等对降解效果的影响。为提高转化效率，研究中尝试对得到的菌种进行了驯化育种与紫外诱变育种，并应用于煤炭转化试验中，结果表明，驯化育种比自然菌在同样条件下的转化率提高约 8%，诱变菌比驯化菌又高出 5% 左右，说明了菌种改良作用明显，并制取了菌胞外酶培养液进行溶煤试验研究。

在研究中采用 XRD、MS、FTIR 和全自动元素测定仪等多种现代分析测试技术，对煤及煤炭微生物转化后的产物及残渣进行比较与研究，对煤炭微生物转化的机理方面进行了多方面的研究，得出了一些比较有价值的结论，这对进一步研究煤炭微生物转化及与其他方法联合降解煤炭具有一定的参考价值。书中还对煤炭微生物

转化产物的应用进行了部分研究。

为了简便起见，本书有时将煤炭简称为煤。

由于笔者水平有限，书中的疏漏之处在所难免，敬请广大读者批评指正。

作者

2006 年 3 月

目 录

1 绪论	1
1.1 煤炭微生物转化研究的意义	1
1.2 微生物及其与煤炭生物转化的有关性质	3
1.2.1 微生物分类及其特性	3
1.2.2 微生物的构造	5
1.2.3 微生物的营养与生长	7
1.2.4 微生物群落之间的关系	9
1.2.5 微生物与煤炭生物转化的有关性质	10
1.3 煤炭生物转化试验研究的可行性	12
1.3.1 煤生物加工的研究	12
1.3.2 煤生物转化研究的可行性	13
1.4 国内外研究概况	15
1.4.1 溶解降解煤的微生物	16
1.4.2 可被微生物作用的煤种	17
1.4.3 溶煤方式的研究	18
1.4.4 煤微生物转化的机理及溶解煤的酶	18
1.4.5 微生物溶煤产物分析	23
1.4.6 微生物对煤降解研究的发展方向	25
1.5 本书主要研究内容及创新点	27
1.5.1 主要研究内容	27
1.5.2 主要特点与创新之处	28
2 煤微生物转化研究用材料、研究方法及主要设备	30
2.1 试验材料	30
2.1.1 试验用煤样	30
2.1.2 试验用主要微生物	30

2.2	试样制备、预处理、分析方法及煤微生物转化率测定方法	32
2.2.1	试样制备、预处理	32
2.2.2	煤样试验分析方法	34
2.2.3	煤微生物转化的转化率测定方法	34
2.3	研究用微生物的基本生物特性的研究	35
2.3.1	微生物的形态研究	35
2.3.2	微生物生长量的测量	37
2.4	煤及煤微生物转化产物的元素及结构特性分析	38
2.4.1	元素分析法	38
2.4.2	原煤及煤微生物转化产物的酸性官能团含量测定方法	39
2.4.3	X 射线衍射分析法	40
2.4.4	傅里叶变换红外光谱法	42
2.4.5	质谱分析法	43
2.5	试验用主要仪器及设备	44
2.5.1	样品及产物的制备与分析检测设备	44
2.5.2	微生物培养与分析检测及煤生物转化试验设备	45
3	煤转化用微生物的选择、纯种培养及生物学特性	47
3.1	煤转化用微生物的选择	47
3.2	煤转化用微生物菌种的培养基	47
3.2.1	培养基的主要类型及配制原则	47
3.2.2	用于煤转化降解微生物培养基的组成	48
3.2.3	培养基的消毒灭菌	49
3.3	真菌的分离培养及生物学特性	50
3.3.1	降解木质素菌——真菌的来源、分离纯化、扩大培养	50
3.3.2	试验用真菌的筛选	51
3.3.3	S_1 、 S_4 和 S_7 菌株菌落特征及菌体形态	52
3.4	试验用真菌的最佳培养条件选择	53
3.4.1	培养温度、pH 值对各菌种的生长影响	53
3.4.2	培养基组成对各菌种的生长影响	54
3.5	球红假单胞菌的生物学特性	55
3.5.1	球红假单胞菌的活化与培养	55
3.5.2	球红假单胞菌生长繁殖效应	55

3.5.3 球红假单胞菌菌落特征及菌体形态学研究	56
4 微生物的遗传变异与煤转化用菌种改良	58
4.1 微生物的遗传变异	58
4.1.1 遗传变异的物质基础——DNA	58
4.1.2 微生物的变异	61
4.2 煤转化用微生物菌种改良	62
4.2.1 变异与育种	62
4.2.2 煤转化用微生物菌种改良的方法	62
4.2.3 煤转化用微生物菌种驯化	66
4.2.4 球红假单胞菌菌种诱变	68
5 煤微生物转化试验研究	71
5.1 真菌应用于煤转化试验研究	71
5.1.1 真菌在固体培养基上转化煤能力测试	71
5.1.2 真菌在液体培养基中转化煤试验研究	74
5.2 球红假单胞菌应用于煤转化试验研究	85
5.2.1 球红假单胞菌液体培养对煤转化降解正交试验研究	85
5.2.2 球红假单胞菌驯化菌及煤有无预处理转化对比试验研究	90
5.2.3 球红假单胞菌诱变菌在液体培养基中转化煤试验	92
6 煤与煤微生物转化产物的特性、XRD、MS 及 FTIR 研究	95
6.1 煤微生物转化产物的特性研究	95
6.1.1 真菌溶煤产物的特性研究	95
6.1.2 球红假单胞菌溶煤产物的特性研究	96
6.2 煤与煤微生物(菌株 S_1)转化产物的 XRD 研究	97
6.2.1 试验样品及样品制备	97
6.2.2 分析测试仪器、条件与分析标准	97
6.2.3 分析测试结果与分析	98
6.3 煤抽提物与煤微生物(菌株 S_1)转化产物的 MS 研究	103
6.3.1 试验样品及样品制备	103
6.3.2 煤抽提物与煤经菌株 S_1 转化产物的 MS 试验结果及分析	104
6.4 煤与煤微生物转化产物的 FTIR 研究	109

6.4.1	煤与煤微生物转化产物的 FTIR 谱图	109
6.4.2	煤与煤微生物转化产物 FTIR 谱图解析与结果分析	116
7	煤微生物转化机理研究	120
7.1	原煤及煤微生物 (S_1 菌株) 转化产物的酸性官能团变化研究	120
7.1.1	试验样品	120
7.1.2	试验步骤	121
7.1.3	原煤及煤微生物 (S_1 菌株) 转化产物的酸性基测定结果 及分析	122
7.2	原煤及煤微生物 (菌株 S_1) 转化产物的元素分析	124
7.2.1	试验样品及试验条件	124
7.2.2	原煤及煤微生物 (菌株 S_1) 转化产物的元素含量测定 结果及分析	124
7.3	菌胞外酶培养液降解煤试验研究	127
7.3.1	试验	128
7.3.2	试验结果与讨论	129
8	煤生物降解转化产物在制备水煤浆中的应用	136
8.1	概述	136
8.2	试验材料与方法	136
8.3	结果与讨论	137
8.3.1	不同水煤浆的表观黏度	137
8.3.2	煤生物转化产物制备的水煤浆流变特性考察	138
8.3.3	煤生物转化产物制备的水煤浆的经济性讨论	139
9	结论	140
9.1	煤炭微生物转化的研究及煤炭生物转化菌种的选择方面	140
9.1.1	关于煤炭微生物转化的研究方向及内容	140
9.1.2	关于煤炭微生物转化的菌种选择方面	140
9.2	关于煤炭微生物转化的菌种改良方面研究	141
9.3	关于煤炭微生物转化试验研究方面	141
9.4	煤微生物转化产物的特性、XRD、MS 及 FTIR 研究方面	143
9.5	煤微生物转化机理及应用的研究方面	143

9.6 主要研究成果及创新点	144
9.7 今后的研究方向	145
附录	147
参考文献	176
编后语	183

1 绪 论

1.1 煤炭微生物转化研究的意义

环境、资源和能源是人类生存和发展的基本条件。它们对社会的发展、经济的发展和人民生活水平的提高具有极其重要的作用，是人们每日每时不可缺少的。对当今世界而言，矿物燃料提供世界91%的一次商品能源，其中煤炭占28%，石油超过40%。在亚洲地区、大洋洲地区能源消费结构中，矿物燃料占93.5%，其中煤炭占48.3%，石油占37.3%，天然气占7.9%^[1]。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。中国一次商品能源以煤为主，已探明的煤炭储量超过 8.1×10^{11} t，在我国能源构成中占70%以上。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^[2]。从较长远角度来看，在一次能源探明储量中煤炭占90%以上^[1]。可见，在相当长的时期内，煤炭在中国一次能源结构中占据不可替代的重要地位。

中国有丰富的煤炭资源特别是褐煤、风化煤等低阶煤资源^[3]，已探明的褐煤保有储量达1303亿吨，占全国煤炭储量的13%弱^[4]。这些低阶煤资源直接燃烧热效率低，工业应用价值低，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。因此，如何合理开发和充分利用褐煤及其他低阶煤资源^[5]将是一个值得深入研究的课题。

煤炭作为资源，既可以将其作为能源使用，又可以从中提取有用的化工产品，60%以上的化工原料就来自煤炭。作为能源，煤炭必须清洁高效利用，采用高温、高压等手段把煤转变为液体、气体^[6~8]等其他类燃料代替油类物质，就是其高效转化利用的一种。

而从煤炭中提取化工产品，通常采用的是物理的方法、化学的方法，外加一定的压力以及一定的温度的条件来进行。从煤炭转化为油类物质和醇类物质以及提取化工产品的过程来看，成本较高、条件苛刻。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，或作为燃料、或从中提取化工产品、或作为其他类物质，具有工艺简单、低能耗、无污染等许多常规处理技术难以比拟的优点，因此，成为国内外研究的热点。我国政府制定的 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开发项目之一^[9]。

煤微生物转化或生物转化 (biotransformation) 属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，称生物降解 (biodegradation) 或生物溶解 (biosolubilization)，主要是利用真菌、细菌和放线菌等微生物的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或制取清洁燃料、工业添加剂与农植物生长促进剂等^[10]。作为后续的研究，寻找合适的菌种，可把溶煤产物转化为单一的低分子芳烃，也即具有很高价值的化学品。如果把溶煤产物再进行厌氧微生物处理得到甲烷、甲醇和乙醇等物质，则可替代石油作为清洁燃料。当然，煤的生物转化要经历诸多的过程才能完成。目前微生物将纤维素转化为醇以及将纤维素转化为以沼气、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进行。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，特别是年轻的煤中就含有大量的类木质素物质，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转化技术，将有十分重要的意义。

煤的微生物转化研究是煤加工利用中的新领域，在我国尤其有研究价值。其一，我国有丰富的煤炭资源，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，尤其适用于煤炭的生物转化。其二，从国家能源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，2000 年达 70.00Mt

(约耗资 140 亿美元), 现在年进口量已突破 1 亿吨, 所以必须研究寻找新的可靠的替代品。其三, 石油资源逐步的减少和枯竭也要求必须寻找新的可靠燃料及生产化工品的替代品。我国化石燃料总资源 4.16 万亿吨, 其中 95.6% 煤炭、3.2% 石油、1.2% 天然气。而占 95% 以上的煤炭是必然和必需的替代品。尤其在目前, 我国还有许多特大型煤化工转化基地, 所以研究本课题有着重要的意义。发达国家目前也在朝此方向努力, 2001 年 5 月, 美国总统布什谈到要减少对外国石油的依赖, 煤炭将成为美国政府的能源政策核心。

煤炭的微生物转化与利用研究为人们开辟了一条实现煤炭高效和清洁的利用以及可持续发展的新道路, 利用微生物把煤转变成其他类燃料或从中提取附加值高的化工品, 这在当前能源危机、资源危机和环境保护问题日益紧迫的全球形势下, 对维护全球的健康发展和人类生存有着重要的贡献和深远的意义。煤的微生物转化利用研究目前虽然尚处于初期, 有许多问题亟待解决, 但与传统的工业转化方法相比, 具有能耗低、转化条件温和、转化效率高、转化产物应用价值高、设备要求简单等一系列优越性而日益受到人们的重视与关注。

生物技术的发展日新月异, 现代生物技术为改造和培育能够实现煤炭生物转化所需的高效菌种提供了可能。

1.2 微生物及其与煤炭生物转化的有关性质

1.2.1 微生物分类及其特性

(1) 微生物分类 微生物 (microorganism) 是一切肉眼看不见的微小生物的总称。它并不是生物分类学上的名词, 它是一些形体微小 ($<0.1\text{mm}$) 的单细胞、构造简单的多细胞以及没有细胞结构的微小生物的总称^[1]。

微生物主要包括病毒、细菌、蓝细菌、放线菌及原核生物的藻类以及真核生物的真菌等。微生物属原生生物界, 是有别于植物界和动物界的第三界生物。

微生物的分类是按照生物客观存在的生物属性 (如个体形态及

大小、染色反应、菌落特征、细胞结构、生理生化反应、血清学反应、同氧的反应如何等)及亲缘关系,以界、门、纲、目、科、属、种来对微生物进行分类。

(2) 微生物的特性 微生物所具有的区别于其他生物的共同特点可以归纳为体积小,表面积大;吸收多,转化快;生长旺,繁殖快;适应性强,易变异;分布广,种类多这5个共性,也正是这几个共性导致了許多微生物具有降解转化高分子物质的本领和性能。

体积小表现在大多数微生物的直径在 $1\mu\text{m}$ 以下,微生物大小都用微米作为其度量单位。表面积大表现在 1cm^3 固体的球菌加在一起,表面积能达 6m^2 。所以,在环境中如果微生物吸附在污染物或某种矿物表面上,可使它们的表面积扩大数倍多,它们表面就具备了微生物的性质,在环境污染物处理和矿物表面改性研究中就广泛地利用了微生物的这一特点。

微生物因具有吸收快、转化快、生长旺、繁殖快等特点,为其快速生长和产生大量代谢产物提供了物质基础。微生物对营养物的快速吸收转化,体现出的是一种强大的生化反应能力,使其具有极强的氧化代谢和吸收转化功能。其极强的氧化代谢和吸收转化功能为环境污染治理和其他物质转化(如煤炭转化)提供了基础。绝大多数微生物是以裂殖方式繁殖,繁殖速度惊人,其中以二等分裂的细菌(如大肠杆菌)最为突出。在适宜的环境中,微生物繁殖一代,快的仅需几分钟,慢的也只需几小时,这为其适应工业生产规模提供了必要条件。

此外,微生物分布广、种类多,凡有生命的地方皆有微生物存在。即使是在不利于一般生物生存的极端恶劣环境,如干旱沙漠、冰川极地、深海底、热泉口、火山口、盐湖以及酸性矿物水等不良环境中都可发现微生物的踪影。在深海底就有硫细菌生存, $70\sim 80\text{km}$ 的高空能采集到细菌和真菌。微生物分布广和种类的多样性,为寻找更多的、效果更好的煤炭转化微生物创造了有利条件。有人估计目前人类至多仅开发了已发现的微生物种数的1%,目前所了解的微生物种类,至多也不超过生活在自然界微生物总数