

放线菌筛选及降解光氧化褐煤工艺条件研究

李建涛^{1,2}, 刘向荣³, 石晨³, 庄肃凯^{1,2}

(1. 商洛学院 化学工程与现代材料学院, 陕西 商洛 726000; 2. 陕西省尾矿综合利用重点实验室, 陕西 商洛 726000;

3. 西安科技大学 化学与化工学院, 陕西 西安 710054)

摘要: 煤的微生物转化是低阶煤高效清洁利用的有效途径, 放线菌是降解低阶煤的主要作用菌之一。光氧化预处理低阶煤能够增加低阶煤的含氧量, 有利于提高微生物对煤的降解率。为了获得降解褐煤的高效放线菌菌株, 对 5 种放线菌和 4 种光氧化褐煤进行了菌-煤匹配试验, 经过对比 5 种放线菌对 4 种光氧化褐煤的降解效果, 最终筛选出的优势放线菌降解菌株为绿孢链霉菌。以绿孢链霉菌降解光氧化褐煤所得降解液在 450 nm 处的吸光度值为指标, 通过单因素试验探讨了绿孢链霉菌降解光氧化内蒙胜利褐煤的工艺条件, 确定的最佳工艺条件为: 20 mL 培养基的加煤量和接种量分别为 0.2 g 和 3.0 mL, 培养时间为 10 d, 培养箱振荡频率为 160 r/min, 煤样粒度为 0.150~0.075 mm, 培养温度为 28 ℃。依据最佳工艺条件, 进一步研究了绿孢链霉菌对光氧化云南昭通褐煤、光氧化山西浑源褐煤和光氧化内蒙元宝山褐煤的降解效果, 结果表明: 绿孢链霉菌对 3 种光氧化褐煤的降解效果均有一定程度的提升。因此, 以内蒙胜利褐煤为样本确定的绿孢链霉菌降解光氧化褐煤的工艺条件对不同光氧化褐煤的降解过程具有一定的普适性, 可作为研究绿孢链霉菌降解光氧化褐煤的较优工艺条件参考使用。

关键词: 放线菌; 褐煤; 微生物降解; 光氧化

中图分类号: TQ533

文献标志码: A

文章编号: 1006-6772(2020)06-0138-06

Study on actinomycetes screening and technological conditions for biodegradation of photooxidized lignites

LI Jiantao^{1,2}, LIU Xiangrong³, SHI Chen³, ZHUANG Sukai^{1,2}

(1. College of Chemical Engineering and Modern Materials, Shangluo University, Shangluo 726000, China; 2. Shaanxi Key Laboratory of

Comprehensive Utilization of Tailings Resources, Shangluo 726000, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an

University of Science and Technology, Xi'an 710054, China)

Abstract: Microbial degradation of coal is an effective way for efficient and clean utilization of low rank coal, and actinomycetes are one of the main microbes to degrade low rank coal. Photooxidation pretreatment of low rank coal can increase the oxygen content of low rank coal, which will help to improve the biodegradation rate of coal by microorganism. In order to obtain high-efficiency biodegradation strain of lignite, five actinomycetes and four photooxidized lignites were tested by actinomycete-coal matching experiments. After comparing the degradation effect of 5 kinds of actinomycetes and 4 kinds of photooxidation lignite, the dominant strain selected was *Streptomyces viridosporus*. Taking the absorbance value at 450 nm of the degradation solution obtained by *Streptomyces viridosporus* as the index, the single factor experiments were carried out to determine the technological condition of biodegradation of Inner Mongolia Shengli lignite by *Streptomyces viridosporus*. Finally, the determined optimum technological conditions were listed as follows: coal slurry mass concentration of 0.2 g/20 mL, inoculum size of 3.0 mL/20 mL, incubation time of 10 d, oscillation frequency of 160 r/min, coal particle size of 0.150~0.075 mm and incubation temperature of 28 ℃. According to this condition, the degradation effects of *Streptomyces viridosporus* degrading GZTH, GHYH and GYBH were studied. The results show that under this condition, the degradation effects of *Streptomyces viridosporus* degrading the three lignites are all improved to some extent. It can be seen that the process conditions of photooxidation lignite degraded

收稿日期: 2019-11-06 责任编辑: 张晓宁 DOI: 10.13226/j.issn.1006-6772.19110607

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21373158); 陕西科技厅中澳合作项目(2013KW17)

作者简介: 李建涛(1979—), 男, 陕西商州人, 讲师, 博士, 主要研究方向为矿物加工。E-mail: 287652734@qq.com。通讯作者: 刘向荣(1966—), 女, 教授, 博士, 主要研究方向为煤炭清洁利用。E-mail: liuxiangrongxk@163.com

引用格式: 李建涛, 刘向荣, 石晨, 等. 放线菌筛选及降解光氧化褐煤工艺条件研究[J]. 洁净煤技术, 2020, 26(6): 138-143.

LI Jiantao, LIU Xiangrong, SHI Chen, et al. Study on actinomycetes screening and technological conditions for biodegradation of photooxidized lignites[J]. Clean Coal Technology, 2020, 26(6): 138-143.



移动阅读

by *Streptomyces viridosporous* taking Shengli lignite in Inner Mongolia as the sample has a certain universality for the degradation process of different photooxidation lignite, which can be used as a reference for the study of the better process conditions for the degradation of photooxidation lignite by *Streptomyces viridosporous*.

Key words: actinomycete; lignite; biodegradation; photooxidation

0 引言

煤的微生物降解是继煤液化、气化之后的新技术,是具有发展前景的低阶煤清洁高效利用的途径之一^[1-3]。煤的微生物降解(或称微生物溶煤,煤的微生物转化)指利用真菌、细菌和放线菌等微生物作用来实现煤的溶解、降解、液化或气化,以获取清洁燃料和其他化学品^[4-5]。20世纪80年代, Fakoussa R M^[6]和 Cohen M S^[7]研究表明假单胞菌和白腐菌能够降解煤。经过近40年的发展,煤的微生物转化技术取得了较大成果,但也存在很多难题,如:微生物对煤的降解率低、缺乏高效降解菌、煤的预处理方式有待改进、降解产物难以分离、高附加值利用途径少、降解机理不明等,在一定程度上阻碍了煤微生物降解技术的工业化进程。其中,微生物对煤的降解率低、高效降解菌缺乏是最基本的问题^[8-10]。袁红莉等^[11]经研究发现,自然界褐煤在风化降解过程中,不同时期微生物类群存在明显的演替现象,即放线菌为褐煤风化初期的主要作用菌,随之是细菌,真菌在褐煤风化后期起主要作用。可见,煤的微生物降解是分步进行的,多种菌在不同阶段起不同作用的协同过程。

本文设想建立煤的微生物分级降解方法,以实

现微生物对煤的协同作用和高效降解。首先筛选出能够降解低阶煤的放线菌菌株,并利用单因素方法研究降解条件,为低阶煤分级降解方法的建立提供支撑。

1 试验

1.1 煤样及预处理

试验用煤样为内蒙胜利褐煤(SLH)、云南昭通褐煤(ZTH)、山西浑源褐煤(HYH)和内蒙元宝山褐煤(YBH),各煤样在60℃下烘干3h,经破碎、粉磨、筛分得到粒度为0.150~0.075mm的煤样。由于微生物对原煤的降解效果较差,因此在降解前需对原煤进行预处理,以提高煤的含氧量,从而提高煤的微生物可降解性。本文利用自行设计加工的旋转床光化学反应器^[12]分别对各煤样进行光氧化预处理,预处理最佳条件为:加煤量20g,煤样粒度0.150~0.075mm,紫外光强度150W,马达转速120r/min,氧化时间42h,通氧时间40min,得到光氧化后的煤样,分别记为GSLH、GZTH、GHYH和GYBH。光氧化褐煤的工业分析和元素分析结果见表1。对各光氧化煤样进行低温氮吸附检测,GSLH、GZTH、GHYH和GYBH的比表面积分别为4.1568、3.6363、3.3993、3.7969m²/g。

表1 煤样的工业分析和元素分析

Table 1 Proximate and ultimate analysis of lignite samples

| 煤样 | 工业分析/% | | | | 元素分析/% | | | | |
|------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|------------|------------|
| | M_{ad} | A_{ad} | V_{ad} | FC_{ad} | C_{ad} | H_{ad} | N_{ad} | $S_{t,ad}$ | O_{ad}^* |
| GSLH | 5.15 | 9.74 | 43.39 | 41.72 | 54.86 | 4.67 | 0.68 | 0.47 | 24.43 |
| GZTH | 13.39 | 8.03 | 49.35 | 29.23 | 47.89 | 5.03 | 3.31 | 0.72 | 21.63 |
| GHYH | 11.57 | 14.33 | 47.45 | 26.65 | 49.01 | 3.82 | 0.86 | 0.37 | 20.04 |
| GYBH | 9.14 | 3.82 | 41.97 | 45.07 | 65.42 | 4.85 | 0.94 | 1.27 | 14.56 |

注:*表示该数值通过差减法得到。

1.2 菌株及复壮

1) 菌株及培养基

试验用5株放线菌购自中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC,表2),培养基为高氏一号培养基:可溶性淀粉20g,KNO₃1g,K₂HPO₄0.5g,MgSO₄·7H₂O0.5g,NaCl0.5g,FeSO₄·7H₂O0.01g,固体培养基加琼脂15g,蒸馏水1000mL,pH=7.4~7.6。

表2 试验菌种

Table2 Experimental strains

| 菌种及简称 | 英文名 | CGMCC 编号 |
|-------------|--|----------|
| 黄微绿链霉菌(SF) | <i>Streptomyces flavovirens</i> | 4.851 |
| 绿孢链霉菌(SV) | <i>Streptomyces viridosporous</i> | 4.1770 |
| 奇迹丝束放线菌(AM) | <i>Actinosynnema mirum</i> | 4.1645 |
| 细黄链霉菌(SM) | <i>Streptomyces microflavus</i> | 4.6556 |
| 菲律宾拟孢囊菌(KP) | <i>Kibdelosporangium philippinense</i> | 4.5860 |

2) 菌株活化及复壮

将4℃甘油保藏的放线菌(黄微绿链霉菌(SF)、绿孢链霉菌(SV)、奇迹丝束放线菌(AM)、细黄链霉菌(SM)和菲律宾拟孢囊菌(KP))分别接种至装有10 mL高氏一号液体培养基的试管中,将试管放入恒温振荡培养箱,在28℃、振荡频率160 r/min条件下培养4 d;然后在预先倒好的高氏一号培养基平板上分别划线,倒置于人工气候培养箱,在28℃、相对湿度80%条件下培养4 d,观察无杂菌后,分别用接种针挑少量菌体放入50 mL无菌水中充分振荡,用接种环蘸取一孔接种于装有10 mL高氏一号培养基的试管中,将试管放入恒温振荡培养箱,在28℃、振荡频率160 r/min条件下培养4 d后,用接种环蘸取一孔接种至装有100 mL高氏一号培养基的250 mL锥形瓶中,置于恒温振荡培养箱,相同条件培养4 d,得到5种放线菌菌液作为筛选试验母菌液。

1.3 菌-煤匹配筛选试验

取试管若干,每个试管中装高氏一号液体培养基20 mL,分别做无菌的空白对照试验和5种放线菌对4种光氧化褐煤的降解试验。除空白以外的试管,分别用接种环蘸取复壮好的5种放线菌一孔接种,放入恒温振荡培养箱,温度28℃,振荡频率160 r/min,培养4 d,接种的培养基变浑浊。试管分别加(0.16±0.000 2) g、粒度为0.150~0.075 mm的煤样,放入恒温培养箱,继续振荡培养20 d,每个试验设置3组平行试验。试验结束后,3组平行试验的降解产物分别离心(10 000 r/min, 10 min),上清液过滤,滤液过0.22 μm微孔滤膜,以去离子水为参比,利用TU-1900型紫外-可见分光光度计检测滤液在450 nm处的吸光度,求得3组平行试验的 A_{450} 平均值,作为指标。比较5种放线菌对光氧化褐煤降解液吸光度, A_{450} 最大者为优势菌株。

煤样经微生物降解后,液体中含有煤降解产物而呈黑色,其对光束存在一定的散射和吸收作用,因此,利用紫外-可见分光光度计测定黑色降解液在波长为450 nm处的吸光度 A_{450} ,并以此作为降解效果指标,对微生物降解煤的效果进行评价。通过降解液的 A_{450} 值来判断微生物降解煤的效果是基于大量的紫外连续扫描数据及统计方法得到,而不是煤炭微生物降解所得液体产物的特征吸收波长^[13-15]。

1.4 单因素试验设计

影响微生物液体降解煤效果的因素繁多,其中最重要的影响因素有煤种、菌种、煤样预处理方式、加煤量、煤样粒度、接种量、培养基、培养时间(降解

时间)、培养温度(降解温度)和培养箱振荡频率等。选用GSLH,煤样预处理方式采用光氧化预处理。菌种为1.3筛选的优势放线菌,培养基为高氏一号培养基,煤样粒度为光氧化预处理过程确定的最佳粒度(0.150~0.075 mm),培养温度为CGMCC提供的该微生物生长的最适宜温度28℃,对加煤量、接种量、培养时间和振荡频率4个条件进行探讨,确定最佳值。

1) 加煤量的确定

分别称取0.1、0.2、0.3、0.4和0.5 g GSLH煤样,称准至±0.000 2 g,煤样粒度0.150~0.075 mm,液体培养基20 mL接种SV母菌液2.0 mL,培养箱温度28℃,振荡频率为160 r/min,培养14 d,每个试验设置3组平行试验。培养结束后,3组平行试验的降解产物分别离心(10 000 r/min, 15 min),上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤,以去离子水为参比,检测滤液在450 nm处的吸光度 A_{450} ,求得3组平行试验的 A_{450} 平均值作为指标。 A_{450} 最大者对应的加煤量确定为最佳加煤量。

2) 接种量的确定

取最佳加煤量,煤样粒度0.150~0.075 mm,液体培养基20 mL接种SV母菌液,接种量分别取1.0、1.4、2.0、2.4、3.0、3.4和4.0 mL,培养箱温度28℃,振荡频率160 r/min,培养14 d,每个试验设置3组平行试验。培养结束后,3组平行试验的降解产物分别离心(10 000 r/min, 15 min),上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤,检测滤液在450 nm处的吸光度,求得3组平行试验的 A_{450} 平均值作为指标。 A_{450} 最大者对应的接种量确定为最佳接种量。

3) 培养时间的确定

取最佳加煤量,液体培养基20 mL接种SV母菌液,取最佳接种量,煤样粒度0.150~0.075 mm,培养箱温度28℃,振荡频率160 r/min,培养时间分别取6、8、10、12、14和16 d,每个试验设置3组平行试验。培养结束后,3组平行试验的降解产物分别离心(10 000 r/min, 15 min),上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤,检测滤液在450 nm处的吸光度,求得3组平行试验的 A_{450} 平均值作为指标。 A_{450} 最大者对应的培养时间确定为最佳培养时间。

4) 振荡频率的确定

分别取最佳的加煤量、接种量和培养时间,液体培养基20 mL接种SV母菌液,煤样粒度0.150~0.075 mm,培养箱温度28℃,培养箱振荡频率分别取60、110、160、210和260 r/min,每个试验设置3组平行试验。培养结束后,3组平行试验分别离心

(10 000 r/min, 15 min), 上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 检测降解液在 450 nm 处的吸光度, 求得 3 组平行试验的 A_{450} 平均值作为指标, A_{450} 最大者对应的振荡频率确定为最佳振荡频率。

1.5 3种褐煤的降解试验

利用菌株筛选试验确定的降解菌, 根据单因素确定的菌株降解 GSLH 的最佳工艺条件对 GZTH、GHYH 和 GYBH 进行降解试验, 每个试验设置 3 组平行试验。培养结束后, 3 组平行试验分别离心 (10 000 r/min, 15 min), 上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 以去离子水为参比, 检测降解液在 450 nm 处的吸光度, 求得 3 组平行试验的 A_{450} 平均值作为指标, 评价降解效果。

2 结果及讨论

2.1 菌株筛选结果

图 1 为菌-煤匹配试验结果, 其中 C 表示培养基对光氧化褐煤在相同条件下的溶煤液吸光度 A_{450} , SF、SV、AM、SM 和 KP 表示 5 种放线菌对 GSLH、GZTH、GHYH 和 GYBH 的降解液吸光度 A_{450} 。

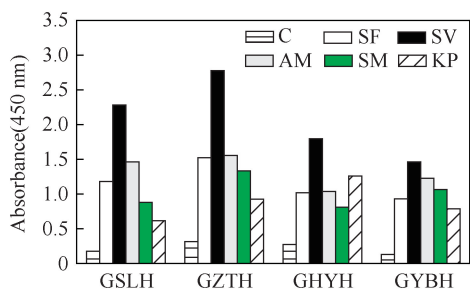
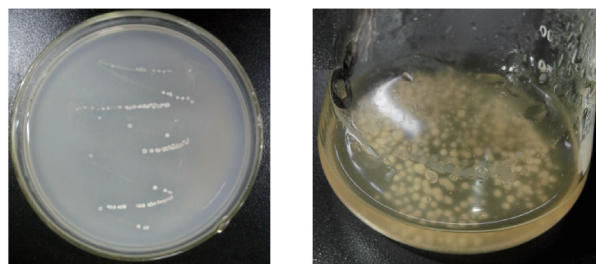


图 1 5种放线菌降解褐煤结果

Fig.1 Results of five actinomycetes degrading photooxidized lignites

由图 1 可见, 4 种光氧化褐煤在培养基中的溶解均较少, 5 种放线菌对 GSLH 的降解能力强弱顺序为 SV>AM>SF>SM>KP, 对 GZTH 的降解能力强弱顺序为 SV>AM>SF>SM>KP, 对 GHYH 的降解能力强弱顺序为 SV>KP>AM>SF>SM, 对 GYBH 的降解能力强弱顺序为 SV>AM>SM>SF>KP。由此可见, 虽然降解能力的变化程度不一, 顺序略有差别, 但 5 种放线菌对 4 种光氧化褐煤的降解能力最强者均为绿孢链霉菌 (SV)。因此确定绿孢链霉菌 (SV) 为光氧化低阶煤的优势放线菌菌株 (图 2)。将 1.2 节中活化复壮的绿孢链霉菌母菌液在 530 nm 处的吸光度^[16-17], 代入已确定的菌浓度-吸光度关系方程, 计算得到菌浓度为 3.7×10^5 cfu/mL。



(a) 固体培养

(b) 液体培养

图 2 绿孢链霉菌菌形

图 2 Features of *Streptomyces viridosporus*

2.2 单因素试验结果

1) 加煤量

图 3 为加煤量对绿孢链霉菌降解光氧化内蒙胜利褐煤降解液吸光度的影响, 可知, 随着加煤量增加, A_{450} 值先增后减, 加煤量为 0.2 g (以 20 mL 培养基计, 下同) 时, A_{450} 达最大值, 为 2.437, 加煤量大于 0.3 g 后, A_{450} 值急剧下降。可能是因为加煤量较少时, 菌株分泌的降解煤活性物质与煤中相应的活性点充分作用后还有剩余, 虽然降解率达极大值, 但降解产物浓度相对较低; 当加煤量为 0.2 g 时, 菌株生长过程中分泌的降解煤活性物质与煤中的活性点相互作用程度较充分, 虽可能未达到加煤量为 0.1 g 时的降解率, 但由于二者相互作用充分, 使相同体积情况下的降解产物浓度较大, 故而 A_{450} 值较大; 继续增大加煤量, 由于煤浆浓度过大会抑制菌株的生长, 导致菌株生长不旺盛, 分泌降解煤活性物质减少, 引起 A_{450} 值减小。因此, 20 mL 培养基的最佳加煤量为 0.2 g。

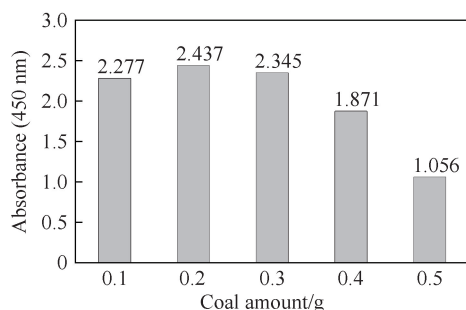


图 3 加煤量对降解液吸光度的影响

Fig.3 Effect of coal amount on A_{450} of degradation liquid

2) 接种量

图 4 为接种量对绿孢链霉菌降解光氧化内蒙胜利褐煤降解液吸光度的影响, 可以看出, 随着接种量增大, 降解液的吸光度 A_{450} 迅速增大, 当接种量达 2.0 mL 时, 降解液的 A_{450} 值达 2.541, 继续增大接种量, A_{450} 值增加缓慢, 接种量达 3.0 mL 后, A_{450} 值变化甚微, 故最佳接种量确定为 3.0 mL。

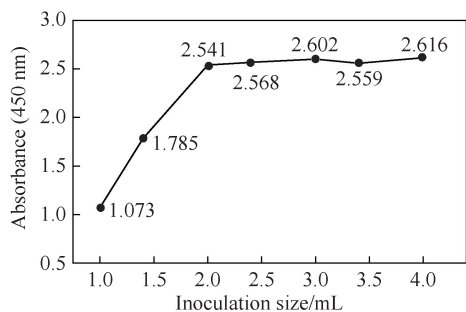


图4 接种量对降解液吸光度的影响

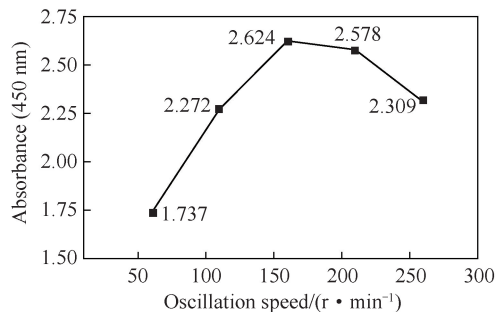
Fig.4 Effect of inoculation amount on A_{450} of degradation liquid

图6 振荡频率对降解液吸光度的影响

Fig.6 Effect of oscillation frequency on A_{450} of degradation liquid

3) 培养时间

图5为培养时间对绿孢链霉菌降解光氧化内蒙胜利褐煤降解液吸光度的影响,可见,随着培养时间延长,降解液的吸光度 A_{450} 值逐渐增大,10 d后,继续延长培养时间对降解液吸光度的影响不大,因此最佳培养时间确定为10 d。

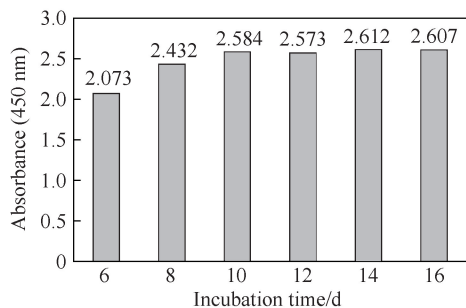


图5 培养时间对降解液吸光度的影响

Fig.5 Effect of incubation time on A_{450} of degradation liquid

可见,绿孢链霉菌对3种光氧化褐煤的降解液吸光度分别为2.937、2.062和1.649,比菌煤匹配试验对应的降解液吸光度(2.779、1.798和1.464)均有提高。经单因素试验确定的绿孢链霉菌降解GSLH的最佳条件是绿孢链霉菌降解GZTH、GHYH和GHYH的较优工艺条件,该工艺条件具有一定的普适性。

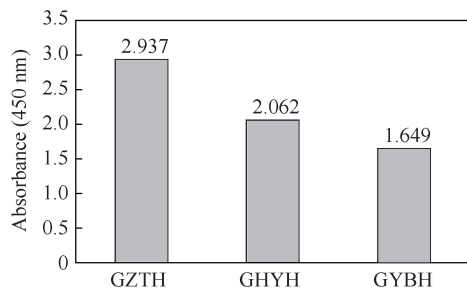


图7 3种光氧化褐煤的降解液450 nm吸光度值

Fig.7 Absorbance at 450 nm of degradation liquid of three photooxidized lignites

4) 振荡频率

图6为培养箱振荡频率对绿孢链霉菌降解光氧化内蒙胜利褐煤降解液吸光度的影响,可见,随着振荡频率增大, A_{450} 值先增大后减小,最大值2.624出现在转速160 r/min。这可能是因为随着振荡频率增大,培养基的气液界面交替更频繁,使培养基中溶解的氧相对较多,有利于绿孢菌的生长繁衍,绿孢菌可分泌出较多的活性物质,有利于煤的降解;此外,振荡频率越大,降解煤活性物质与煤中的活性作用点接触更充分。振荡频率过大时,虽有利于氧气的溶解及降解煤活性物质与煤中活性点的充分接触,但剧烈的振荡可能导致绿孢菌生长的不适应,从而使得绿孢菌产生降解煤活性物的能力降低,降解效果变差。因此,培养箱振荡频率确定为160 r/min。

2.3 3种褐煤的降解效果

图7为在单因素确定的最佳工艺条件下,绿孢链霉菌对GZTH、GHYH和GYBH降解试验结果。

3 结论

1) 菌-煤匹配试验筛选出的降解光氧化褐煤的优势放线菌菌株为绿孢链霉菌。

2) 经单因素试验确定的绿孢链霉菌降解光氧化内蒙胜利褐煤的最佳工艺条件为:20 mL培养基的加煤量和接种量分别为0.2 g和3.0 mL,降解时间为10 d,培养箱振荡频率为160 r/min,煤样粒度为0.150~0.075 mm,降解温度为28 ℃。

3) 按照单因素确定的最佳工艺条件,利用绿孢链霉菌对光氧化云南昭通褐煤、光氧化山西浑源褐煤和光氧化内蒙元宝山褐煤进行降解试验,结果表明降解效果均有一定程度的提升,可见该条件是这3种光氧化褐煤的较优降解条件。

参考文献 (References):

- [1] BASARAN Y, DENIZLI A, SAKINTUNA B, et al. Bioliquefaction/solubilization of low-rank Turkish lignites and characterization of

- the products[J].*Energy and Fuels*,2003,17:1068-1074.
- [2] 尹苏东,陶秀祥.微生物溶煤研究进展[J].*洁净煤技术*,2005,11(4):34-38.
YIN Sudong,TAO Xiuxiang.Bio-solubilization of coals[J].*Clean Coal Technology*,2005,11(4):34-38.
- [3] SEKHOHOLA L M,IGBINIGIEE E,COWAN A K.Biological degradation and solubilisation of coal[J].*Biodegradation*,2012,26:1-14.
- [4] FAISON B D,WOODWARD C A,BEAN R M.Microbial solubilization of a preoxidized subbituminous coal:Product characterization[J].*Applied Biochemistry and Biotechnology*,1990,24(2):831-841.
- [5] IRENA Romanowska,BARTOSZ Strzelecki,STANISŁAW Bielecki.Biosolubilization of Polish brown coal by *Hydronia alkanivorans* S7 and *Bacillus mycoides* NS1020[J].*Fuel Processing Technology*,2015,131:430-436.
- [6] FAKOUSSA R M.Kohle als substrat für mikroorganismen:Untersuchungen zur mikrobiellen umsetzung native steinkohle[D].Bonn:Universität Bonn,1981.
- [7] COHEN M S,GABRIELE P D.Degradation of coal by the fungi *Polyporus versicolor* and *Poria monticola* [J].*Applied Environment Microbiology*,1982,44:23-27.
- [8] 李建涛,刘向荣,皮淑颖,等.煤的微生物转化研究进展[J].*西安科技大学学报*,2017,37(1):106-120.
LI Jiantao,LIU Xiangrong,PI Shuying,et al.Research and development of coal bioconversion[J].*Journal of Xi'an University of Science and Technology*,2017,37(1):106-120.
- [9] GOKCAY C F,KOLANKAYA N,DILEK F B.Microbial solubilization of lignites[J].*Fuel*,2001,80:1421-1433.
- [10] DAVID Y,BAYLON M G,PAMIDIMARRI S D V N,et al. Screening of microorganisms able to degrade low-rank coal in aerobic conditions: Potential coal biosolubilization mediators from coal to biochemicals[J].*Biotechnology and Bioprocess Engineering*,2017,22:178-185.
- [11] 袁红莉,陈文新,木村真人.褐煤风化过程中微生物群落的演替[J].*微生物学报*,1998,38(6):411-416.
YUAN Hongli,CHEN Wenxin,MAKOTO Kimura.Microbial succession on lignite along with weathering[J].*Acta Microbiologica Sinica*,1998,38(6):411-416.
- [12] 李建涛,刘向荣,蔡会武,等.实验室用旋转床光化学反应器:ZL201621380305.0[P].2017-06-20.
LI Jiantao,LIU Xiangrong,CAI Huiwu,et al.Rotating bed photochemical reactor for laboratory use:ZL201621380305.0 [P].2017-06-20.
- [13] HÖLKER U,MÖNKEMANN H,HÖFER M.A system to analyze the complex physiological states of coal solubilizing fungi[J].*Fuel Processing Technology*,1997,52:65-71.
- [14] GOKCAY C F,KOLANKAYA N,DILEK F B.Microbial solubilization of lignites[J].*Fuel*,2001,80:1421-1433.
- [15] DAVID Y,BAYLON M G,PAMIDIMARRI S D V N,et al. Screening of microorganisms able to degrade low-rank coal in aerobic conditions: Potential coal biosolubilization mediators from coal to biochemicals[J].*Biotechnology and Bioprocess Engineering*,2017,22:178-185.
- [16] SHIN H J,LEE H H,YANG J W.Quantitative assay of biosolubilized coal by UV - spectrophotometry [J].*Biotechnology Techniques*,1995,9(5):329-332.
- [17] SHI Kaiyi,YIN Sudong,TAO Xiuxiang,et al.Quantitative measurement of coal bio-solubilization by ultraviolet-visible spectroscopy[J].*Energy Sources*,2013,35(15):639-645.