

云芝对光氧化预处理神府煤的生物转化

王永娟¹, 李 慧², 张亚婷¹, 汪广恒¹, 周安宁¹

(1. 西安科技大学 化学与化工系, 陕西 西安 710054; 2. 煤炭科学研究总院 西安分院, 陕西 西安 710054)

摘 要: 用云芝对光氧化预处理的神府煤进行了微生物转化研究. 结果表明: 光氧化预处理神府煤的生物转化反应性有了较大提高. 与原煤生物转化率相比, 光氧化处理的煤的生物转化率提高了54.5%. 生物转化后, 残煤中的甲基、亚甲基等脂肪族官能团减少, 芳香结构单元的取代度变化较小, 表明云芝在煤的生物转化过程中, 主要氧化分解煤大分子中的烷基侧链. 光氨氧化处理更有利于提高煤生物转化液相产物的形成.

关键词: 云芝; 光氧化预处理; 煤; 生物转化

中图分类号: TQ536

文献标识码: A

Bioconversion of photo-oxidation pretreated Shenfu coal by *T. versicolor*

WANG Yong-juan¹, LI Hui², ZHANG Ya-ting¹, WANG Guang-heng¹, ZHOU An-ning¹

(1. Department of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, China; 2. Xi'an Branch, China Coal Research Institute, Xi'an 710054, China)

Abstract: The bioconversion of photo-oxidation pretreatment Shenfu coal by *T. versicolor* was studied. The results show that the photo-oxidation treatment is effective to improve the bioconversion reactivity of Shenfu coal by *T. versicolor*. Compared with Shenfu raw coal, the conversion ratio of photo-oxidized Shenfu coal by *T. versicolor* increase by 54.5%. After bioconversion, aliphatic groups like methyl and methylene decrease, and the substitution degree of aromatic rings in residual coal changes insignificantly. Alkyl side chains in coal macromolecules are broken down by *T. versicolor* during the process of bioconversion. Furthermore, the pretreatment of Shenfu coal by ultraviolet light with O₂/NH₃ facilitates the liquid products formation, comparing with that pretreated by ultraviolet light with pure O₂.

Key words: *T. versicolor*; photo-oxidation pretreatment; coal; bioconversion

20世纪80年代, Fakoussa^[1]发现烟煤可作为微生物(假单胞菌)生长的惟一碳源和能源实现煤的微生物转化,从而开创了微生物溶煤的这一新方法. 由于微生物溶煤具有条件温和、污染小等特点,引起了研究者的广泛关注^[2-3],国内安徽理工大学的王龙贵^[4]和中国矿业大学的陶秀祥等^[5]都致力于煤的微生物转化的研究,并取得了显著的成果. 由于微生物溶煤不仅与菌种选育或驯化有关,还与煤的变质程度、预处理方法及程度等因素有关. 煤的变质程度越低、生物转化效率越高,并且发现,经氧化处理的煤有较高的生物转化活性. 目前,常用的氧化预处理方法有硝酸或过氧化氢液相氧化法、空气或氧气气相氧化法等. 这些氧化预处理方法不同程度存在反应过程不易控制、过度氧化、产率低、环境污染严重等问题,对于以制备精细化学品为目的的煤生物转化而言,有必要探讨更为简捷有效的预处理方法. 光催化氧化具有反应条件温和、过程易控制、产物选择性强、原料损失少等特点,因此,该方法在有机合成等方面已得到

广泛应用^[6]. 同时, 杨志远等用该方法进行了煤氧化降解研究^[7], 与热氧化相比, 光催化氧化可以使煤更有效地转化为腐殖酸, 气相产物明显减少. 本文以神府煤为研究煤样, 选取目前转化效果较好的菌种云芝^[8]为转化菌种, 研究光催化氧化预处理对神府煤生物转化活性和产物组成的影响.

1 实验部分

1.1 煤样及光氧化预处理

实验所用煤样采自府谷县新民镇的大高粱煤矿. 首先将煤样预粉碎, 然后在南京大学仪器厂生产的 QM-SB 型球磨机 (球料比 10:1) 上球磨 1 h, 得到粒度 $D_{90} < 11 \mu\text{m}$ 的试验煤样. 将试验煤样经 95% 酒精灭菌后, 于 105 °C 真空干燥 2 h 后备用.

在自制的光氧化装置上 (图 1), 将真空干燥好的神府超细煤样 (YM) 于 60 °C, 氧气流量 30 mL/min, 紫外灯管功率 160 W 的条件下氧化处理 26 h. 光催化氧化结束后, 将光氧化煤样 (GYM) 保存在样品瓶中备用. 氧气及氨气混合气氛 (氧气流量为 30 mL/min, 氨气流量为 15 mL/min) 下的光氧化实验方法与单纯氧气氛下的实验方法和氧化条件相同. 反应结束后, 将氧气氨气氧化煤样 (GAM) 密封避光保存在样品瓶中备用.

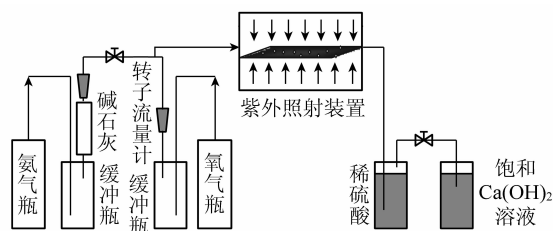


图 1 光氧化反应装置

Fig. 1 Photo oxidative reaction system

1.2 菌种及培养基

实验所用菌种为云芝 (*T. versicolor*), 购自中科院微生物研究所. 菌种生长及保存采用综合马铃薯培养基, 生物转化实验采用的是改良的 Krik 培养基.

综合马铃薯培养基的组成 (1 L): 马铃薯 (200 g); 葡萄糖 (20 g); KH_2PO_4 (3 g); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.5 g); VB_1 (微量); 琼脂 (15 g), pH 值调至 6.0.

改良的 Krik 培养基的组成 (1 L): KH_2PO_4 (0.2 g); VB_1 (微量); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g); 酒石酸铵 (1.2 mmol); 葡萄糖 (10.0 g); 乙酸钠 (20 mmol); 吐温 80 (1.0 g), pH 值调至 4.5.

1.3 生物转化试验

煤样的生物转化试验是在 250 mL 锥形瓶中加入 50 mL 液体改良的 Krik 培养基和 1.000 g 已处理过的煤粉后, 放入温度为 28 °C 转速为 150 r/min 的电热恒温摇床中进行微生物转化 20 d 后取出, 在高速离心机上于 3 000 r/min 下离心分离, 所得残煤在 80 °C 下干燥至恒重, 放在干燥器中备用. 研究煤样的生物转化率为

$$\eta = \frac{W_0 - (W_2 - W_1)}{W_0} \times 100\%,$$

式中, η 为煤的生物转化率, %; W_0 为每瓶的加煤量, g; W_2 为生物转化后每瓶过滤所得的残煤和菌丝体净重, g; W_1 为空白菌丝体净重, g.

1.4 腐殖酸产率的测定

根据 GB/T11957-2001 规定, 运用容量法对煤中的腐殖酸总产率进行测定.

1.5 生物转化残煤的组成与结构表征及水溶性产物的分析

残煤的元素分析在德国艾乐曼分析系统公司生产的 VarioEL-III CHNOS 型元素分析仪上进行, 分析炉温为 900 °C (燃烧管) 和 500 °C (还原管). 样品量为 2.000 0 ~ 3.000 0 mg. 残煤的 FTIR 分析在美国 Nicilett 公司生产的 Nexus870 型傅里叶变换红外光谱仪上进行, 采用 KBr 压片法, 扫描范围为 400 ~ 4 000 cm^{-1} , 分辨率为 4 cm^{-1} , 重复扫描 32 次. 残液的紫外分析在北京普析通用仪器有限公司生产的 TU-1900 型双光束紫外可见分光光度计上进行, 波长范围为 190 ~ 400 nm, 分辨率为 0.1 nm.

2 结果与讨论

2.1 光催化氧化预处理对神府煤生物转化活性的影响

从表 1 可以看出, 云芝 (*T. versicolor*) 对光氧化煤 (TBGYM) 的转化率为 23.13%, 光氧化氨化煤 (TBGAM) 的转化率为 23.64%, 与原煤生物转化率 (TBYM) 相比, 光氧化处理的煤的生物转化率提高了 54.5%, GAM 比 GYM 更有利于煤的转化, 这主要归因于 GAM 中 N 含量增加, 从而增加了微生物所需的氮源.

腐植酸是煤大分子氧化的中间产物之一. 由表 2 可知, 光氧化预处理可以提高神府煤的腐植酸产率 (H_A), GYM 进一步经云芝生物氧化后, 其 H_A 有了较大幅度提高, 几乎是 YMHA 的 9 ~ 10 倍, 而且也是 TBYM 的 H_A 的近 2 倍. 同时还可发现, 光催化氧化过程中, 有氨气存在不仅可以提高光催化氧化煤的 H_A , 而且也可促进其进一步在生物转化过程中的 H_A .

2.2 光催化氧化预处理对神府煤生物转化产物组成结构的影响

表 3 是 YM, GYM, GAM 及其生物转化固相产物的元素分析结果. 由表 3 可知, 生物转化后, 煤中氧元素含量都明显升高, 氢元素含量有所提高, 碳元素含量降低, 说明煤大分子发生氧化作用, 分子量降低, 活性官能团增加. 与未处理原煤相比, 光氧化预处理后, 煤样经云芝转化后固相产物中氢和氧元素的含量增加幅度较大.

图 2 为研究煤样经云芝生物转化后固相产物的红外图谱. 为了进一步定量地比较生物转化前后煤结构的变化, 采用文献 [9] 的方法, 对红外光谱进行了归一化和分峰处理, 并通过峰面积

的变化对各个峰强度进行了比较: 与 TBYM 相比, TBGYM 和 TBGAM 甲基、亚甲基等脂肪族单元减少, 而醚键结构单元明显增加, 芳香结构取代基吸收峰变化较小, 说明云芝在煤的生物转化过程中主要是氧化煤中的烷基侧链. 由此可知, 光催化氧化预处理提高了菌种对煤的亲合性, 如果烷基侧链被完全氧化则不利于进一步生物转化. 因此, 有必要探讨煤光催化氧化预处理的选择性, 使之更有利于氧化部分芳环, 使缩合度较高的芳环被氧化. 同时, 有必要进一步提高菌种对煤中交联键的选择性分解.

图 3 是煤样经云芝生物转化后液相产物 (水溶性产物) 稀释 5 倍的紫外吸收光谱图. 可以看出, 不同研究样品经生物转化后液相产物的紫外吸收光谱特征非常相似. 所有样品在接近 210 nm 左右处均有明显的吸收峰, 可归因于芳含氧官能团取代的芳烃. 苯环一般在 204 nm 处有特征吸收峰, 当连有含氧官能团时, 发生 $n \rightarrow \pi$ 共轭使 E_2 吸收带向长波长方向移动. 光氧化和光氨氧化处理有助于提高生物转化液相产物的形成, 并且以光氨氧化处理效果最为明显, 该液相产物不仅在 210 nm 左右有最强吸收, 而且在 260 nm 左右也有吸收, 这说明液体产物里可能为芳香类含羰基官能团的化合物^[10]. 关于液相产物的组成

表 1 光催化氧化预处理对云芝菌种作用下神府煤的生物转化率的影响

Table 1 Effect of photo-oxidation pretreatment on bioconversion rate of Shenfu coal by *T. versicolor*

光氧化处理气氛	生物转化率/%	生物转化产物样品
	14.97	TBYM
O ₂	23.13	TBGYM
O ₂ + NH ₃	23.64	TBGAM

表 2 光催化氧化预处理对固相产物中腐植酸含量的影响

Table 2 Effect of photo-oxidation pretreatment on the humic acid content of solid products

样 品	H_A /%	样 品	H_A /%
YM	1.66	TBYM	11.09
GYM	3.78	TBGYM	19.06
GAM	4.04	TBGAM	20.18

表 3 光催化氧化预处理对转化产物元素组成的影响

Table 3 Effect of photo-oxidation pretreatment on elemental composition of products

样 品	转化方法	N _d	C _d	S _d	H _d	O _d
YM		1.412	79.45	0.248	4.921	13.97
GYM	O ₂	1.454	74.94	0.238	4.690	18.68
GAM	O ₂ + NH ₃	2.685	75.40	0.318	5.048	16.54
TBYM	<i>T. versicolor</i>	1.368	77.23	0.225	5.129	16.05
TBGYM	20 d, 28 °C	1.377	70.55	0.243	5.382	22.44
TBGAM		2.767	73.97	0.282	5.313	17.66

结构还需要进一步研究。

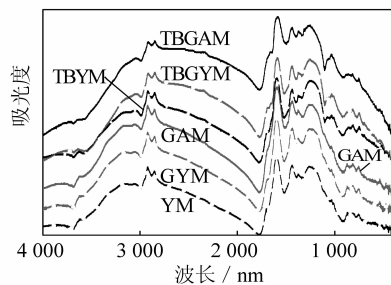


图 2 云芝生物转化固相产物的红外图谱

Fig. 2 FTIR spectra for solid products *T. versicolor*

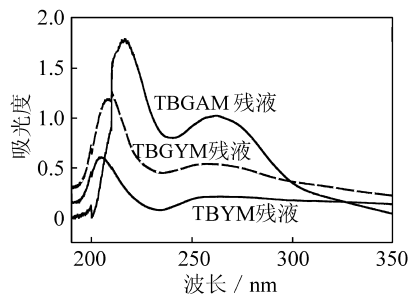


图 3 生物转化残液的紫外吸收光谱

Fig. 3 UV-Vis adsorption of bioconversion residual liquids

3 结 论

(1) 光催化氧气氧化和光催化氨-氧气氧化预处理,可进一步促进神府煤的生物转化.光催化氨-氧气氧化预处理对神府煤的生物转化的促进作用优于光催化氧气氧化预处理.

(2) 光催化氧化预处理使神府煤生物转化固相产物中氧元素含量和腐植酸产率明显提高,生物氧化主要发生在煤大分子的脂肪官能团上.光催化氧化的气氛对液相产物含量和组成有明显影响,氨和氧混合气氛条件的光催化氧化有利于液相产物的生成.

参考文献:

- [1] Fakoussa R M, Kohle als Substratfür. Mikroorganismen: untersuchungen zur mikrobiellen umsetzung nativer stein-kohle [D]. Germany: Universitat Bonn, 1981.
- [2] Catcheside D E A, Ralph J P. Biological processing of coal [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52 (1): 16-24.
- [3] Hofricheher M, Ziegenhagen D, Sorge S. Degradation of lignite (low rank coal) by ligninolytic basidiomycetes and their manganese peroxidase system [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52 (1): 78-84.
- [4] 王龙贵, 张明旭, 欧泽深, 等. 白腐真菌对煤炭的降解转化试验 [J]. 煤炭学报, 2006, 31 (2): 241-244.
Wang Longgui, Zhang Mingxu, Ou Zeshen, et al. Experimental of coal biodegradation by white rot fungus [J]. Journal of China Coal Society, 2006, 31 (2): 241-244.
- [5] 尹苏东, 陶秀祥, 马 强, 等. 褐煤溶解菌的筛选及溶煤初步研究 [J]. 煤炭转化, 2006, 29 (3): 13-16.
Yin Sudong, Tao Xiuxiang, Ma Qiang, et al. Isolation of microorganisms solubilizing of lignite and characterization of bio-solubilization [J]. Coal Conversion, 2006, 29 (3): 13-16.
- [6] Fuchtenbusch B, Steinbüchel A. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoates from low-rank coal liquefaction products by pseudomonas oleovorans and rhodococcus ruber [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52: 91-95.
- [7] 杨志远, 周安宁. 神府煤光催化氧化降解过程的 FTIR 研究 [J]. 煤炭学报, 2005, 30 (6): 759-763.
Yang Zhiyuan, Zhou Anning. Study on catalytic photo-oxidation degradation of Shenfu coal by FTIR [J]. Journal of China Coal Society, 2005, 30 (6): 759-763.
- [8] Ralph J P, Catcheside D E A. Transformations of low rank coal by phanerochaete chrysosporium and other wood-rot fungi [J]. Fuel Processing Technology, 1997, 52 (1-3): 79-93.
- [9] Ibarra J V, Muñoz E, Moliner R. FTIR study of the evolution of coal structure during the coalification process [J]. Organic Geochemistry, 1996, 24 (6/7): 725-735.
- [10] 孔垂华, 徐效华. 有机物的分离和结构鉴定 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
Kong Chuihua, Xu Xiaohua. Separation and structure identification of organic compounds [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.