

褐煤生物转化高效菌株的研究及其发展前景

刘莹,赵杰,魏丹,吴琼,王飞

(辽宁工程技术大学理学院,辽宁阜新123000)

摘要:主要从褐煤的特点及其微生物可降解性、降解褐煤的微生物菌种的选择、筛选和开发等方面进行归纳总结,对褐煤微生物转化高效菌株的研究现状及其进展进行了综述,指出寻找并开发转化褐煤的高效菌株是今后褐煤生物转化技术的重要研究方向。

关键词:褐煤;生物转化;菌种诱变

中图分类号:TQ53

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)12-0157-03

我国拥有丰富的煤炭资源,特别是风化煤、褐煤等低阶煤炭资源。现在已探明的褐煤储量高达1 303 亿 t,大约占我国煤炭资源总储量的12.7%^[1]。褐煤具有化学活性好、发热量低、高灰分、高热量等诸多特点,并且直接燃烧热效率低,工业利用价值低。因此,寻找一种能够高效降解褐煤的全新途径显得特别重要。1981年,Rene Fakouss^[2]发现一些细菌能溶解部分煤生产了有色溶液,并预见利用微生物转化煤炭的生物技术应用前景。1982年,美国的Cohen和Gabriele^[3]发现白腐菌和褐腐菌能使风化的褐煤颗粒形成黑色小液滴。之后各国研究人员对煤的微生物转化技术产生了极大的研究兴趣。煤的生物转化技术以其反应条件温和、能耗低、对环境无污染的优势,满足了当今工业发展的客观要求。但是在随后的30年里,褐煤微生物转化方面的研究主要集中在优势菌种的选择和筛选上,在褐煤生物转化高效菌株的开发上还不太成熟。

1 褐煤的特点及生物转化

煤是一种缩合芳香体系,其核心是由一些氢化芳环、脂环、杂环和芳环组成的,周围带有官能团和侧链,这些结构构成煤的基本结构单元。基本结构单元之间相互桥连,在二维方向构成一个平面网状结构。又利用共价键、氢键缔合、偶极作用力及范德华力,使网状结构相互叠置,在三维空间中伸展扩大。褐煤主要具备以下特点:煤化程度比较低;芳香环缩合度比较小;侧链、桥键、官能

团和低分子化合物比较多;结构无方向性;比表面积和孔隙率比较大;水分和灰分含量高,热值低,直接利用较困难。褐煤的这些特点都为褐煤的微生物转化提供了条件。

褐煤的生物转化是一种大分子的氧化解聚作用,是指褐煤在降解酶或降解微生物参与下发生的作用。氧化程度和煤化程度是决定煤生物溶解程度和溶解速率的主要因素。研究表明,低阶煤比高阶煤更容易被微生物降解。这是因为煤炭变质程度越大,煤中芳香碳含量也越多,孔隙度减少、含氧官能团的相对数量及总氧含量也减少,所以不容易被微生物降解。

植物经过漫长的时间就会演化为煤,而植物的细胞壁中多含有木质素,因此类木质素结构在一定程度上也存在于煤中。经过研究,煤的煤化程度越低,类木质素结构的含量就会越多。这都是一些能够降解木质素的微生物也能成功地降解褐煤的主要原因。再加上褐煤分子中的桥键和侧链比较多,活性官能团含量也比较高,容易被微生物作用,这也在一定程度上提高了褐煤的微生物可降解性。经多年的探索研究,细菌、放线菌和真菌中的一些种属已被证实能不同程度降解褐煤。

2 高效溶煤菌株的研究

在褐煤的微生物降解过程中,微生物与煤样的作用需要一定的匹配关系。例如:菌种a可能只能降解某一种煤样或仅对这一种煤样作用显著而不能降解其它的煤样或对其它煤样的降解作用不显著。因此,降解不同煤种的微生物的选择和筛选就显得非常重要。种类多、储量大是我国煤炭的特点,这种特点对菌种和煤样的匹配工作具有重要的实际意义。

收稿日期:2011-09-08

第一作者简介:刘莹(1970-),男,辽宁省阜新市人,硕士,副教授,从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:liuyingfx02@126.com。

2.1 高效溶煤菌株的选择

能溶解褐煤的微生物包括细菌、真菌、放线菌等。但总的来说,多数属于真菌类。对煤有降解作用的微生物是根据它们能分泌一些具有攻击煤中的有机化合物中某些结构、成分等作用的代谢产物(如分泌的酶、螯合剂等)而从现有的各种微生物中筛选出来的。转化煤的菌种选择方法有 2 种:

2.1.1 从已知的煤转化菌种中选择优良的菌种

煤是远古植物矿化来的,具有类木质素结构,所以能降解木质素的微生物都可以用来进行微生物溶煤的研究。如黄孢原毛平革菌和白腐真菌的溶煤研究已取得较好的效果。煤具有芳环结构,所以假单胞菌属等能降解芳环的细菌也可以进行溶煤研究^[4]。

2.1.2 从环境中筛选 长期暴露于自然界中的煤表面上有大量的微生物,从中可以分离出适合的菌种。武丽敏^[5]在进行褐煤微生物综合肥料的研究中,在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。

2.2 高效溶煤菌株的分离

菌种的富集、分离和纯化选用 3 种鉴别培养基 A、B 和 C^[6]。A 为真菌鉴别培养基、B 为放线菌鉴别培养基、C 为细菌鉴别培养基。

用 A、B、C 3 种鉴别培养基将真菌、放线菌和细菌进行初步分离,将初步分离的菌种用涂布法和划线接种法进行进一步分离和纯化。涂布法的原理是在已凝固的培养基平板上移入一定浓度、一定量的待分离菌液,再用涂布棒快速地将其均匀涂布,直到长出单菌落而达到分离的目的。但这种方法接种前需梯度稀释,吸收量较少,较麻烦,平板不干燥效果不好,容易蔓延。最常用的菌株纯化方法是划线接种,含菌样品经多次划线逐步被稀释,最后一个个被分离,单独存在的细胞就会呈现在接种环划过的线上,经过培养后形成菌落。实验过程中反复划线直至菌种得到纯化。

2.3 高效溶煤菌株的筛选

溶煤菌株的筛选主要分为 2 次,第 1 次筛选出的菌种是以褐煤为唯一“生长碳源”,第 2 次筛选是在前一次筛选所得菌种的基础上,筛选出能够高效降解褐煤的菌种。

第 1 次菌种筛选:将分离出的菌种接种到筛选培养基上,对对照样是用不加褐煤粉的筛选培养

基培养菌种,将实验样与对照样在一定条件下培养一段时间。筛选出菌落生长直径大于对照样的菌种,从而排除能以琼脂为碳源的菌种,得到只能利用褐煤为碳源的菌种。

第 2 次菌种筛选:将第 1 次筛选得到的菌种接种到溶煤培养基上,等到培养基表面长满菌种后,将适量预先处理好的褐煤平撒到培养基上,在一定条件下培养一段时间,观察各菌株对褐煤的降解效果,从中挑选出能够高效降解褐煤的菌株。

但是目前在菌种的筛选方面还没找到效果特好、适应性广泛的菌种。并且转化前要对煤种进行硝酸或光氧化预处理,转化过程中还需在培养基中加入一些营养物,这两者大大增加了溶煤的成本,使此技术仅停留在实验室研究阶段。

2.4 新高效溶煤菌株的开发

研究者对自然菌株进行了诱变育种的研究,以便使溶煤菌种能更好地降解、转化褐煤。对溶煤菌种进行诱变育种,可通过改变诱变剂量,从而筛选出基因突变的高效煤炭生物转化菌株。对于用紫外诱变方式处理菌种,试验中可以采用改变紫外灯强度、照射距离和紫外线照射时间三者中的一者,固定剩下的两个条件,实现诱变剂量的选择,从而扩大变异菌株选择区间。然后将诱变得到的不同突变菌株进行传代培养,继续观察其对煤炭的转化效果。除了紫外诱变,还可以运用基因工程、化学诱变等多种方法,将获得的新菌种与原菌种进行比较,获取更高效的溶煤菌,增加溶煤效率。此外,褐煤的生物转化是生物体分泌的多种物质对煤结构协同作用的结果,还可以采取混合菌种的方式进行溶煤试验,选取优势菌种,以达到高效溶煤的目的。

3 微生物转化技术的研究难点及发展方向

煤的生物转化技术涉及到煤化学、微生物学、基因工程、分子生物学等很多领域。国外在煤的生物转化技术方面已进行了大量的研究,并获得了很大进展。我国煤的生物转化技术研究工作进展比较缓慢,虽然也取得了一定的成果,但是研究中的技术难题也较多。首先是转化前用硝酸或光氧化进行预处理。这种处理不仅在煤中引入了硝基,使得煤燃烧时放出额外的含氮氧化物,造成环境污染,而且也大大增加了降解成本;其次,微生

物对褐煤的降解效率还不是特别高,尽管也有煤降解率高达 95%^[7]以上的报道,但都存在着煤样需硝酸或光氧化预处理、使用昂贵培养基培养等成本问题,距离工业化生产还很遥远。另外,菌种对煤样有适应性,对某种煤种转化能力具有一定的专一性。在这样的情况下,要做进一步的研究,通过从环境中筛选菌种、采用质粒育种、诱变育种、基因工程等手段来改造菌种的途径来获得转化效率高、适应性好的优势菌株,使之能高效降解转化褐煤成为更易被人类利用的物质。并且,转化过程中还有望生产出能用作化肥和吸附剂的一系列低分子量的、无污染的中间产物,这也为农业研究提供了一种新的思路。

4 结论

目前,我国尚未找到效果非常显著且适应广泛的廉价的降解褐煤的菌种。另外,对诱变育种这方面的研究不够深入,在菌株的选育手段和方法上还需继续探索,在寻找新菌种、菌种的分离纯化以及驯化、诱变育种方面,尤其在利用基因工程技术制备高效工程菌方面,应加大研究力度。这

对具有丰富煤炭资源的我国具有重大的现实意义。并且,转化过程中还有望生产出能用作化肥和吸附剂的一系列低分子量的、无污染的中间产物,为农业研究提供了一种新的思路。

参考文献:

- [1] 戴和武,谢可玉. 褐煤利用技术[M]. 北京:煤炭工业出版社,1999.
- [2] Fakoussa R M. Coal as a substrate for microorganism: Investigation with microbial conversion of national coal[D]. Bonn: Friedrich Wilhelms University, 1981.
- [3] Cohen M S, Gabriele P D. Degradation of coal by the fungi polyporous versicol or/and poria placenta[J]. Applied and Environmental Microbial, 1982, 44(1): 23-27.
- [4] 柳丽芬,阳卫军,成莹. 鹤岗风化煤的微生物降解研究[J]. 大连理工大学学报, 1996, 36(4): 434-438.
- [5] 武丽敏. 微生物降解褐煤的研究[J]. 煤炭加工与综合利用, 1995(1): 26-28.
- [6] 王永娟. 神府煤生物转化高效菌株的优选研究[J]. 陕西:西安科技大学, 2008.
- [7] P Ralph·D E A. Catcheside Influence of culture parameters on extracellular peroxidase activity and transformation of low-rank coal by Phanerochaete chrysosporium[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1998, 49: 438-444.

Study on High Efficient Strains for Lignite Coal Bioconversion and Its Development Prospect

LIU Ying, ZHAO Jie, WEI Dan, WU Qiong, WANG Fei

(Science College of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000)

Abstract: The paper mainly introduced the characteristics of the lignite coal and its biological degradability, including the way to select, to filtrate, to separate and to exploit the bacteria which could break down the lignite coal. In the paper, the research and development on the microbial conversion for lignite coal were also introduced. The paper also pointed out that the development direction of the microbial conversion for lignite coal in the future was searching and developing the bacteria which could break down the lignite coal efficiently.

Key words: lignite coal; bioconversion; culture mutagenesis

园林植物的遗传改良

鲍平秋 著 978-7-03-032307-1 定价: 65.00 装帧: 平装 开本: B5 分类: 生物学

内容简介: 该书是月季、菊花等北京市市花, 以及四季秋海棠、草坪草等常用园林植物遗传改良和新品种培育方面的专著。全书共分 6 章, 包括月季、菊花、秋海棠、草坪草、立体绿化植物、水体绿化与修复植物的遗传改良等内容。该书较为全面地阐述园林植物遗传改良技术方面的基本理论和技术实践, 包含诸多编者多年来的研究成果和经验总结。

该书既适用于从事园林植物遗传改良技术研究的广大科研人员和教学工作者, 又可作为园林、园艺及相关学科专业的本科生、研究生相关教材的参考书, 也适用于从事园林植物生产的公司和个人。

获取更多图书信息请您关注 <http://books.lifescience.com.cn/> 欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

联系人: 科学出版社科学销售中心 周文宇

电话: 010-64017301 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn/> 或卓越网、当当网

联系电话: 010-64012501 E-mail: lifescience@mail.sciencep.com

更多精彩图书请登陆网站, 欢迎致电索要书目