

褐煤生物转化产腐植酸复合菌剂的构建

葛云¹ 厉玲² 程娟² 衡曦彤² 程瑜¹ 周志林³ 何环^{2*}

1 江苏省海洋地质调查院, 自然资源部滨海盐碱地生态改良与可持续利用工程技术创新中心
南京 210007

2 中国矿业大学化工学院, 煤炭加工与清洁利用教育部重点实验室 徐州 221116

3 江苏徐淮地区徐州农业科学研究所 徐州 221131

摘要: 以新疆褐煤为研究对象, 筛选对其有转化效果的菌株并构建复合微生物菌剂。通过对 13 株菌株进行固体培养基溶煤试验以及液体培养基产腐植酸试验, 初步确定白腐真菌 AH、微紫青霉菌 H3、里氏木霉、米曲霉、苏云金芽孢杆菌 Y、枯草芽孢杆菌为菌剂组合的目标菌株。通过进一步测定对应残煤的总腐植酸含量和可溶性腐植酸含量, 研究了单一微生物接种量及菌剂最优复配比例。研究结果显示, 各单一菌株最佳接种量分别为枯草芽孢杆菌 2%、苏云金芽孢杆菌 Y 1%、微紫青霉菌 H3 3%、米曲霉 1%, 复合菌剂中各菌株接种量为枯草芽孢杆菌 1.5%、苏云金芽孢杆菌 Y 1.5%、米曲霉 1%、微紫青霉 H3 2.5%。经检测, 此复合菌剂对新疆褐煤有良好的转化能力, 转化后残煤中总腐植酸含量高达 64.41%, 可溶性腐植酸含量为 33.44%。

关键词: 腐植酸; 褐煤; 煤的生物转化; 复合微生物菌剂; 微生物配伍

中图分类号: TQ314.1, TQ536

文章编号: 1671-9212(2025)01-0016-09

文献标识码: A

DOI: 10.19451/j.cnki.issn1671-9212.2025.01.003

Compound Microbial Agent Construction for Biotransformation Lignite to Produce Humic Acid

Ge Yun¹, Li Ling², Cheng Juan², Heng Xitong², Cheng Yu¹, Zhou Zhilin³, He Huan^{2*}

1 Marine Geological Survey of Jiangsu Province, Engineering Technology Innovation Center for Ecological Improvement and Sustainable Utilization of Coastal Saline-Alkali Land, Ministry of Natural Resources, Nanjing, 210007

2 Key Laboratory of Coal Processing and Efficient and Clean Utilization of Ministry of Education, School of Chemical Engineering, China University of Mining and Technology, Xuzhou, 221116

3 Xuzhou Institute of Agricultural Sciences in Xuhuai Region, Jiangsu Province, Xuzhou, 221131

Abstract: Strains with transformation effects on Xinjiang lignite were screened, and a compound microbial agent was constructed. The coal transformation tests of 13 strains in solid culture media and humic acid production tests in liquid culture media were conducted, and *Hyphocrea lixii* AH, *Penicillium janthinellum* H3, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus oryzae*, *Bacillus thuringiensis* Y and *Bacillus subtilis* were initially selected as the combination objects for the microbial agent. The inoculation amount of single microorganisms and the optimal combination ratio of the microbial agent were studied based on the total and soluble humic acid content of the corresponding residual coal. The research results showed that the optimal inoculation amounts of each strain were 2% for *Bacillus subtilis*, 1% for *Bacillus thuringiensis*

[基金项目] 2023 年度江苏省矿地融合试点项目“煤矸石资源化利用与盐碱障碍耕地质量提升矿地融合示范”(项目编号苏财资环[2023]29 号), 徐州市重点研发计划项目(项目编号 2021ZDPY0210)。

[收稿日期] 2024-12-19

[作者简介] 葛云, 女, 1984 年生, 高级工程师, 主要从事盐碱地生态改造利用、土壤修复, 土壤环境调查等方面研究, E-mail: 179169185@qq.com。* 通讯作者: 何环, 博士 / 副教授, E-mail: hehuan6819@cumt.edu.cn。



Y, 3% for *Penicillium janthinellum* H3, and 1% for *Aspergillus oryzae* respectively. In the compound microbial agent, the inoculation amounts of each strain were 1.5% for *Bacillus subtilis*, 1.5% for *Bacillus thuringiensis* Y, 1% for *Aspergillus oryzae* and 2.5% for *Penicillium janthinellum* H3. This compound microbial agent had a good transformation ability for Xinjiang lignite, and the total humic acid content in the residual coal transformed by which was 64.41% and the soluble humic acid content was 33.44%.

Key words: humic acid; lignite; coal biotransformation; compound microbial agent; microbial combination

煤的生物转化技术是指利用真菌、细菌和放线菌等微生物的转化作用实现对煤的溶解、降解、液化或气化,以获取清洁燃料、有特殊价值的化学品、工业添加剂、农牧业植物生长促进剂等,可广泛用于调节土壤性质、促进植物生长、稳定水煤浆以及作为污水处理剂等^[1, 2]。利用煤的生物转化技术产腐植酸,具有节能、环保等显著特点,受到越来越多的科研人员的关注。研究表明,能够转化煤产腐植酸的微生物种类较多,已经报道的部分微生物覆盖了放线菌、细菌和真菌。Gonsalvesh 等^[3]应用恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)对保加利亚煤样进行生物转化,产生了水溶性腐植酸。Haider 等^[4]运用金青霉 MW1 (*Penicillium chrysogenum*)对巴基斯坦褐煤进行转化,发现真菌处理释放的一些有机物可以微生物转化腐植酸。Valero 等^[5]选用从煤 E 中分离的 19 个细菌菌株对低阶煤进行溶解,结果表明这些细菌可用于转化低阶煤从而生产腐植酸。

褐煤具有煤化程度较低、芳香环缩合度较小、结构无方向性、水分和灰分含量高、热值低等特点,直接利用比较困难,并且很难进入微生物细胞内发生反应^[6]。尽管自然界中也存在单一菌种将褐煤转化成腐植酸的情况,但研究同样表明,不同微生物间的协同作用可加速褐煤生物转化产腐植酸过程。陈林勇等^[7]研究表明,雅致小克银汉霉与芽孢杆菌联合能够促进义马煤产腐植酸。曾晨等^[8]也发现,在复合菌剂转化褐煤过程中,其胞外酶活性更高。整体上来看,目前国内对于复合微生物转化褐煤产腐植酸的报道不多,对复合菌剂构建过程的研究报道也相对较少。因此,研制出对褐煤有良好转化效果的复合菌剂对拓宽煤的清洁利用途径、提高褐煤腐植酸的利用效率具有重要意义。本文选择新疆褐煤作为研究对象,旨在筛选出对褐煤具有转化效果

的菌株,并通过单因素和多因素试验,优化出菌剂的组合方式,为该地区后期煤的资源化利用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 褐煤样品的处理及菌种的培养

褐煤样品采自新疆哈密大南湖煤矿,利用小型万能破碎机对原煤进行破碎处理,用 0.25 mm 标准筛筛分煤样,收集小于 0.25 mm 粒级的煤样,放置烘箱烘干,并密封保存备用。准确称取 10 g 处理好的备用原煤样品,送至徐州地质矿产设计研究院测试中心进行工业分析、元素分析和腐植酸分析(表 1)。经分析可知,原煤中含水量大,氧含量高达 24.5%,且挥发分为 38.83%,在 30% ~ 50% 区间内,属于褐煤范畴。

试验共选用 13 株微生物,其中 3 株微生物(编号为: Y, AH 和 H3)为实验室保存,其余菌株均购自中国普通微生物菌种保藏管理中心(GCMCC)。具体菌株构成如下: 5 株细菌,分别为枯草芽孢杆菌(GCMCC 1.821)、短小芽孢杆菌(GCMCC 1.8714)、巨大芽孢杆菌(GCMCC 1.16094)、地衣芽孢杆菌(GCMCC 1.15832)、苏云金芽孢杆菌 Y (GenBank 登录号: MN337896.1),这些芽孢杆菌能合成纤维素酶等酶,被广泛用于生物菌肥; 8 株真菌,分别为哈茨木霉(GCMCC 5.1213)、里氏木霉(GCMCC 3.13241)、绿色木霉(GCMCC 3.15484)、米曲霉(GCMCC 3.13905)、黑曲霉(GCMCC 3.11529)、白腐真菌 AH (GenBank 登录号: FJ645728)和微紫青霉菌 H3 (GenBank 登录号: MN339685.1),这些霉菌能产生多种具有生物活

性的酶系，且所产纤维素酶活性较高；另有一株热带假丝酵母菌（CGMCC 2.637）。

1.2 固体培养基平板微生物溶煤试验

首先，选用 PDA 培养基培养 8 株真菌，选用 LB 培养基培养 5 株细菌，将其置于 28 ℃ 恒温培养箱中进行培养。待所培养的微生物长出菌落后，在每个平板的菌体表面均匀地撒上 0.3 g 褐煤样品，待煤粒均匀附着菌体后，将平板置于 28 ℃ 的恒温培养箱中倒置培养，以 24 h 为一个观察周期，对固体平板上微生物液化褐煤的效果进行观察。根据煤样表面是否产生黑色小液滴，初步判定出转化效果优异的菌种。

1.3 液体培养基微生物转化褐煤产腐植酸试验

为进一步筛选出优势微生物，采用液体培养基培养微生物和转化褐煤产腐植酸试验。取若干 250 mL 锥形瓶，每个锥形瓶中加入 150 mL 对应微生物适用的液体培养基；当细菌和真菌共培养时，将 LB 培养基和 PDA 培养基按照 1 : 1 比例充分混合后使用。随后，将盛有培养基的锥形瓶置于高压蒸汽灭菌锅 121 ℃ 下灭菌 20 min。待培养基冷却后，将微生物分别接种到相应的液体培养基锥形瓶中，培养 3 天后，同时向各个锥形瓶中加入 5 g 褐煤煤样，混合均匀，再将锥形瓶置于恒温摇床中振荡培养 10 天。培养结束后，首先使用普通定性滤纸进行抽滤，收集培养基中经过处理的褐煤样品；然后，将收集到的褐煤样品用无菌水悬浮，并用超声处理方法对煤样进行反复处理，处理完毕后再次抽滤，并用无菌水反复冲洗煤样品，尽量将黏附在煤颗粒表面的微生物或胞外培养物去除；最后，将煤样品干燥，按照 GB/T 34766—2017《矿物源总腐植酸含量的测定》^[9]，GB/T 35107—2017《矿物源腐植酸肥料中可溶性腐植酸含量的测定》^[10] 两种方法，对微生物处理后的残煤进行总腐植酸含量和

可溶性腐植酸含量的测定，筛选出转化褐煤产腐植酸效果优异的菌种。

1.4 微生物菌剂配伍试验

采用牛津杯法进行微生物的拮抗试验，以每一种微生物分别作为培养基内的本底菌，以此划分试验小组。每个小组设置 6 个样品对照，包括 1 个空白对照及其余 5 个微生物对照，同时设置 2 个平行试验组。在 28 ℃ 培养箱中培养 3 天后，观察牛津杯周围是否出现抑菌圈，若无抑菌圈现象则表明该微生物与其他对照微生物之间不存在拮抗作用。

1.5 接种单一菌种转化褐煤产腐植酸的单因素试验

采用血球计数板计数法对枯草芽孢杆菌、Y、H3、米曲霉 4 株菌株在对数生长期的数量分别为 4.27×10^9 个/mL、 6.63×10^9 个/mL、 1.71×10^9 个/mL、 2.46×10^9 个/mL。对单一菌株进行接种量的单因素试验，每一菌株分别设置 1%、2%、3% 3 个接种量水平。运用熵值法，将褐煤中总腐植酸含量和可溶性腐植酸含量的权重均设定为 50%，以此计算得出综合指标。

1.6 不同菌株复配比例的单因素和正交试验

根据拮抗试验结果，筛选出具有潜在协同效应的菌株组合，并对组合中单一菌株进行接种量的单因素试验。

为了进一步优化不同菌株配伍时的接种量，设计 4 株微生物复配比例的正交试验。选取枯草芽孢杆菌的接种量分别为 1.5%、2.0%、2.5%，Y 的接种量分别为 0.5%、1.0%、1.5%，米曲霉的接种量分别为 0.5%、1.0%、1.5%，H3 的接种量分别为 2.5%、3.0%、3.5%，共 4 因素 3 水平，按照 $L_9(3^4)$ 正交因素水平表设计试验（表 2）。

按照正交因素水平试验表进行 9 组样品试验。收集处理后的残煤样品，测定其腐植酸含量，并进行比较，筛选出各因素的最佳接种量水平。

表 1 工业、元素和腐植酸分析

Tab.1 Proximate, ultimate and humic acid analyses

%

煤样	工业分析				元素分析					腐植酸	
	水分 M_{ad}	灰分 A_d	挥发分 V_{daf}	固定碳 FC_d	S_{td}	O_{daf}	C_{daf}	H_{daf}	N_{daf}	总腐植酸	游离腐植酸
原煤	4.80	8.91	38.83	55.72	0.06	24.50	71.56	3.22	0.65	29.75	6.24



表 2 L₉ (3⁴) 正交因素水平表
Tab.2 L₉(3⁴) orthogonal factor level table

试验编号	枯草芽孢杆菌	Y	米曲霉	H3
1	1 (1.5%)	1 (0.5%)	1 (0.5%)	1 (2.5%)
2	1	2 (1%)	2 (1%)	2 (3%)
3	1	3 (1.5%)	3 (1.5%)	3 (3.5%)
4	2 (2%)	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3 (2.5%)	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

2 结果与讨论

2.1 微生物转化褐煤产腐植酸固体平板试验结果

首先，对 13 株菌株进行固体培养基溶煤试验。通过仔细观察培养基表面是否产生黑色液滴现象，初步判断出对褐煤有转化效果的菌株。观察到固体培养基中微生物作用煤的情况和效果，如图 1 ~ 图 3 所示。

由图 1 观察可知，5 株细菌的平板表面均较

为湿润，但未产生明显的液滴现象，可能是由于细菌本身会分泌一些黏性物质，致使煤样表面湿润。由图 2 和图 3 观察可知，8 株真菌的平板表面，部分菌丝将煤粒覆盖，其中里氏木霉和绿色木霉均产生了清晰可见的黑色液滴；由于 H3 菌丝蓬松茂密，在一定程度上阻碍了液滴的观察，但在菌丝覆盖下仍能观察到有几处产生了较小的黑色液滴；而其他真菌的平板表面干燥，液化效果表现不明显。

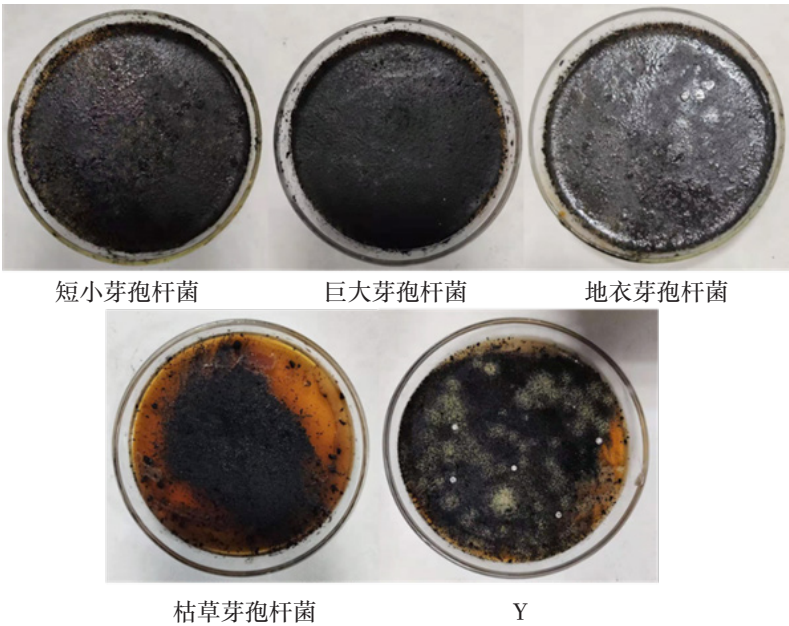


图 1 5 株细菌的平板溶煤效果图
Fig.1 Dissolution coal effects of five strains bacteria on plate

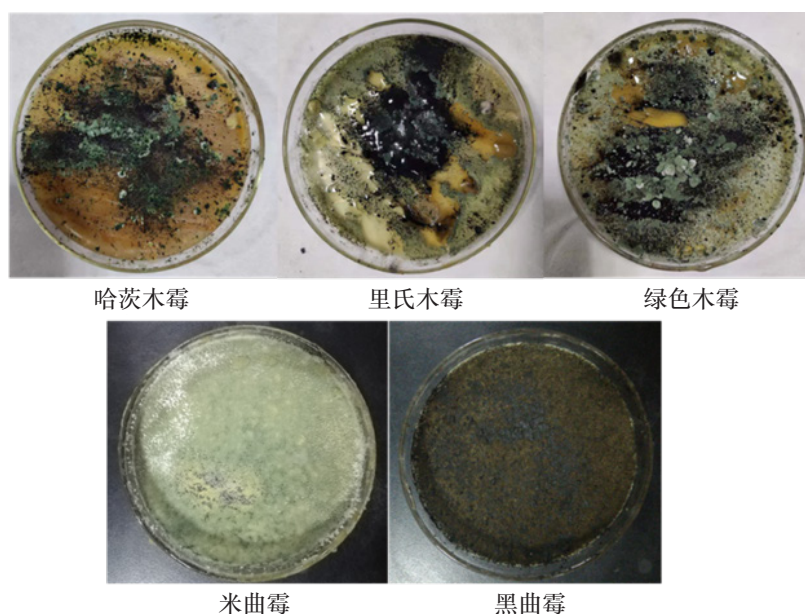


图 2 5 株真菌的平板溶煤效果图

Fig.2 Dissolution coal effects of five strains of fungi on plate



图 3 3 株实验室分离真菌的平板溶煤效果图

Fig.3 Dissolution coal effects of three strains laboratory isolated fungi on plate

早在 20 世纪 90 年代,就有学者发现在固体平板上利用真菌作用于低阶煤,可以产生黑色小液滴^[11]。通过对紫外可见光谱分析得到的液体产品进行研究,发现该产物与原煤相比有一些变化,其中腐植酸平均分子量有所降低,这可能是微生物对褐煤发生的解聚作用所致^[11]。冯晓霄^[12]通过固体培养基筛选褐煤降解菌,共获得 6 株可将褐煤颗粒转化成黑色小液滴的菌株,推测这些菌种具有转化褐煤的能力,后续通过对转化产物分析测定,证实其中部分菌株对褐煤有较好的转化能力。基于此,本研究观察到的黑色液滴现象的里氏木霉、绿色木霉、H3 等 3 株真菌,也极有可能具备转化新

疆褐煤产腐植酸的能力。

2.2 液体培养基培养微生物转化褐煤产腐植酸结果

为进一步筛选出能够较好转化褐煤产腐植酸的菌株,对 13 株微生物在液体培养基中进行转化试验。将装有样品的锥形瓶置于恒温摇床中振荡培养,培养结束后,过滤收集残煤,干燥备用。测定对应残煤的总腐植酸含量和可溶性腐植酸含量,筛选出转化褐煤产腐植酸效果优异的菌株,测定结果如表 3 所示。

由表 3 可以看出,所选用的 13 株微生物转化褐煤产腐植酸效果不同。原煤的总腐植酸含量为 29.75%,可溶性腐植酸含量为 6.24%;对比各试验



组的总腐植酸含量发现，真菌中 AH、H3、里氏木霉、米曲霉 4 株菌株转化褐煤产总腐植酸效果较好，总腐植酸含量分别为 38.39%、37.82%、35.52%、32.66%，与原煤有显著性差异，但相应的可溶性腐植酸含量无明显增加；对比各试验组可溶性腐植酸含量发现，细菌中 Y、枯草芽孢杆菌 2 株菌株产可溶性腐植酸含量较原煤有所增加，分别为 7.28%、7.27%，其中 Y 与原煤差异显著，但相应转化褐煤产总腐植酸含量均未明显增加。

通过分析不同菌株转化后的腐植酸含量变化可知，细菌和真菌在木质素降解过程中发挥着不同的作用。研究表明，真菌对木质素进行矿化作用，而细菌具有体积小、营养物质吸收面大、物质交换快等特点，利用这些特性可以切断木质素的分子链，

使其变为易降解的低分子量聚合木质素^[13]。本研究表明，真菌具有效果较好的能够降解木质素的酶系，因此相比细菌能够更好、更多地分解利用褐煤中的木质素、腐植酸等分子；而相比真菌，细菌能够利用自身体积、物质交换等优势，切断一些木质素或腐植酸分子链，降低分子量，从而更易被溶解利用。

综上所述，根据微生物转化后总腐植酸含量和可溶性腐植酸含量变化情况，选用 4 株真菌（AH、H3、里氏木霉、米曲霉）和 2 株细菌（Y、枯草芽孢杆菌）为菌剂组合的目标菌种。通过充分发挥真菌提升总腐植酸含量和细菌提升可溶性腐植酸含量方面的优势，构建能够更高效转化褐煤产腐植酸的复合微生物菌剂。

表 3 不同菌株处理的褐煤腐植酸含量
Tab.3 Humic acid content of lignite treated with different strains %

样品	总腐植酸含量	可溶性腐植酸含量
原煤	29.75 ± 0.15d	6.24 ± 0.36b
白腐真菌 AH	38.39 ± 0.12a	3.91 ± 0.36c
微紫青霉菌 H3	37.82 ± 0.42a	2.52 ± 0.28de
热带假丝酵母菌（CGMCC 2.637）	29.98 ± 0.29d	1.77 ± 0.20ef
里氏木霉（GCMCC 3.13241）	35.52 ± 0.23b	1.35 ± 0.15ef
绿色木霉（GCMCC 3.15484）	22.80 ± 0.22h	0.46 ± 0.17f
哈茨木霉（GCMCC 5.1213）	26.66 ± 0.21f	2.28 ± 0.30de
米曲霉（GCMCC 3.13905）	32.66 ± 0.24c	4.95 ± 0.30c
黑曲霉（GCMCC 3.11529）	27.93 ± 0.19e	0.45 ± 0.53f
苏云金芽孢杆菌 Y	28.16 ± 0.43e	7.28 ± 0.40a
枯草芽孢杆菌（GCMCC 1.821）	28.19 ± 0.46i	7.27 ± 0.28ab
地衣芽孢杆菌（GCMCC 1.15832）	19.06 ± 0.12j	6.37 ± 0.26ab
巨大芽孢杆菌（GCMCC 1.16094）	21.81 ± 0.16e	4.89 ± 0.32c
短小芽孢杆菌（GCMCC 1.15832）	25.30 ± 0.41g	6.19 ± 0.37ab

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ），下同。

2.3 复合微生物菌剂的构建拮抗试验和两两菌株的配伍

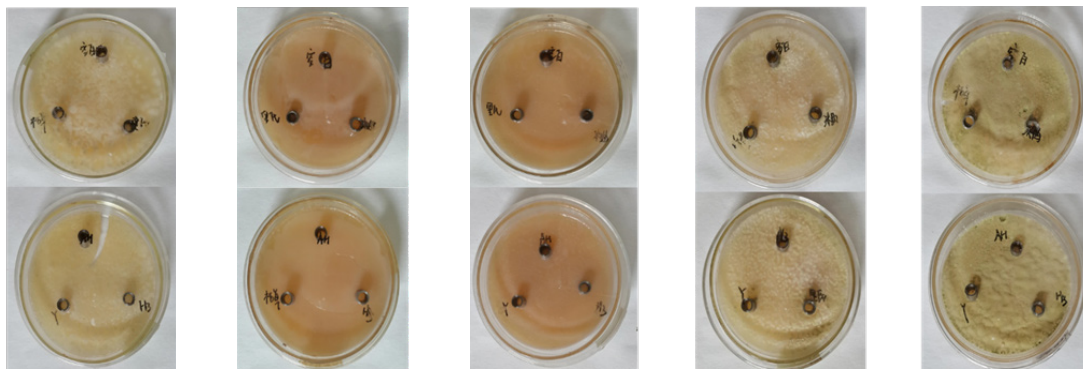
针对 AH、H3、里氏木霉、米曲霉、Y、枯草芽孢杆菌 6 株菌株，开展两两拮抗作用测试，拮抗试验部分结果如图 4 所示。从拮抗试验结果可以看

出，各菌株组合之间并没有出现抑菌圈，表明试验所用菌株两两之间不存在拮抗效应。

针对无拮抗作用的菌种，设计了不同的真菌 + 细菌组合，进行转化褐煤产腐植酸试验。通过测定腐植酸含量，确定最优的菌株组合。首先，进行两

两组合试验，将 2 株细菌 Y、枯草芽孢杆菌和 4 株真菌 AH、H3、里氏木霉、米曲霉分别两两配对，

菌量配比为 1 : 1，组成 8 个样品组合进行试验。腐植酸含量测定结果见表 4。



以米曲霉为本底菌 以 Y 为本底菌 以枯草芽孢杆菌为本底菌 以 AH 为本底菌 以里氏木霉为本底菌

图 4 菌株的拮抗试验结果

Fig.4 Results of antagonistic experiment of strains

表 4 菌株两两组合处理后的褐煤腐植酸含量

Tab.4 Humic acid content of lignite treated with pairwise combination of strains

%

样品	总腐植酸含量	可溶性腐植酸含量
原煤	29.75 ± 0.15e	6.24 ± 0.36f
Y+AH	48.88 ± 1.63cd	16.26 ± 1.12e
Y+ 米曲霉	59.02 ± 1.89a	7.44 ± 1.46f
Y+ 里氏木霉	46.58 ± 2.14d	24.93 ± 0.97ab
Y+H3	51.63 ± 2.37bcd	22.88 ± 0.85bc
枯草芽孢杆菌 +AH	50.90 ± 1.63bcd	5.80 ± 0.78f
枯草芽孢杆菌 + 米曲霉	56.12 ± 1.22ab	17.16 ± 0.84de
枯草芽孢杆菌 + 里氏木霉	51.31 ± 1.29abc	20.35 ± 0.69cd
枯草芽孢杆菌 +H3	51.15 ± 1.95bcd	27.50 ± 1.17a

由表 4 可知，从总腐植酸测量结果来看，Y+米曲霉，Y+H3，枯草芽孢杆菌 + 米曲霉 3 个组合转化褐煤产腐植酸的效果较好，残煤中腐植酸含量分别为 59.02%、51.63%、56.12%；从残煤可溶性腐植酸含量来看，Y+ 里氏木霉、Y+H3、枯草芽孢杆菌 +H3 3 个组合效果较好，残煤可溶性腐植酸含量分别为 24.93%、22.88%、27.50%。综合上述 2 个指标因素，最终选择枯草芽孢杆菌、Y、H3、米曲霉 4 株菌株进行复配，并进行验证试验。

将 4 株菌株混合，测定得出转化后总腐植酸含

量为 59.12%，可溶性腐植酸含量为 28.12%，2 项指标均有增长，表明 4 株菌株复合转化褐煤产腐植酸具有良好效果。

2.4 单一微生物接种量对褐煤转化产腐植酸的影响

从单一微生物接种量对褐煤转化产总腐植酸含量和可溶性腐植酸含量的综合指标来看（图 5），4 株菌株接种量分别为枯草芽孢杆菌 2%、Y 1%、H3 3%、米曲霉 1% 时，其综合指标表现较好。因此，确定枯草芽孢杆菌的最佳接种量为 2%，Y 的最佳接种量为 1%，H3 的最佳接种量为 3%，米曲霉的最佳接种量为 1%。

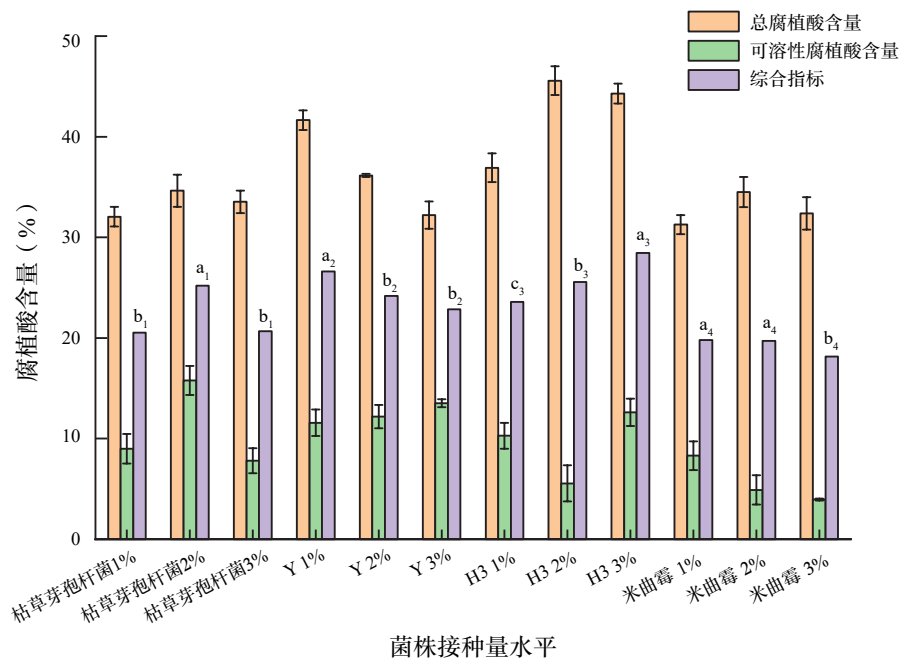


图5 接种量单因素试验结果
Fig.5 Single factor test results of inoculation amount

2.5 微生物复配比例优化正交试验结果

对最佳组合中单一菌株进行接种量的单因素试验，确定每个菌株的最佳接种量。对最佳组合中菌株的接种量设计正交试验，混合菌株于 28 ℃培养 3 天后，撒 5 g 煤粉，持续混合处理 10 天。每组均设置 2 个平行试验，收集处理后残煤样品，测量各组残煤中的腐植酸含量，并进行统计学分析和比较，筛选出最优的菌剂复配比例。试验结果见表 5、表 6。

由分析结果可知，当枯草芽孢杆菌接种量为 1.5%、Y 接种量为 1.5%、米曲霉接种量为 1%、H3 接种量为 2.5% 时，转化褐煤产腐植酸效果最好，即枯草芽孢杆菌：Y：米曲霉：H3=3：3：2：5。按照此复配比例进行验证试验，测得转化后残煤中总腐植酸含量为 64.41%，可溶性腐植酸含量为 33.44%。经对比，验证结果与前期试验结果相符。

表 5 $L_9(3^4)$ 正交因素水平及正交试验结果
Tab.5 $L_9(3^4)$ orthogonal factor level and orthogonal test result

处理编号	总腐植酸含量	可溶性腐植酸含量	综合指标
1	63.32 ± 1.19	29.53 ± 1.20	46.43
2	58.21 ± 0.65	29.36 ± 1.14	43.79
3	59.58 ± 1.17	32.15 ± 0.83	45.87
4	58.74 ± 1.61	30.70 ± 0.86	44.72
5	57.93 ± 1.41	29.49 ± 1.56	43.71
6	56.78 ± 1.35	30.20 ± 0.50	43.49
7	48.35 ± 0.68	14.61 ± 0.74	31.48
8	50.97 ± 0.72	22.28 ± 1.29	36.63
9	56.59 ± 1.50	19.55 ± 0.57	38.07

表 6 正交试验均值响应表
Tab.6 Mean response table of orthogonal test

水平	枯草芽孢杆菌	Y	米曲霉	H3
1	45.36	40.88	42.18	42.74
2	43.97	41.38	42.19	39.59
3	35.39	42.48	40.35	42.41
极差排序	1	4	3	2

3 结论

(1) 通过液体培养基培养微生物转化褐煤产腐植酸试验, 筛选出能够将新疆褐煤转化产腐植酸的微生物主要有白腐真菌 AH、微紫青霉菌 H3、里氏木霉 (GCMCC 3.13241)、米曲霉 (GCMCC 3.13905)、苏云金芽孢杆菌 Y、枯草芽孢杆菌 (GCMCC 1.821)。

(2) 通过枯草芽孢杆菌、Y、H3、米曲霉 4 株菌株进行单一微生物转化褐煤产腐植酸试验, 确定各菌株的最佳接种量分别为枯草芽孢杆菌 2%、Y 1%、H3 3%、米曲霉 1%。

(3) 在复合菌剂制备中, 确定各菌株的接种量分别为枯草芽孢杆菌 1.5%、Y 1.5%、米曲霉 1%、H3 2.5%, 即枯草芽孢杆菌 : Y : 米曲霉 : H3=3 : 3 : 2 : 5, 此复合菌剂对新疆褐煤有良好转化能力, 转化后残煤中总腐植酸含量为 64.41%, 可溶性腐植酸含量为 33.44%。

参考文献

[1] Sekhohola L M, Igbinigie E E, Cowan A K. Biological degradation and solubilization of coal[J]. Biodegradation, 2013, 24(3): 305 ~ 318.

[2] Ghani M J, Rajoka M I, Akhtar K. Investigations in fungal solubilization of coal: mechanisms and significance[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2015, 20(4): 634 ~ 642.

[3] Gonsalvesh L, Marinov S P, Stefanova M, et al. Biodesulphurized low rank coal: maritza east lignite and its “humus-like” byproduct[J]. Fuel, 2013, 103:

1039 ~ 1050.

[4] Haider R, Ghauri M A, Sanfilipo J R, et al. Fungal degradation of coal as a pretreatment for methane production[J]. Fuel, 2013, 104: 717 ~ 725.

[5] Valero N, Gomez L, Pantoja M, et al. Production of humic substances through coal-solubilizing bacteria[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2014, 45(3): 911 ~ 918.

[6] 康德. 煤炭生物转化技术研究进展 [J]. 煤炭加工与综合利用, 2015 (1): 50 ~ 54.

[7] 陈林勇, 刘建民, 崔宇翔, 等. 雅致小克银汉霉与芽孢杆菌联合降解义马煤产腐植酸研究 [J]. 煤炭学报, 2023, 48 (11): 4224 ~ 4232.

[8] 曾晨, 程娟, 衡曦彤, 等. 复合菌剂转化褐煤产腐植酸机理研究 [J]. 煤炭转化, 2023, 46 (2): 36 ~ 44.

[9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 矿物源总腐植酸含量的测定: GB/T 34766—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 矿物源腐植酸肥料中可溶性腐植酸含量的测定: GB/T 35107—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[11] Laborda F, Monistrol I F, Luna N, et al. Processes of liquefaction/solubilization of Spanish coals by microorganisms[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 1999, 52(1): 49 ~ 56.

[12] 冯晓霄. 新疆低价煤微生物液化研究 [D]. 新疆大学硕士学位论文, 2014.

[13] 赵旭, 王文丽, 李娟, 等. 低温秸秆降解微生物菌剂的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2014 (11): 55 ~ 61.