



移动扫码阅读

赵国俊,郭红玉,吕璟慧,等.不同微生物预处理对煤转化生物气的促进效果对比[J].煤炭科学技术,2020,48(12):231-236. doi:10.13199/j.cnki.cst.2020.12.029
ZHAO Guojun, GUO Hongyu, LYU Jinghui, et al. Comparison on promotion effect of different microbial pretreatments on conversion of coal to biogas [J]. Coal Science and Technology, 2020, 48 (12): 231 - 236. doi: 10.13199/j.cnki.cst.2020.12.029

不同微生物预处理对煤转化生物气的促进效果对比

赵国俊¹,郭红玉^{1,2},吕璟慧²,于洪飞²,尹香菊²

(1.河南理工大学 能源科学与工程学院,河南 焦作 454000;2. 中原经济区煤层(页岩)气河南协同创新中心,河南 焦作 454000)

摘 要:为了查明不同种类微生物预处理对煤转化生物气的促进效果,选用绿袍链霉菌、白腐菌、假单胞菌 3 类菌种分别对褐煤进行预处理和厌氧发酵试验。通过生物产气效果检测、Gompertz 方程模拟和扫描电子显微镜 (SEM) 方法探讨不同种类微生物预处理对产气的影响及内在原因。结果表明:在 CH₄ 的总产气量方面,与褐煤原煤相比绿袍链霉菌、白腐菌和假单胞菌预处理后的褐煤都有大幅的增加,增幅各达到了 33.86%、165.28%、69.18%;拟合可知绿袍链霉菌、白腐菌、假单胞菌相比褐煤的最大比产甲烷量都有增加,分别为 14.61%、154.49%和 96.10%,微生物预处理对煤转化生物气的促进效果依次为白腐菌、绿袍链霉菌和假单胞菌。不同微生物的体积及其附着特征对预处理效果有重要影响,体积较小的菌种预处理效果较好,且预处理促使煤的孔-裂隙和表面粗糙度都显著增加,为后期厌氧发酵菌作用煤提供了便利条件。

关键词:生物气;微生物预处理;Gompertz 模拟;表面结构;附着特征

中图分类号:X703 **文献标志码:**A **文章编号:**0253-2336(2020)12-0231-06

Comparison on promotion effect of different microbial pretreatments on conversion of coal to biogas

ZHAO Guojun¹, GUO Hongyu^{1,2}, LYU Jinghui², YU Hongfei², YIN Xiangju²

(1.School of Energy Science and Engineering, Henan Polytechnic University, Jiaozuo 454000, China;

2. Collaborative Innovation Center of Coalbed Methane and Shale Gas for Central Plains Economic Region, Jiaozuo 454000, China)

Abstract: In order to find out the promotion effect of different kinds of microbial pretreatment on the conversion of coal biogas, lignite was pretreated with three different types of strains including streptomyces viridosporus, phanerochaete chrysosporium and pseudomonas, followed by measurement of gas production and composition after fermentation with coal seam methanogenic flora. The effects of different kinds of microbial pretreatment on total gas production and composition, as well as the coal surface structure were investigated by biogas production effect detection, Gompertz equation simulation and scanning electron microscopy (SEM). The results show that compared to raw original lignite, the total methane production of lignite pretreated by streptomyces viridosporus, phanerochaete chrysosporium and pseudomonas increased by 36.86%, 165.28% and 69.18%, respectively. The fitting data demonstrated that maximum specific methane production of streptomyces viridosporus, phanerochaete chrysosporium and pseudomonas have increased 14.61%, 154.49% and 96.10%, respectively than that of raw original lignite. The effect of microbial pretreatment on coal-to-biogas conversion from strong to weak is followed by phanerochaete chrysosporium, pseudomonas and streptomyces viridosporus. The volume and adhesion characteristics of the different microorganisms have an important influence on the pretreatment effect. The smaller the volume of the strain, the better the pretreatment effect, and the pretreatment promotes the pore-fissure and surface roughness of the coal to increase significantly, and providing convenient conditions for the later anaerobic fermentation bacteria to act on coal.

Key words: biogas; microbial pretreatment; Gompertz simulation; surface structure; adhesion characteristic

收稿日期:2020-07-25;责任编辑:王晓珍

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41972178);河南省科技攻关计划资助项目(192102310196,182102310845)

作者简介:赵国俊(1994—),男,山西大同人,硕士研究生。E-mail:zhaogj1994@126.com

通讯简介:郭红玉(1978—),男,河南遂平人,教授,博士生导师。E-mail:guohy@hpu.edu.cn

0 引 言

据报道,美国粉河盆地已采出的煤层气资源总量远高于勘探阶段查明的资源总量,证明次生物气是煤层气的一个重要补充来源^[1],这引起人们对生物甲烷资源贡献的重视。生物成因气源于微生物对煤的降解,煤中复杂大分子有机质经微生物转化为可溶性有机物(长链脂肪酸、烷烃、低分子量芳烃等),继续降解成乙酸、H₂和 CO₂等小分子才能被产甲烷菌利用^[2-3]。煤微生物降解体系中,温度、盐度、pH、氧化还原电位和微量元素含量等因素对菌群活性的影响已被多方面证实^[4-7]。且煤经不同预处理,可实现煤制生物气试验模拟过程中产氢与产甲烷的转换^[8]。近年来,美国多家公司已从室内模拟走向了现场试验,即通过向煤层气井中注入营养液从而提高煤转化生物气的效果^[9-11]。目前,众多学者主要通过化学和物理式对煤进行预处理来提高煤的生物产气效率^[12-13]。其中,化学预处理是通过打断煤大分子间的化学键,减小相互之间的作用力和螯合作用来增产生物气^[14]。物理预处理主要是提高菌群与煤的接触面和亲和性,加快煤的溶解和降解过程。

相关煤炭的微生物转化研究始于 20 世纪 80 年代,FAKOUSSA^[15]发现一些细菌能利用煤的有机提取液作为唯一的碳源,溶解部分天然煤。COHEN 等^[16]发现白腐菌和真菌能使风化褐煤降解为液态

物质。研究表明,微生物对褐煤、次烟煤和风化煤的降解效果较好,且不同种类的微生物(如细菌、真菌和放线菌等)对煤的降解机理并不相同^[17-20]。相对于物理化学措施,微生物预处理具有工艺简单、反应条件温和、能耗低、环境污染小等诸多优点^[21-22],但不同种类微生物预处理对煤转化生物气的对比研究相对较少。

笔者以内蒙古白音华煤矿褐煤为研究对象,选用绿袍链霉菌(放线菌)、白腐菌(真菌)、假单胞菌(细菌)3 种微生物对煤进行预处理,之后以煤层本源菌群为菌源进行厌氧发酵产气试验,来探讨不同微生物预处理对煤转化生物气的促进效果。

1 材料和方法

1.1 样品制备

1)样品处理。新鲜褐煤来自内蒙古白音华矿,根据 GB/T 30732—2014《煤的工业分析方法 仪器法》和 GB/T 31391—2015《煤的元素分析》进行工业与元素分析(表 1)。将褐煤进行灭菌处理,在真空干燥箱内 50 ℃干燥 24 h,然后放入干燥器内密封保存备用。在采煤工作面采集新鲜矿井水,并在 4 ℃条件下密封保存以确保煤层产甲烷菌群活性。

2)不同种类的微生物选用。绿袍链霉菌(*Streptomyces viridosporus*, St)、白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*, Ph)、假单胞菌(*Pseudomonas*, Ps),菌种信息见表 2。

表 1 煤样的基本信息
Table 1 Basic information of coal samples

煤样	$R_{o,ran}/\%$	$M_{ad}/\%$	$V_{ad}/\%$	$A_{ad}/\%$	$FC_{ad}/\%$	$w(C)/\%$	$w(H)/\%$	$w(O)/\%$	$w(N)/\%$
褐煤	0.43	7.46	10.71	44.58	37.25	40.43	4.40	21.47	0.40

注: $R_{o,ran}$ 为镜质组随机反射率。

表 2 选用菌种的基本信息
Table 2 Basic information of selected strains

菌种	编号	门	纲	目	科	属	菌种来源	培养基
绿袍链霉菌	St	放线菌	放线菌	放线菌	链霉菌	链霉菌	CGMCC 4.1770	0038 ISP-2 培养基
白腐菌	Ph	担子菌	伞菌	多孔菌	平革菌	白腐	BNCC336257	综合马铃薯培养基
假单胞菌	Ps	变形菌	γ -变形菌	假单胞菌	假单胞菌	假单胞菌	GSICC 31603	CM0841 培养基

3)菌种培养基的配制。0038 ISP-2 培养基:酵母提取物 4 g、麦芽提取物 10 g、葡萄糖 4 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1 L、调节 pH=7.3。综合马铃薯培养基:20%马铃薯汁 1 L、葡萄糖 20 g、KH₂PO₄ 为 3 g、MgSO₄·7H₂O 为 1.5 g、硫胺素微量、琼脂 15 g、调节 pH=6。CM0841 培养基:蛋白胨 5.0 g、牛肉膏 10 g、酵母膏 5.0 g、葡萄糖 5.0 g、NaCl 5.0 g、琼脂 15.0 g、

蒸馏水 1 L、调节 pH=7.2。

4)采用 16S rRNA 方法鉴定出矿井水中主要产甲烷菌属为甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)、甲烷螺菌属(*Methanospirillum*)。为提高富集期间产甲烷菌群繁殖速度,需提供微生物生长所需的 C、N、P、S 元素以及中性盐等物质,微量元素和复合维生素也是维持厌氧微

生物生长代谢和厌氧发酵酶系统活性的重要组成成分,按文献[23]进行产甲烷菌群的富集培养。

1.2 试验方法

1.2.1 预处理煤样与生物产气试验

1)不同微生物预处理煤样试验。采用 250 mL 玻璃瓶,装入 10 g 直径 0.2~0.3 mm 的煤颗粒,加入 20 mL 含有选用的不同微生物培养液进行预处理,绿袍链霉菌、白腐菌和假单胞菌预处理后的褐煤分别编号为 St-H、Ph-H 和 Ps-H,同时用镍丝连着一煤块浸泡在微生物处理液,以方便取出。玻璃瓶用透气棉塞封堵,以防杂菌干扰(图 1)。

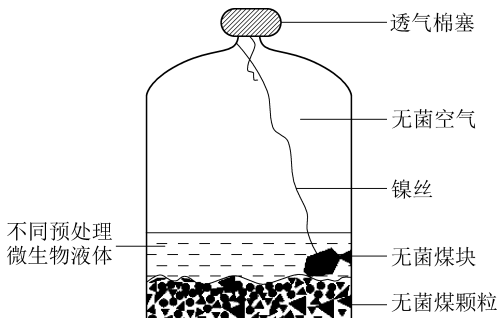


图 1 不同微生物预处理煤样装置示意
Fig.1 Schematic of different microbial pretreatment coal samples device

2)厌氧发酵产气试验。分别选用含有 2~3 d 生长期的菌种对煤进行预处理 14 d,然后把煤样和相应的处理液一同进行厌氧发酵产气试验,厌氧发酵与气体收集的装置与文献[24]完全相同。具体步骤是:将配制好的 200 mL 产甲烷菌富集培养基放入 121 ℃ 的灭菌锅中灭菌 3 h,利用 0.3 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调节 pH 至 7,然后加入含有煤层本源菌群的矿井水,密封放置在 35 ℃ 培养箱中培养 4 d;取出加入预处理结束的玻璃瓶内,利用 N₂驱替至少 3~4 min,保证厌氧环境,之后进行产气试验。采用排水集气法收集气体,每 3 d 记录一次产气量,以集水瓶中无水排出时产气结束。

1.2.2 试验测试方法

1)菌液浓度的检测。采用 UV-5200 型紫外可见分光光度计、透射比标准进行测定。将分装好放置有样品的试管放置于 35 ℃ 的恒温培养箱中分别培养 17 d,测上清液波长为 600 nm 的吸光值(OD₆₀₀)。

2)气体组分测定。采用安捷伦 7890 GC 型气相色谱仪测定气体组分,其含热导池和氢火焰 2 个检测器,采用进样针手动进样,每次进样体积 0.5 mL,5A 分子筛不锈钢填充色谱柱,检测器温度 100 ℃,载气为 He,流速为 30 mL/min。

3)扫描电镜(SEM)试验:FEI Quanta 250 环境扫描电子显微镜,电压 30 kV,放大倍数 30~300 000 倍,分辨率 3 nm,成像模式为二次电子图像和背散射电子图像。将制备的原煤和经过不同菌种预处理后的煤块从菌液中取出,采用 2.5% 戊二醛浸泡 2~4 h 进行固定;之后用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液清洗表面 3 次;样品脱水干燥剂用表面张力小的乙醇,防止样品收缩,进行乙醇梯度脱水:30%、50%、70%、85%、95%各 1 次,100%乙醇 2 次,每次浸泡 15~20 min,然后让其在空气中逐渐挥发干燥。

2 试验结果

2.1 菌种的生长特征

分别把 3 种微生物菌种在固体培养基上完成活化,然后进行梯度稀释,接种等量的菌到液体培养基中,采用紫外可见分光光度计在 600 nm 波长条件下对上清液进行光度测试,做出菌种的相应生长曲线(图 2)。

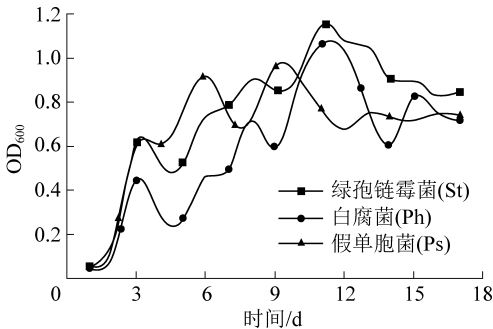


图 2 选用 3 种菌种的生长特征
Fig.2 Growth characterization of three selected strains

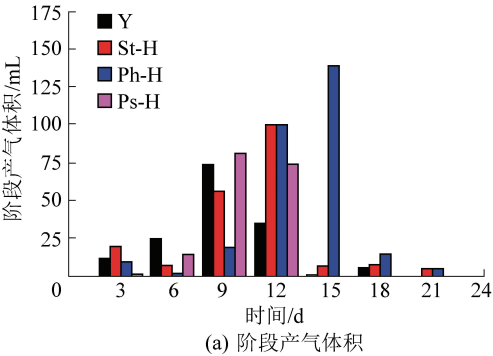
微生物生长曲线一般包括迟缓期、对数期、稳定期和衰亡期。从图 2 看出绿袍链霉菌、白腐菌与假单胞菌 3 种微生物在 1~2 d 在迟缓期,2~3 d 为对数期生长速率最快,4~5 d 曲线呈现下降趋势,第 6 d 开始进入相对稳定期,15 d 后死亡率增加进入衰退期。为了提高不同微生物对煤的预处理效果,笔者选用 3 d 处于对数生长期的菌种。

2.2 煤样预处理后的厌氧发酵试验结果

3 种菌种对煤进行预处理 14 d 后,以煤层本源菌群为菌源进行为期 21 d 的产气试验如图 3 所示。

由图 3 可知,累计产气体积和阶段产气体积:St-H、Ph-H 与 Ps-H 相比原煤(Y)的产气效果都有不同程度增加,其中 Ph-H 的产气体积最大达到 288.00 mL,相比 Y 产气体积 151.50 mL,增幅达到 90.10%;产气体积分数:最大为 Ps-H 的 51.77%相比 Y 的 34.54%有明显增加,增幅达到 49.88%;甲烷的总体积,与 Y 相比 St-H、Ph-H 与 Ps-H 都有大幅

增加,增幅各达到了 36.86%、165.28%、69.18%。总体来说 St-H、Ph-H 与 Ps-H 组的产气体积变化趋势具有一致性,即预处理后煤的产气体积增加,且经



预处理后 3 种微生物预处理对增加 CH₄体积的促进能力为 Ph>Ps>St。

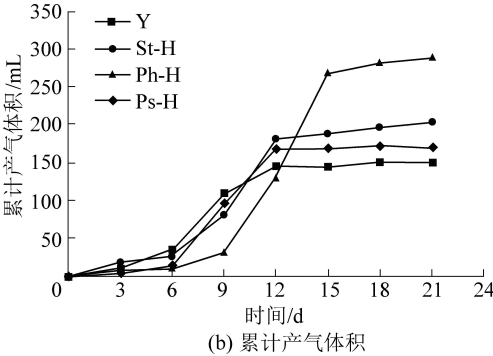


图3 不同煤样的厌氧发酵产气结果

Fig.3 Gas production results of anaerobic fermentation of different coal samples

2.3 Gompertz 模型与数据拟合

利用实验室测得的生物产气数据探讨不同微生物预处理煤样的产甲烷潜力,通常利用 Gompertz 模型。采用改进的 Gompertz 方程对甲烷产量进行模拟(式(1))^[25],模拟结果如图 4 和表 3 所示。

$$y = A \exp \left\{ - \exp \left[\frac{e \mu_m}{A} (\lambda - t) \right] \right\} \quad (1)$$

式中:y 为累积甲烷产量,mL/g;A 为累积潜力甲烷产量,mL/g; μ_m 为最大比甲烷产量,mL/(g·d); λ 为滞后阶段时间,d;t 为试验时间,d。

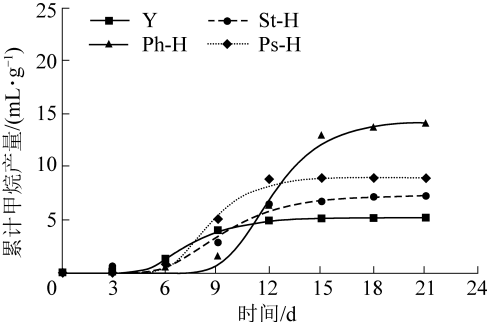


图4 煤样产甲烷潜力的 Gompertz 模拟结果

Fig.4 Gompertz simulation results of coal sample methane potential

表3 Gompertz 方程的拟合参数

Table 3 Fitting parameters for Gompertz equation				
样品编号	最大比甲烷产量/ (mL·g ⁻¹ ·d ⁻¹)	累积潜力 甲烷产量/ (mL·g ⁻¹)	滞后阶段 时间/d	拟合度
Y	0.983	5.232	6.662	0.993
St-H	1.126	7.238	8.327	0.974
Ph-H	2.500	14.377	11.328	0.988
Ps-H	1.927	9.041	7.893	0.993

由图 4 和表 4 可知,试验数据的拟合度 R²接近 1,可信度较高,St-H、Ph-H 与 Ps-H 相比 Y 的最大

比甲烷产量都有增加,分别为 14.61%、154.49%和 96.10%;累计产气潜力也有明显提高,分别增加 38.33%、174.78%和 72.79%。可知,不同菌种促进煤产气效果:Ph>Ps>St。且与原煤 Y 相比,微生物预处理煤样在厌氧发酵过程中有更大累计产气潜力和最大产甲烷率。

3 煤的表面结构和菌种的附着特征分析

分别将 3 种菌种 St、Ph 与 Ps 预处理 14 d 后的煤块用镍丝取出,与原煤 Y 一同按照第 2.2 节进行样品制备,然后进行镀膜处理,采用环境扫描电子显微镜分别在 3 000 倍和 20 000 倍观测煤的表面结构及菌种的附着状态(图 5)。

原煤 Y 的表面光滑且平整、孔-裂隙较少。经过 3 种微生物预处理的煤表面粗糙度明显增加,呈凹凸不平状、孔-裂隙也显著增加。St 以链状菌形态存在,其中菌长约为 5.52 μm、直径约为 0.38 μm。Ph 以椭圆形态为主,其中椭圆菌长轴约为 1.32 μm、短轴约为 0.84 μm。Ps 以杆状菌为主,杆菌长约为 2.55 μm、直径约为 0.65 μm。

从菌种的附着状态分析,St 聚集成菌落并基本覆盖了煤的全部表面;而 Ph 主要分布在煤的孔-裂隙之内。经 Ps 菌处理后的煤表面和孔-裂隙均有分布。从 3 种菌种的体积来看,Ph 菌的体积最小,更容易进入煤的孔裂隙;St 菌的体积最大,主要分布在煤的表面,Ps 菌的体积处在 St 菌和 Ph 菌之间,附着状态也是二者兼具。

从煤表面结构特征分析,微生物对煤表面结构具有蚕食作用,增加了煤的粗糙度,这为后期厌氧发酵过程中产甲烷菌群与煤相互作用创造了条件。菌种的体积和形态对其附着状态有重要影响,体积越

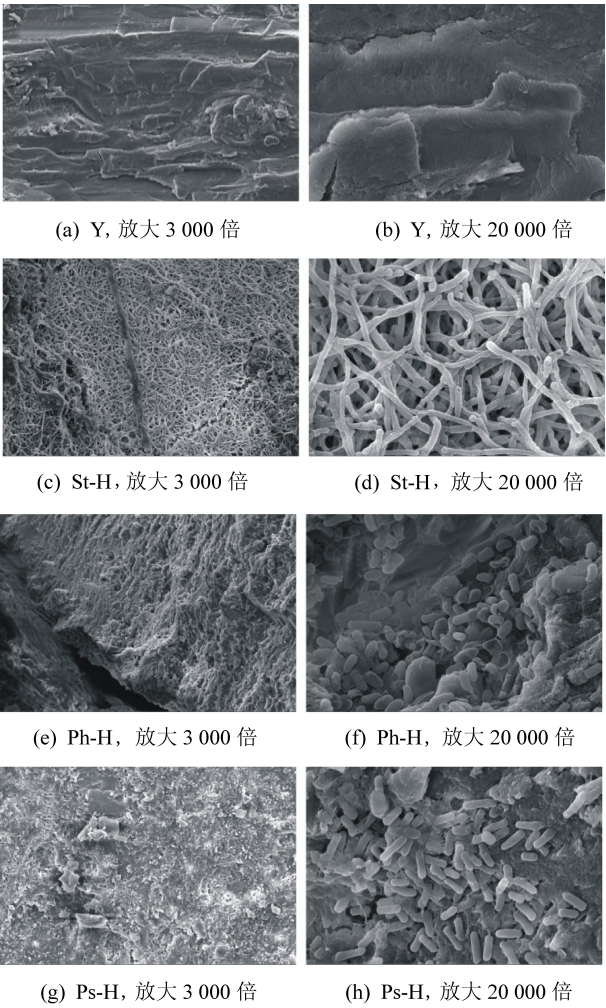


图 5 煤表面结构和菌种的附着特征

Fig.5 Coal surface structure and bacterial adsorption observation

小的菌种更容易通过孔-裂隙进入煤的内部,与仅在煤表面附着的较大菌种相比,前者的预处理效果更有优势,据此推断 3 种菌种对煤的预处理效果顺序为 $Ph>Ps>St$,这与前述的厌氧发酵数据具有一致性。

4 结 论

1)通过 3 种菌种的生长曲线确定预处理时间为 14 d。与原煤 Y 相比,3 种微生物 St、Ph 与 Ps 预处理后的煤样生物产气量增加,且 CH_4 的体积分数与体积也相应增加。3 种微生物预处理对产气的促进能力为 $Ph>Ps>St$ 。通过改进的 Gompertz 方程模拟也表明经微生物预处理后煤的产甲烷潜力和最大速率均增加。

2)微生物预处理明显增加了煤表面的粗糙度,这有助于产甲烷菌群和煤的相互作用,对提高煤转化生物气的效果有积极作用。菌的附着状态和大小是影响煤预处理后产气效果的因素之一,且体积越

小的菌种易于进入煤的孔-裂隙,而体积越大的菌种更倾向于附着在煤的表面,前者对提高预处理效果更为有利。

3)在 CH_4 总产量上,St-H、Ph-H 与 Ps-H 相比 Y 都有大幅增加,增幅各达到了 36.86%、165.28%、69.18%;通过 Gompertz 模型与数据拟合可论证 St-H、Ph-H 与 Ps-H 相比 Y 的最大比产甲烷量都有增加,分别为 14.61%、154.49%和 96.10%,各微生物预处理促进煤转化生物气的效果不同。

参考文献 (References) :

[1] GREEN M S,FLANEGAN K C,GILCREASE P C. Characterization of a methanogenic consortium enriched from a coalbed methane well in the Powder River Basin,U.S.A[J]. International Journal of Coal Geology,2008,76(1/2):34-45.

[2] OREM W H,VOYTEK M A,JONES E J,*et al.* Organic intermediates in the anaerobic biodegradation of coal to methane under laboratory conditions[J]. Organic Geochemistry,2010,41(9):997-1000.

[3] FERRY J G. Fundamentals of methanogenic pathways that are key to the biometanation of complex biomass[J]. Current Opinion in Biotechnology,2011,22(3):351-357.

[4] LIU D Y,TAGO K,HAYATSU M,*et al.* Effect of elevated CO_2 concentration,elevated temperature and no nitrogen fertilization on methanogenic archaeal and methane-oxidizing bacterial community structures in paddy soil[J]. Microbes and Environments,2016,31(3):349-356.

[5] KIRK M F,WILSON B H,MARQUART K A,*et al.* Solute concentrations influence microbial methanogenesis in coal-bearing strata of the Cherokee Basin,USA[J]. Frontiers in Microbiology,2015,511:1-14.

[6] 魏国琴,何 环,王江泽,等. 龙泉煤层气田产甲烷菌群富集的厌氧产气中试研究[J]. 煤炭科学技术,2019,47(7):249-254. WEI Guoqin,HE Huan,WANG Jiangze,*et al.* Pilot study on methanogens-enriched anaerobic gas production in Longquan Coalbed Methane Field [J]. Coal Science and Technology,2019,47(7):249-254.

[7] 张亦雯,郭红光,李亚平,等.过氧化氢预处理中/高煤阶煤增产生物甲烷研究[J].煤炭科学技术,2019,47(9):262-267. ZHANG Yiwen, GUO Hongguang, LI Yaping,*et al.* Study on medium/high rank coal-producing methane with hydrogen peroxide pretreatment[J]. Coal Science and Technology, 2019, 47(9):262-267.

[8] 苏现波,陈 鑫,夏大平,等. 煤炭酵制生物氢和甲烷的模拟实验[J]. 天然气工业,2014,34(5):179-185. SU Xianbo,CHEN Xin,XIA Daping,*et al.* An experimental study of hydrogen and methane production from fermentation of coal[J]. Natural Gas Industry,2014,34(5):179-185.

[9] RITTER D,VINSON D,BARNHART E,*et al.* Enhanced microbial coalbed methane generation: a review of research,commercial activity,and remaining challenges[J]. International Journal of Coal

- Geology, 2015, 146: 28–41.
- [10] 苏佳纯, 肖 钢. 利用微生物促进煤层间 CO₂ 甲烷化的新方法[J]. 煤炭转化, 2013, 36(4): 90–93.
SU Jiachun, XIAO Gang. A proposed pathway to stimulate biogenic methane production from coal and injected carbon dioxide[J]. Coal Conversion, 2013, 36(4): 90–93.
- [11] 孙 斌, 李金珊, 承 磊, 等. 低阶煤生物采气可行性: 以二连盆地吉尔嘎朗图凹陷为例[J]. 石油学报, 2018, 39(11): 1272–1278, 1291.
SUN Bin, LI Jinshan, CHENG Lei, et al. The feasibility of biological gas recovery in low-rank coal: a case study of Jiergalangtu depression in Erlian Basin[J]. Acta Petrolei Sinica, 2018, 39(11): 1272–1278, 1291.
- [12] HAIDER R, GHAURI M A, SANFILIPPO J R, et al. Fungal degradation of coal as a pretreatment for methane production[J]. Fuel, 2013, 104(2): 717–725.
- [13] GAZSO L G. The effect of radiation to enhance the bioconversion of coal[J]. Fuel Processing Technology, 1997, 52(1/2/3): 239–245.
- [14] HUANG Z, URYNOWICZ M A, COLBERG P J S. Stimulation of biogenic methane generation in coal samples following chemical treatment with potassium permanganate[J]. Fuel, 2013, 111(5): 813–819.
- [15] FAKOUSSA R M. Coal as a substrate for microorganism: investigation with microbial conversion of national coal[D]. Bonn: Friedrich Wilhelms University, 1981.
- [16] COHEN M S, GABRIELE P D. Degradation of coal by the fungi *Polyporus versicolor* and *Poria monticola*[J]. Applied and Environmental Microbial, 1982, 44(1): 23–27.
- [17] DAASSI D, PRIETO A, ZOUARI-MECHICHI H, et al. Degradation of bisphenol A by different fungal laccases and identification of its degradation products[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 110: 181–188.
- [18] FACCIO G, KRUUS K, SALOHEIMO M, et al. Bacterial tyrosinases and their applications[J]. Process Biochemistry, 2012, 47(12): 1749–1760.
- [19] NGUYEN LN, HAI FI, PRICE WE, et al. Continuous biotransformation of bisphenol A and diclofenac by laccase in an enzymatic membrane reactor[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 95: 25–32.
- [20] WANG C P, LIU H B, LI J, et al. Degradation of PAHs in soil by *Lasiodiplodia theobromae* and enhanced benzo[a]pyrene degradation by the addition of Tween-80[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(18): 10614–10625.
- [21] RALPH J P, CATCHESIDE D E A. Decolourisation and depolymerisation of solubilised low-rank coal by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1994, 42(4): 536–542.
- [22] TIANYU C, SANDRA R, GOLDING S D, et al. Improving coal bioavailability for biogenic methane production via hydrogen peroxide oxidation[J]. International Journal of Coal Geology, 2018, 195: 402–414.
- [23] GUO Hongyu, DONG Zhiwei, SU Xianbo, et al. Synergistic biodegradation of coal combined with corn straw as a substrate to methane and the prospects for its application[J]. Energy & Fuels, 2018, 32(6): 7011–7016.
- [24] GUO Hongyu, LI Yunsong, CHEN Shanlai, et al. Influence of coal macerals on biomethane production[J]. Environmental Engineering and Management Journal, 2018, 17(6): 1449–1456.
- [25] HUANG Z, SEDNEK C, URYNOWICZ M A, et al. Low carbon renewable natural gas production from coalbeds and implications for carbon capture and storage[J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 568.