

CO₂和H₂低压环境下煤微生物降解气化实验

简阔 傅雪海 刘明杰 刘健 李晋 茹忠亮 吉小峰 王强

引用本文:

简阔, 傅雪海, 刘明杰, 等. CO₂和H₂低压环境下煤微生物降解气化实验[J]. 煤田地质与勘探, 2024, 52(12): 72–83.

JIAN Kuo, FU Xuehai, LIU Mingjie, et al. Coal gasification through microbial degradation in a low-pressure CO₂ and H₂ environment: An experimental study[J]. *Coal Geology & Exploration*, 2024, 52(12): 72–83.

在线阅读 View online: <https://dx.doi.org/10.12363/issn.1001-1986.24.03.0174>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超临界CO₂参与下煤储层原位微生物甲烷化物理模拟研究

Physical simulation of in-situ microbial methanation in coal reservoirs with the participation of supercritical CO₂

煤田地质与勘探. 2022, 50(3): 119–126 <https://doi.org/10.12363/issn.1001-1986.21.11.0684>

高岭土对煤生物产气的影响及微生物群落响应

Effect of kaolin on biogenic coalbed methane production and the response of microbial community

煤田地质与勘探. 2022, 50(6): 1–10 <https://doi.org/10.12363/issn.1001-1986.21.08.0463>

采煤扰动对土壤理化性状影响及微生物群落响应机制

Influence of coal mining disturbance on soil physiochemical properties and the response mechanism of microbial community

煤田地质与勘探. 2023, 51(3): 95–102 <https://doi.org/10.12363/issn.1001-1986.22.03.0190>

基于微生物烃检测技术的陕北煤层火烧区绿色探测

Green detection method of coal burning area in northern Shaanxi based on microbial hydrocarbon detection technology

煤田地质与勘探. 2021, 49(3): 175–181 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2021.03.022>

基于显微CT的煤生物降解过程中孔隙演化精细表征

Micro CT-based meticulous characterization of porosity evolution of coal in the process of biodegradation

煤田地质与勘探. 2019, 47(5): 63–69 <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1986.2019.05.009>

微生物无固相钻井液体体系构建及其固壁作用机理研究

Study on construction of microbial solid-free drilling fluid system and its borehole wall enhancement mechanism

煤田地质与勘探. 2023, 51(4): 187–194 <https://doi.org/10.12363/issn.1001-1986.22.07.0549>



移动阅读

简阔, 傅雪海, 刘明杰, 等. CO₂ 和 H₂ 低压环境下煤微生物降解气化实验[J]. 煤田地质与勘探, 2024, 52(12): 72–83. doi: 10.12363/issn.1001-1986.24.03.0174

JIAN Kuo, FU Xuehai, LIU Mingjie, et al. Coal gasification through microbial degradation in a low-pressure CO₂ and H₂ environment: An experimental study[J]. Coal Geology & Exploration, 2024, 52(12): 72–83. doi: 10.12363/issn.1001-1986.24.03.0174

CO₂ 和 H₂ 低压环境下煤微生物降解气化实验

简阔^{1,2}, 傅雪海³, 刘明杰², 刘健², 李晋², 茹忠亮¹, 吉小峰¹, 王强⁴

(1. 太原科技大学 安全与应急管理工程学院, 山西 太原 030024; 2. 煤与煤层气共采国家重点实验室, 山西 晋城 048204; 3. 中国矿业大学 资源与地球科学学院, 江苏 徐州 221116; 4. 国家煤层气质检中心, 山西 晋城 048026)

摘要: 【目的和方法】为探索低压环境下 CO₂ 生物甲烷化和煤炭微生物降解气化特征, 选取低阶烟煤($R_{\max}=0.67\%$) 作为发酵底物, 利用 CO₂ 和 H₂ 营造低压氛围, 开展为期 96 d 的微生物发酵产气实验。借助气相色谱、16S rRNA 基因测序和低温液氮吸附测试分析生物气产出-微生物群落-煤结构内在变化规律。【结果和结论】结果表明: (1) 相比于常规发酵, 注入低压 CO₂ 对 CH₄ 的产出有抑制作用, CH₄ 产出效率呈现降低现象, H₂ 注入后很快被转化利用, H₂ 体积分数快速降低, 促进了 CH₄ 的产出, 同时也改变了生物气产出方式, 对发酵液中微生物群落结构也产生了深刻影响, 表现为细菌中厚壁菌门(*Firmicutes*) 相对丰度的降低和拟杆菌门(*Bacteroidota*) 相对丰度的升高, 尤其是拟杆菌门中 *S50_wastewater_sludge_group* 菌属始终为优势菌属, 它与 *unclassified_W27* 菌属均呈现上升趋势, 分析原因为后期 H₂ 的注入, 促进了它们的生长代谢。(2) 古菌在属水平分布中, 甲烷杆菌属(*Methanobacterium*) 所占比例最大(47.66%~83.05%), 其次是甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、甲烷囊菌属(*Methanoculleus*); 得益于可以同时利用 H₂+CO₂ 和乙酸等底物, *Methanosarcina* 相对丰度增大趋势显著; 而 *Methanoculleus* 是通过氢营养途径进行甲烷的合成, 后期缺乏 H₂, 其丰度也快速减小。(3) 相比于原煤, 低压 CO₂ 的注入导致煤吸附能力的减弱, 总孔容和比表面积减小; 随着低压 CO₂ 注入越多, 分形维数 D_1 和 D_2 分别出现了增大和减小趋势, 煤中孔隙表面粗糙程度增加, 孔隙结构复杂程度或均质化程度减小, 考虑与微生物降解和碳酸盐沉淀形成的双重作用有关。研究结果丰富了煤炭生物降解与 CO₂ 生物转化利用基础理论, 尤其为煤层中 CO₂ 生物转化埋存技术贡献一定的理论依据。

关键词: 煤微生物转化; 甲烷; 低压环境; CO₂ 和 H₂; 微生物群落; 孔隙结构

中图分类号: P618.11 文献标志码: A 文章编号: 1001-1986(2024)12-0072-12

Coal gasification through microbial degradation in a low-pressure CO₂ and H₂ environment: An experimental study

JIAN Kuo^{1,2}, FU Xuehai³, LIU Mingjie², LIU Jian², LI Jin², RU Zhongliang¹, JI Xiaofeng¹, WANG Qiang⁴

(1. School of Safety and Emergency Management Engineering, Taiyuan University of Science and Technology, Taiyuan 030024, China; 2. State Key Laboratory of Coal and Coalbed Methane Co-mining, Jincheng 048204, China; 3. College of Resources and Earth Sciences, University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China; 4. National Coalbed Methane Quality Inspection Center, Jincheng 048026, China)

Abstract: [Objective and Methods] This study aims to investigate the characteristics of CO₂ biomethanation and coal

收稿日期: 2024-03-11; 接收日期: 2024-12-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(42102218); 山西省基础研究计划项目(202103021223283, 202203021221143); 2022 年晋城市重点研发计划(高新领域)项目(20220118)

第一作者: 简阔, 1986 年生, 男, 河南信阳人, 博士, 副教授, 硕士生导师。E-mail: haikuo11@163.com

© Editorial Office of Coal Geology & Exploration. OA under CC BY-NC-ND

gasification through microbial degradation in a low-pressure environment. With low-rank bituminous coals ($R_{\max} = 0.67\%$) as fermentable substrates, this study conducted a 96-day gas production experiment through microbial fermentation in a low-pressure CO₂ and H₂ environment. Using techniques including gas chromatography, 16S rRNA gene sequencing, and low-temperature liquid nitrogen adsorption, this study delved into the intrinsic variation patterns of biogenic gas production, microbial communities, and coal structures. [Results and Conclusions] The results indicate that compared to conventional fermentation, the injection of low-pressure CO₂ inhibited CH₄ production, leading to a reduced CH₄ production efficiency. After the H₂ injection, the injected H₂ was consumed quickly, resulting in a rapid decrease in the H₂ concentration and contributing to CH₄ production. Meanwhile, the H₂ injection changed the production mode of biogenic gas, exerting a profound influence on the structure of microbial communities in fermentable liquids. Specifically, the relative abundance of *Firmicutes* and *Bacteroidota* increased. Notably, the *S50_wastewater_sludge_group* in *Bacteroidota* always predominated, trending upward together with the *unclassified_W27* genus. This occurred due to the late-stage H₂ injection, which accelerated the growth and metabolism of both bacterial genera. Regarding the distribution of archaea at the genus level, *Methanobacterium* represented the highest proportion (47.66%–83.05%), followed by *Methanosarcina* and *Methanoculleus* sequentially. Benefiting from the simultaneous consumption of H₂, CO₂, and substrates such as acetic acid, the relative abundance of *Methanosarcina* exhibited a significant upward trend. In contrast, *Methanoculleus*, which synthesizes methane via the hydrogenotrophic pathway, displayed a rapidly decreasing relative abundance due to a shortage of H₂ in the later stage. Compared to the raw coals, coals with injected low-pressure CO₂ exhibited a lower adsorption capacity, with the total pore volume and specific surface area decreasing. As more low-pressure CO₂ was injected, fractal dimensions D_1 and D_2 trended downward and upward, respectively, suggesting an increase in the surface roughness of coal pores and a decrease in the complexity/heterogeneity of pore structures. This is inferred to be associated with the dual effects of microbial degradation and carbonate precipitation. The results of this study enrich the fundamental theories on the microbial degradation of coals and the biological transformation and utilization of CO₂, especially providing a theoretical basis for the biological transformation and storage of CO₂ in coal seams.

Keywords: microbial transformation of coal; methane; low-pressure environment; CO₂ and H₂; microbial community; pore structure

自 2020 年中国提出“碳达峰、碳中和”目标后,中国能源从以煤炭为主的高碳能源体系逐渐向低碳、绿色能源体系转变日益紧迫,其中 CO₂ 捕集、利用和封存技术(CCUS)有望成为实现 CO₂ 减排及中和的关键技术^[1]。近年来,煤层中 CO₂ 的生物转化埋存是 CCUS 技术研究的一个崭新方向,通过微生物菌群的协作将煤中部分有机质进行水解、酸化后最终生成甲烷等低碳能源,同时将 CO₂ 转化,从而实现碳减排和煤炭清洁利用^[2-6]。

近年来随着“煤层气生物工程”(即采用现代工程技术手段,利用微生物的某些特定功能,把煤部分转化为煤层气和与之伴生的液相有机物)的兴起,该技术逐渐由单纯煤层气增产向 CO₂ 减排技术方向发展,初步构建了一种低碳负碳理论和技术体系^[7-8]。在人工强化煤炭微生物转化过程中,一些学者们通过物理^[9]、化学和生物^[10-15]等方式预处理煤样以提高生物利用度;比如有利用高锰酸钾、过氧化氢^[16-19]等强氧化剂溶解煤,也有借助芽孢杆菌等降解能力较强的微生物^[20]对煤进行改造。尤其是通过煤微生物发酵降解产出生化甲烷逐渐成为研究热点,最新研究表明可通过筛选高效水解煤的芽孢杆菌来加速和缩短产气周期,提升降解液中可溶性有机物含量^[20]。甚至油脂也可与煤联合厌氧发酵

提高生化甲烷效率,为煤的清洁转化和油脂利用提供了新思路^[21]。

此外,也有通过 CO₂-微生物-煤厌氧发酵联作方式将 CO₂ 转化来增产煤层气;先前 S. H. Harris 等^[22](2008)曾对褐煤及亚烟煤在微生物作用下的产甲烷性能进行了研究,认为煤中产生大量甲烷与 CO₂/H₂ 添加比例密切相关,通过调节 CO₂/H₂ 含量可以实现甲烷的高产。近年来,通过超临界 CO₂ 萃取与微生物厌氧发酵联作的方式来开展低碳负碳理论研究得到较高的重视。代表性的有苏现波等^[23](2022)研究了超临界 CO₂ 参与下的原位微生物的甲烷化,结果表明在超临界 CO₂ 参与下,生化甲烷产量和 CO₂ 转化率得到显著提升,甲烷代谢途径也逐渐向氢营养型演化,同时发现了芽孢杆菌为高压环境下的优势菌种。Wang Lufei 等^[24](2023)研究认为超临界 CO₂ 萃取联合微生物厌氧发酵能够促使微生物产生更多的胞外聚合物,从而提高发酵系统中芳香蛋白的含量,同时产酸菌可以有效利用 CO₂ 萃取的液相化合物,提升发酵代谢效率。Li Saisai 等^[25](2023)对超临界 CO₂-H₂O-微生物-煤相互作用过程中煤结构和微生物群落做了研究,结果表明反应后煤表面碳元素相对含量增加,有机碳相对含量略有下降,煤的微孔比表面积、总孔容和孔径增大,中孔和大孔的平均孔径减小,

一些能适应高压极端环境的细菌,比如 *Paraclostridium* 和 *Methanoculleus*, 逐渐进化为优势菌属。

目前针对超临界 CO₂ 与微生物联作降煤的这种原位环境研究较多,原位环境多为几个或数个兆帕的高压环境,而 CO₂ 参与的低压环境煤微生物降解过程研究鲜少涉及。基于此,笔者利用 CO₂ 和 H₂ 营造低压环境,开展低压条件下煤微生物厌氧发酵产气实验研究,从产气组分、微生物群落以及煤孔隙结构三个方面变化探索低压环境对煤微生物降解气化的影响,以期 CO₂

生物转化利用和煤炭生物降解提供理论参考。

1 样品与实验

选取低阶烟煤作为微生物转化的降解母质。煤样的基本性质测试结果见表 1,煤样镜质体最大反射率为 0.67%,属于典型的低阶烟煤,显微组分中镜质组和惰质组含量较多,壳质组含量较少,不到 1%。煤的工业分析表明,煤样属于高水分、低灰分、中高挥发分的低硫煤。

表 1 煤样的基本性质测试结果
Table 1 Tested fundamental properties of coal samples

显微组分 $\phi/\%$			工业分析 $w/\%$					镜质体最大反射率
V	I	L	S _{ad}	M _{ad}	A _{ad}	V _{daf}	FC _{ad}	R _{max} ¹ / $\%$
44.63	52.42	0.63	0.48	13.88	3.76	34.93	47.43	0.67

注: V—镜质组; I—惰质组; L—壳质组; S_{ad}—总硫; M_{ad}—水分; A_{ad}—灰分; V_{daf}—挥发分; FC_{ad}—固定碳; ad—空气干燥基, daf—干燥无灰基。

实验菌源来自山西保德煤层水中的微生物,为探究煤样与菌源的适配性及产气效果,开展微生物的富集培养,菌液富集培养完成后,进行为期 96 d 的煤微生物降解产气实验,实验设备及流程如图 1 所示,整个微生物厌氧发酵过程包含注气系统、发酵系统和气体检测系统,实验总共设置 12 个发酵瓶,把注入 CO₂ 的发酵瓶作为实验组,不注入 CO₂ 的作为对照组,以 D 和 X 分别代表 500 mL 和 250 mL 发酵瓶,以数字 005 和 01 分别代表注入 50 kPa 和 100 kPa CO₂,以序号 1 和 2 代表一个平行实验组。其中,向 6 个 500 mL 的发酵瓶内分别加入培养基 360 mL、富集后菌液 40 mL、煤样 20 g,设置发酵温度 30 ℃,发酵瓶依次命名为: D005-1、D005-2、D01-1、D01-2、D-1、D-2,向另外 6 个 250 mL 的发酵瓶内分别加入培养基 180 mL、富集后菌液 20 mL、煤样 10 g,设置发酵温度 30 ℃,发酵瓶依次命名为: X005-1、X005-2、X01-1、X01-2、X-1、X-2; 其中 D-1、D-2、X-1、

X-2 为不注入 CO₂ 的常规发酵组(对照组)。实验共设置 6 组平行实验,且在产气稳定后向所有发酵瓶中注入 20 mL H₂。

生物降解产气实验培养基的配置如下: K₂HPO₄ (2.90 g/L), KH₂PO₄ (1.50 g/L), 酵母提取物 (2.00 g/L), MgCl₂ (0.40 g/L), NH₄Cl (1.80 g/L), 维生素 aq (200 倍) (1.00 mL/L), 微量元素溶液 (1.00 mL/L), 0.1% 刃天青指示剂 (1.00 mL/L), 半胱氨酸 (0.05 g/L)。其中微量元素溶液提供了微生物生长、繁殖和代谢所必需的营养,其组成情况见表 2。

12 个发酵瓶产气前 30 d,每隔 10 d 左右利用 Agilent 7890A 型气相色谱仪测试一次产气的组分和含量,30 d 后每隔 7 d 左右测试一次,并记录发酵瓶内测试前后压力变化。分别在产气第 30 天、第 60 天和第 90 天通过注射器抽取发酵液 5 mL,对发酵液中细菌和古菌群落 DNA 进行高通量测序,分析微生物种群构成。此外,借助氮吸附法对比分析原煤样与生物降解煤样孔隙结构参数。

2 结果与讨论

2.1 煤微生物降解产气特征

本次微生物发酵产气组分主要为 CO₂ 和 CH₄,同时含有少量的 H₂,产气组分偏干,在注入 CO₂ 和不注入 CO₂ 两种条件下,不同发酵瓶的产气情况见表 3。其中,不同实验条件下,样品的产气量平均值略有差异,如图 2 所示。统计结果显示,两种发酵瓶中 CO₂、CH₄ 和 H₂ 的含量差别较小,在同一个变化水平上,在所有注入 CO₂ 和 H₂ 的发酵瓶中,CO₂ 平均含量总体要高于不注

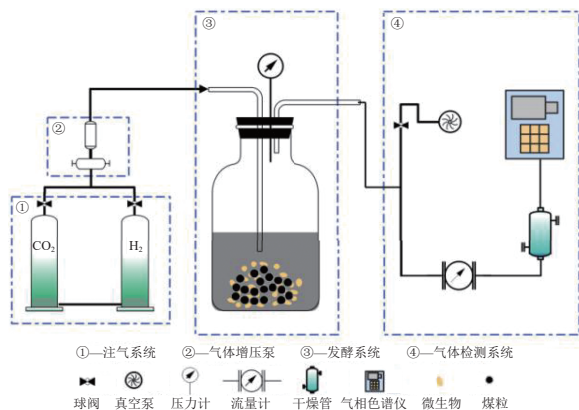


图 1 微生物厌氧发酵实验流程

Fig.1 Flow chart of the microbial anaerobic fermentation experiment

表 2 微量元素溶液配制情况
Table 2 Preparation of trace element solutions

微量元素溶液(SL-10)	质量浓度/(mg·L ⁻¹)	微量元素溶液(SL-10)	质量浓度/(mg·L ⁻¹)
FeCl ₂ ·4H ₂ O	1 500	Biotin(生物素)	2
ZnCl ₂	70	Folic acid(叶酸)	2
MnCl ₂ ·4H ₂ O	100	Pyridoxine HCl(盐酸吡哆辛 VB ₆)	10
H ₃ BO ₃	6	Riboflavin(核黄素)	5
CoCl ₂ ·6H ₂ O	190	Thiamine(硫胺素B ₁)	5
CuCl ₂ ·2H ₂ O	2	Nicotinic acid(烟酸)	5
NiCl ₂ ·2H ₂ O	24	Ca pantothenate(泛酸钙)	5
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	36	B ₁₂	0.1
Na ₂ SeO ₃	0.000 1	Thioctic acid(硫辛酸)	5
AlKPO ₄	10	4-aminobenzoic acid(对氨基苯甲酸)	5

注: 在每升培养基中加入量为10 mL的HCl, 即25% HCl。

表 3 不同实验条件下生物降解产气特征
Table 3 Characteristics of gas production of coal samples through microbial degradation under different experimental conditions

分类	注入CO ₂ 时气体体积分数/%			不注入CO ₂ 时气体体积分数/%		
	CO ₂	CH ₄	H ₂	CO ₂	CH ₄	H ₂
500 mL发酵瓶	29.33~81.50	0.10~65.22	0.01~6.18	23.25~45.39	0.17~54.88	0~5.86
250 mL发酵瓶	30.20~73.91	0.12~53.02	0~10.23	24.45~47.58	0.32~50.34	0~8.32

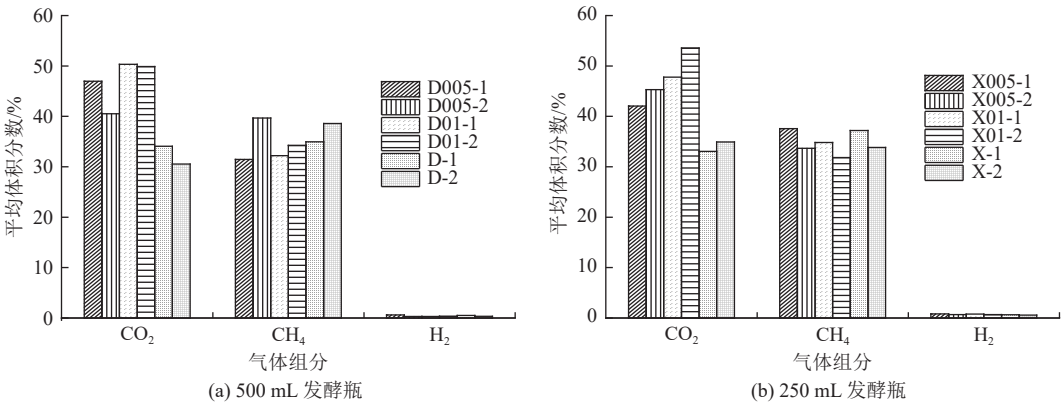


图 2 不同实验条件下各样品的产气组分平均体积分数

Fig.2 Average volume fractions of gas components produced from various coal samples under different experimental conditions

入的情况,但注入事件对 CH₄ 和 H₂ 含量的变化影响不大,CH₄ 平均体积分数变化都在 30%~40%,H₂ 平均体积分分数依然在 1% 以内。

从发酵瓶生物气产出变化曲线来看,两种容量发酵瓶在注入 CO₂ 条件下显示出一样的规律,总体产气曲线变化可以分为 3 个阶段:第 1 阶段(第 1—第 20 天),CO₂ 含量快速降低,CH₄ 含量快速升高;第 2 阶段(第 20—第 40 天),CO₂ 和 CH₄ 含量均缓慢升高;第 3 阶段(第 40—第 96 天),CO₂ 和 CH₄ 含量均缓慢降低后略有升高(图 3a—图 3d)。不注入 CO₂ 条件下也分为上述 3 个阶段,不同之处在于,第一阶段(第 1—第 20 天),CO₂ 和 CH₄ 含量均快速升高(图 3e 和图 3f)。此外,注入 CO₂ 的发酵瓶,产气中前期(第 1—第 55 天)CO₂ 的

含量普遍高于 CH₄,在后期注入 H₂ 后(第 55—第 96 天),CH₄ 含量与 CO₂ 相近,CH₄ 含量有提升,H₂ 含量迅速降低至 1% 以内。没有注入 CO₂ 的发酵瓶,产气的大部分时段,CH₄ 的含量普遍高于 CO₂。从前 20 d 的曲线斜率变化来看,不注入 CO₂ 的发酵瓶产 CH₄ 的效率最高,注入 100 kPa 压力产 CH₄ 效率要总体低于注入 50 kPa 的情况。从整个产气过程来看,发酵瓶中不注入 CO₂、注入 50 kPa CO₂ 以及注入 100 kPa CO₂ 所产出的甲烷含量总体有减小趋势。实验结果表明注入低压 CO₂ 的量越多,越不利于 CH₄ 的产出,CO₂ 的注入对 CH₄ 产出有一定的抑制作用,后期 H₂ 的注入一定程度上缓解了这种抑制作用,促进了 CH₄ 的产出。从产气途径来看,无论注入 CO₂ 与否,产气的大部分时段(第 20—第 96

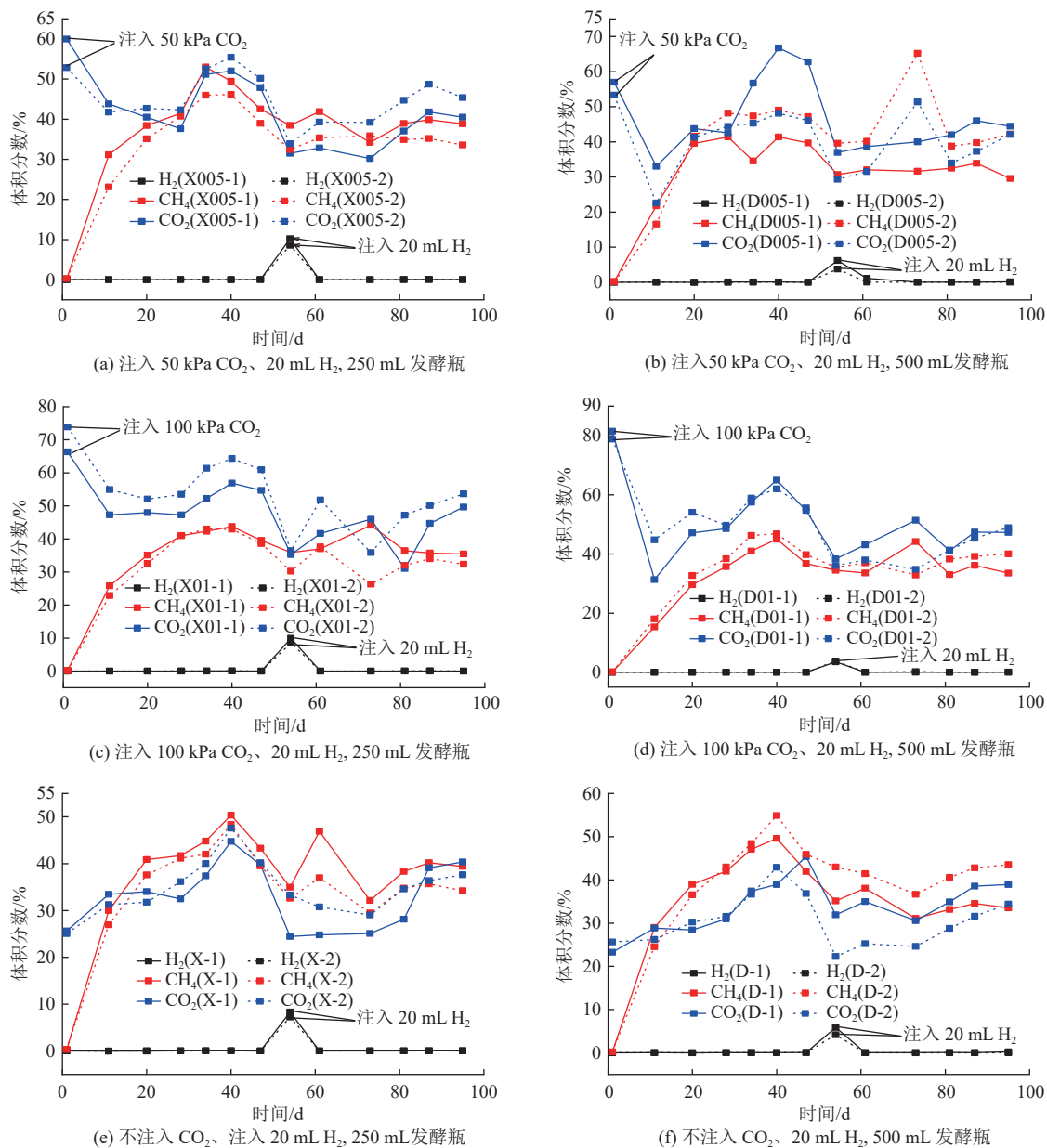


图 3 发酵瓶生物气产出变化曲线

Fig.3 Curves showing the changes in the production of biogenic gas in fermentation flasks

天), CH₄ 和 CO₂ 产出曲线具有很好的同步性和协同性, 说明乙酸发酵为主要产气途径, 但由于 H₂ 的注入, 在产气后期 CO₂ 还原的产气途径也参与其中。

所有发酵瓶中气体压力出现了先快速增大后缓慢降低的规律, 峰值压力最高点在产气 30 d 左右, 接近 135 kPa, 值得关注的是在 H₂ 注入后, 有半数的发酵瓶压力有小幅回升, 在产气 60 d 左右压力又出现一个小峰值(图 4)。由此可见, 产气速率最高峰应在发酵产气一个月左右达到峰值最高点, H₂ 注入后在一定程度上促进了甲烷的快速产出, 使得部分发酵瓶气压出现了回升, 另一方面也说明, 在整个产气中后期, CO₂ 通过溶解和转化使得气瓶压力逐步下降。(备注: 由于 D005-1 和 D-1 两个发酵瓶中后期出现漏气, 所以显示压力衰

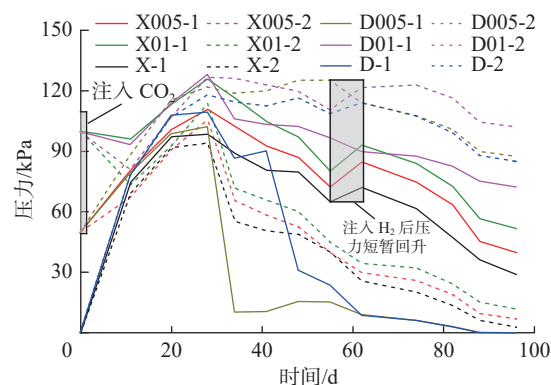


图 4 发酵瓶产气压力变化曲线

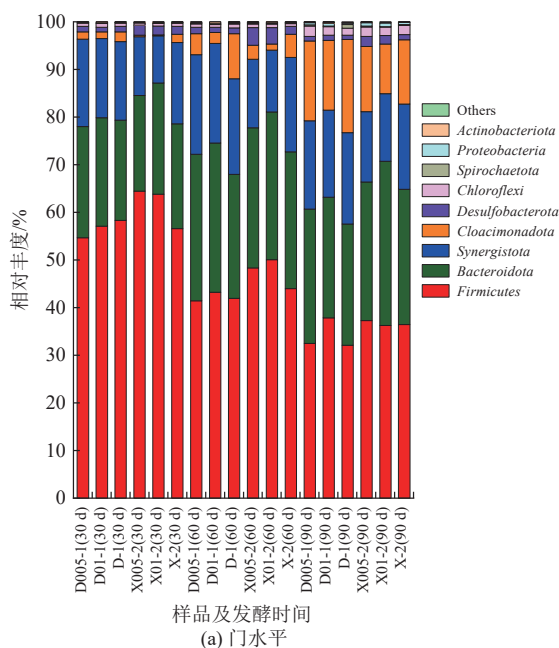
Fig.4 Curves showing the changes in the gas production pressure in fermentation flasks

减较快,但不影响总体统计结果和压力变化趋势。)

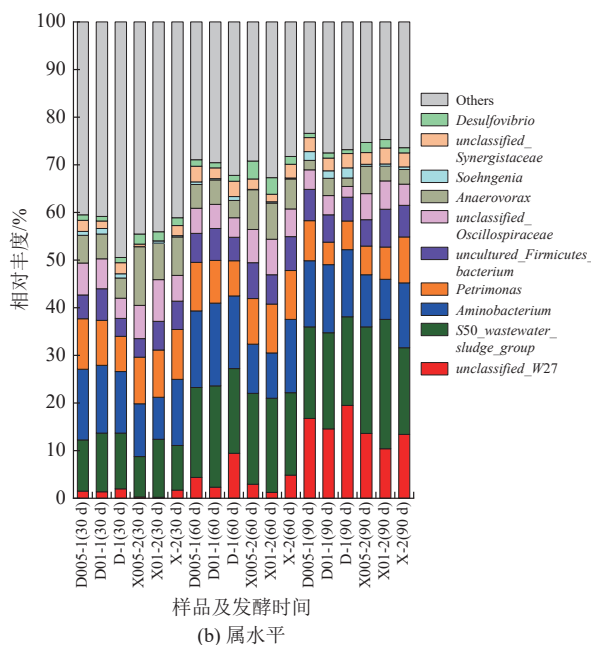
2.2 微生物群落结构变化分析

2.2.1 细菌群落结构

如图 5a 所示,细菌群落厚壁菌门(*Firmicutes*)所占比例最大(32.06%~64.44%),为优势菌门,其次是拟杆菌门(*Bacteroidota*, 20.10%~34.43%)、互养菌门(*Synergistota*, 9.09%~20.88%)以及栖热袍菌门(*Cloacimonadota*, 0.20%~19.53%)占有相当的比例。在整个发酵过程中,厚壁菌门(*Firmicutes*)的丰度在逐渐降低,但仍为菌群中的优势菌门;拟杆菌门(*Bacteroidota*)丰度略有升高;



(a) 门水平



(b) 属水平

图 5 细菌群落分别在门、属水平上的相对丰度变化

Fig.5 Changes in the relative abundance of bacterial communities at phylum and genus levels

互养菌门(*Synergistota*)的丰度变化不大,相对保持稳定;而 *Cloacimonadota* 的丰度有明显的升高趋势。

如图 5b 所示,在细菌的属水平分布中, *S50_wastewater_sludge_group* 菌属所占比例最大(8.46%~27.11%)。在整个发酵过程中, *S50_wastewater_sludge_group* 菌属始终为优势菌属,它与 *unclassified_W27*、*unclassified_Synergistaceae* 菌属均呈现上升趋势;而 *Aminobacterium*、*uncultured_Firmicutes_bacterium* 菌属的丰度基本保持稳定; *Petrimonas*、*unclassified_Oscillospiraceae*、*Anaerovorax* 菌属和归类于 *others* 的其他菌属丰度则呈现逐步下降的趋势。

S50_wastewater_sludge_group(S50 废水污泥组)菌属是拟杆菌门一类,具有反硝化脱氮的功能,能将硝态氮还原为氨及游离氮; *unclassified_W27* 属于 *Cloacimonadota* 菌门,主要在厌氧发酵中参与酸化、产甲烷等代谢活动; *unclassified_Synergistaceae* 菌属归属于互养菌门,是重要的氨基酸和产氢产乙酸的功能细菌,在连接发酵型细菌和产甲烷菌中起重要作用。这三类微生物在其相应属水平和门水平的分布中,变化趋势是一致的,是参与产酸发酵的重要微生物。特别是在第二、三次收集样本分析中,三者丰度均有升高,尤其是 *S50_wastewater_sludge_group* 和 *unclassified_W27* 菌属丰度明显增加,说明 H₂ 的注入促进了这类微生物的生长代谢; *unclassified_W27* 菌属丰度的增大有助于产甲烷代谢,而 *S50_wastewater_sludge_group* 菌属丰度的增大会导致发酵体系中氨的增多,反而对微生物产生抑制作用。 *Aminobacterium* 属于 *Synergistota*,代谢氨基酸产生的主要代谢产物是乙酸和少量的 NH₃、甲酸、CO₂、H₂、丙酸^[26-27]。 *uncultured_Firmicutes_bacterium* 属于 *Firmicutes*,主要参与一些混合酸、醇和中性物质的生成。这两个菌属丰度保持稳定,不受环境因素的影响,其代谢产物是整个发酵过程中生成 CH₄ 的物质保障。

在产酸发酵阶段, *Petrimonas* 是一种能够利用多种碳源的菌,以元素硫和硝酸根作为电子受体,产物为硫化物和氨。 *Anaerovorax* 能够利用乙酸、丁酸、氢气和氨气发酵,也能够利用 4-氨基丁酸和 4-羟基丁酸作为生长基质^[28]。它们的菌属丰度均呈现逐步下降的趋势,未受到 CO₂ 和 H₂ 注入的作用影响,应该是在发酵过程中受到底物和抑制因子影响而出现丰度降低的正常现象,也是发酵后期 CH₄ 生成量减少的主要原因。

2.2.2 古菌群落结构

古菌在门水平分布中,广古菌门(*Euryarchaeota*)所占比例最大(47.66%~83.05%),为绝对优势菌门,而后依次是 *Halobacterota*(9.02%~46.74%)、*Thermoplasmata*(2.32%~13.91%)、*Crenarchaeota*(0.02%~1.14%)(图 6a)。

在属水平分布中, 甲烷杆菌属(*Methanobacterium*) 所占比例最大(47.66%~83.05%), 而后依次是甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*, 4.23%~33.39%)、甲烷囊菌属(*Methanoculleus*, 0.45%~41.07%)、甲烷马赛球菌属(*Methanomassiliicoccus*, 2.29%~13.91%)、*unclassified_Halobacterota*(0.10%~6.41%)(图 6b)。

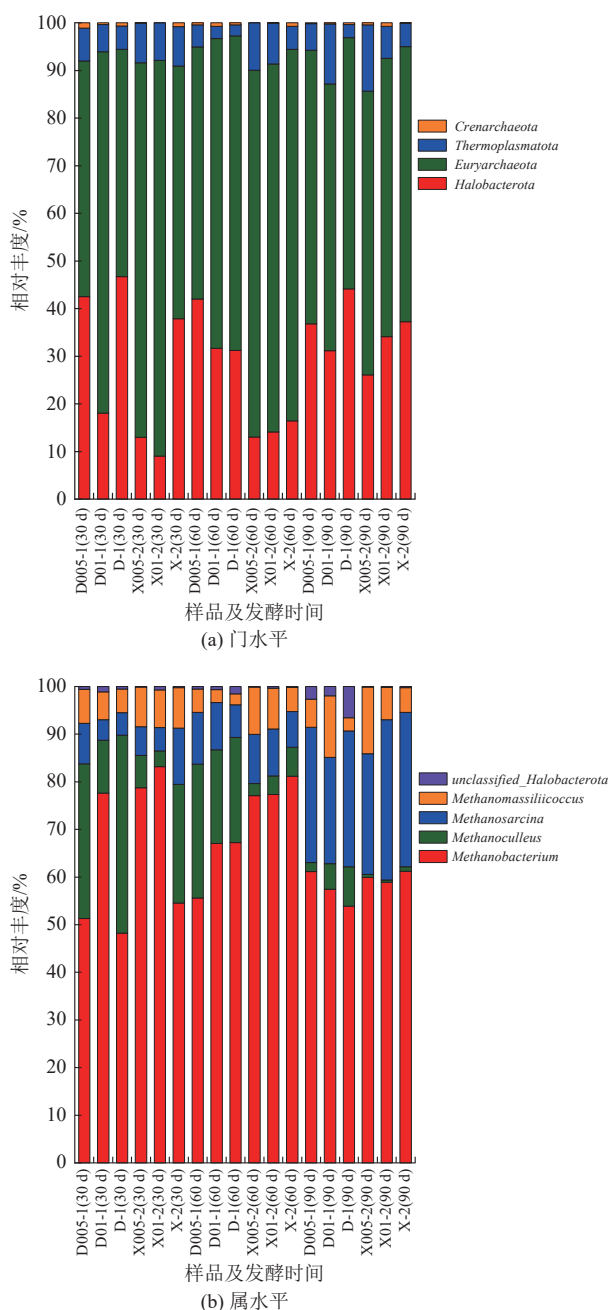


图 6 古菌群落在门、属水平上的相对丰度变化

Fig.6 Changes in the relative abundance of archaeal communities at phylum and genus levels

Methanobacterium 属于氢营养型甲烷菌, 是一类能够利用 CO_2 还原成 CH_4 的微生物, 不具备代谢甲基胺和乙酸的能力, 其反应的电子供体可以是 H_2 、甲酸盐、二元醇等物质, 因此, *Methanobacterium* 是最主要的产

甲烷微生物之一。由于是在发酵 30 d 开始取样分析, 体系中已积累大量 CO_2 , 但仍然可以看出注入 CO_2 有助于 *Methanobacterium* 丰度的增加, 注入 H_2 后为其提供电子, 使得 *Methanobacterium* 保持较高的丰度, 但随着 H_2 的消耗, 其丰度在发酵末期有所降低(图 6b)。 *Methanosarcina* 是可以将甲基胺或甲醇歧化或还原为 CH_4 , 并利用 H_2+CO_2 或乙酸等底物进行代谢, 但不使用甲酸作为底物, 所以 *Methanosarcina* 既可以进行乙酸营养型产甲烷, 又可以进行氢营养型产甲烷。 *Methanoculleus* 以二氧化碳为底物, 通过氢营养型途径进行甲烷的合成, 二者呈现负相关关系, *Methanosarcina* 在发酵体系中丰度逐步增大, 而 *Methanoculleus* 则相反, 这可能是因为细菌 *unclassified_W27* 丰度的增加为 *Methanosarcina* 提供了更多底物, 而 *Methanoculleus* 因为没有 H_2 , 无法利用 CO_2 , 很快受到抑制, 此外发酵体系的规模可能对其也存在影响。 *Methanomassiliicoccus* 属于利用 H_2 还原甲基化合物的甲基营养型代谢途径, 这类产甲烷菌不占据优势, 发酵过程其丰度变化不大, 可作为其他主要产甲烷菌的功能互补菌属。

2.3 基于低温氮吸附的孔隙结构变化特征

煤中孔隙形态多样、复杂多变, 采用氮吸附法研究生物降解前后煤中孔隙形态和孔径变化, 基于吸附和凝聚理论可知, 具有毛细孔固体的吸附分支和脱附分支会出现重叠和分离现象, 从而形成了“滞后环”。如图 7 所示, 所有曲线的吸附分支和脱附分支大致平行, 存在明显的“滞后环”, 吸附分支和脱附分支闭合点在相对压力(p/p_0)0.4~0.5 范围内, 在相对压力 0.8 之前, 吸附-脱附曲线平稳, 上升缓慢; 0.8 之后, 吸附-脱附曲线呈明显上升趋势, 不存在明显的曲线拐点, 隶属于降文萍等 [29] 所研究的 3 类煤的低温液氮吸附曲线中的 H1 类(脱附曲线 H1 类没有拐点; H2 类出现轻缓拐点; H3 类出现明显拐点)。总体煤中孔隙以开放孔较为发育, “滞后环”闭合点在相对压力(p/p_0)0.4~0.5 范围内所对应的孔径为 3.4~4.0 nm, 在小于闭合点压力范围内, 吸附曲线和脱附曲线重合, 说明孔径低于 3 nm 时, 煤中的孔隙以半开放性孔为主。

如图 7 和表 4 所示, 从吸附曲线和孔隙结构参数来看, 注入低压 CO_2 越多, 总体吸附曲线相较于原煤吸附曲线有下移趋势, 最大吸附量有减小趋势, 煤的总孔容和比表面积均呈现降低现象, 这些说明 CO_2 注入越多, 越不利于煤的生物降解, 影响了微生物的活性和代谢性能。类比原煤, 经生物降解在小于 10 nm 的微孔中, 孔容和比表面积均有明显增大趋势; 在 10~100 nm 的小孔中, 孔容和比表面积均出现略有增大的趋势; 在大于 100 nm 的大中孔隙中, 孔容和比表面积均呈现减小趋

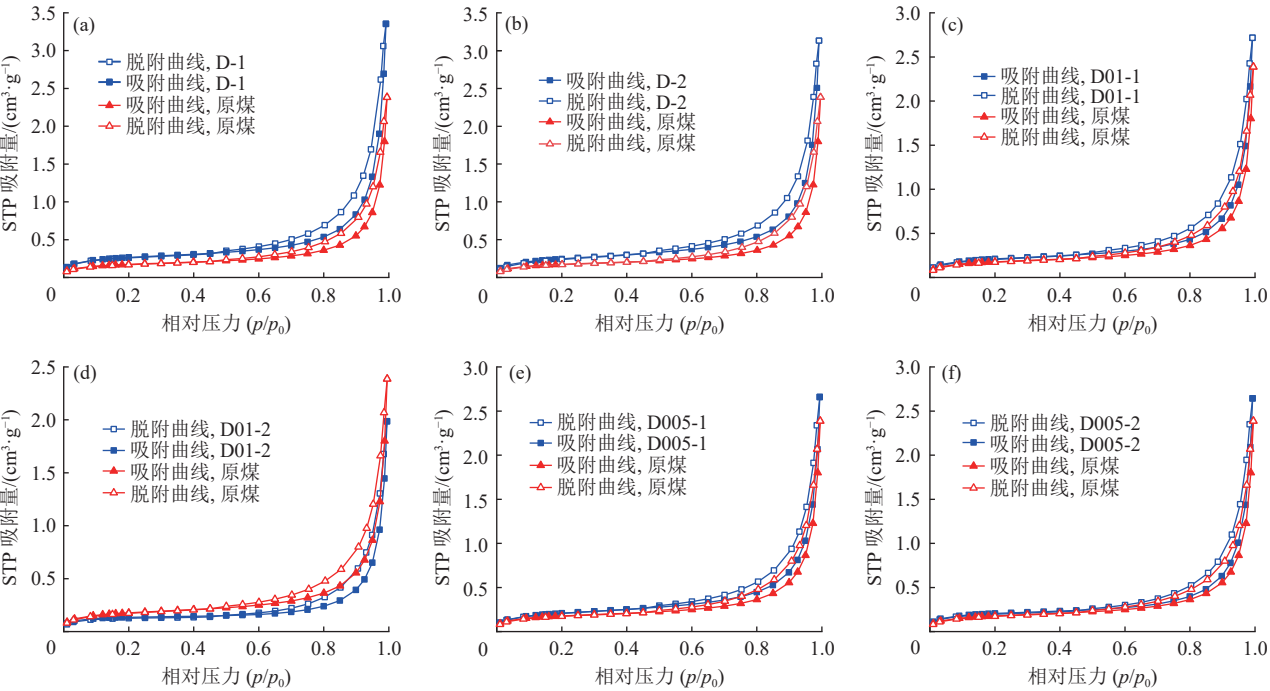


图 7 原煤样与生物降解煤样低温液氮吸附-脱附曲线

Fig.7 Low-temperature liquid nitrogen adsorption-desorption curves of raw coal samples and coal samples subjected to microbial degradation

表 4 原煤样与生物降解煤样低温氮吸附孔隙结构参数

Table 4 Low-temperature nitrogen adsorption-derived pore structure parameters of raw coal samples and coal samples subjected to microbial degradation

编号	BJH 孔容/ (cm ³ ·g ⁻¹)	BET 比表面积/ (m ² ·g ⁻¹)	BJH 比表面积/ (m ² ·g ⁻¹)	平均孔径/ nm	最大吸附量/ (cm ³ ·g ⁻¹)	各孔径段孔容比/%			各孔径段比表面积比/%		
						>100 nm	10~100 nm	<10 nm	>100 nm	10~100 nm	<10 nm
原煤	0.003 564	0.623 1	0.397	23.751 7	2.387 0	53.37	43.82	2.81	16.37	63.73	19.90
D-1	0.004 996	0.924 7	0.583	22.484 8	3.353 7	48.20	49.38	2.42	16.29	68.44	15.27
D-2	0.004 693	0.884 0	0.643	21.962 7	3.131 6	48.65	47.05	4.30	14.15	56.30	29.55
D01-1	0.004 054	0.738 5	0.471	22.803 7	2.716 3	50.12	23.24	26.64	16.77	66.46	16.77
D01-2	0.002 973	0.452 0	0.277	27.249 8	1.986 5	56.37	42.69	0.94	20.94	73.28	5.78
D005-1	0.003 974	0.744 6	0.523	22.137 3	2.658 7	50.45	45.40	4.15	13.76	56.79	29.45
D005-2	0.003 940	0.705 2	0.431	23.243 4	2.643 9	50.61	47.49	1.90	17.63	71.00	11.37

势;说明微生物对小于 10 nm 的微孔改造更显著,对大中孔影响较小,微孔扩孔现象更加明显。如图 8 所示,从原煤样与生物降解煤样孔隙结构分布曲线来看,绝大部分经生物降解样品随着平均孔径增大,孔容和比表面积有了显著的增加;累计孔容和累计比表面积更是明显大于原煤。同时总体上也呈现出,注入低压 CO₂ 越多,微生物对孔隙改造作用越小的现象,尤其 D01-2 这个样品,甚至呈现出孔容和比表面积低于原煤的情况,这可能与 CO₂ 注入较多有关。由图 9 可以看出,CO₂ 注入后,发酵液中钙镁离子质量浓度随降解时间大幅度降低,此过程形成钙镁碳酸盐沉淀析出,煤中孔隙遭遇堵塞,同时也降低了各孔径段的孔容和比表面积,造成了孔容和比表面积小于原煤的情况。

一般来说,在较低的 pH 值下,碳酸的电离主要以产生氢离子和碳酸氢根离子为主,随着 CO₂ 的不断注

入,溶液中的氢离子质量浓度会增加,pH 值会下降。当 pH 值降低到一定程度时,会抑制钙镁离子与碳酸氢根离子反应生成沉淀的过程。而在适当的 pH 范围内,尤其当发酵液的 pH 值在 7~9 时,有利于碳酸的电离平衡向生成足够的碳酸氢根离子方向移动,从而促进沉淀反应的进行。本次实验发酵液 pH 值介于 6~7,总体上有利于碳酸盐沉淀的形成。此外,在实际的发酵工业中也经常通过向发酵液中注入 CO₂ 形成钙镁沉淀,有效地去除发酵液中的钙镁离子,可以提高发酵产品的纯度和质量。

煤是具有各向异性和非均质性的多孔介质,可借助分形理论描述其孔隙结构的复杂程度,目前广泛采用 FHH(Frenkel-Halsey-Hill) 进行氮吸附数据的分形维数计算;即, $\ln(V/V_0)=K[\ln(\ln(p_0/p))]+C$ 。

图 10 和表 5 为煤样低温氮吸附数据分形数据的处

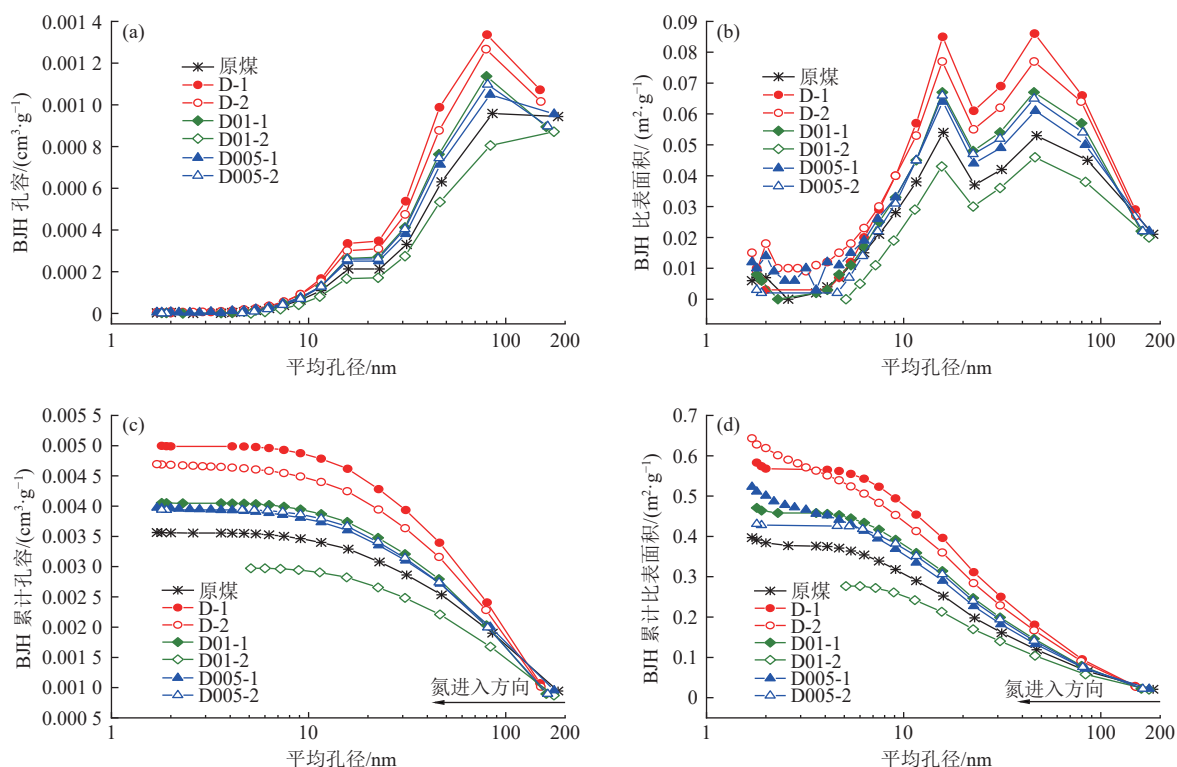


图 8 原煤样与生物降解煤样孔隙结构分布曲线

Fig.8 Pore structure curves of raw coal samples and coal samples subjected to microbial degradation

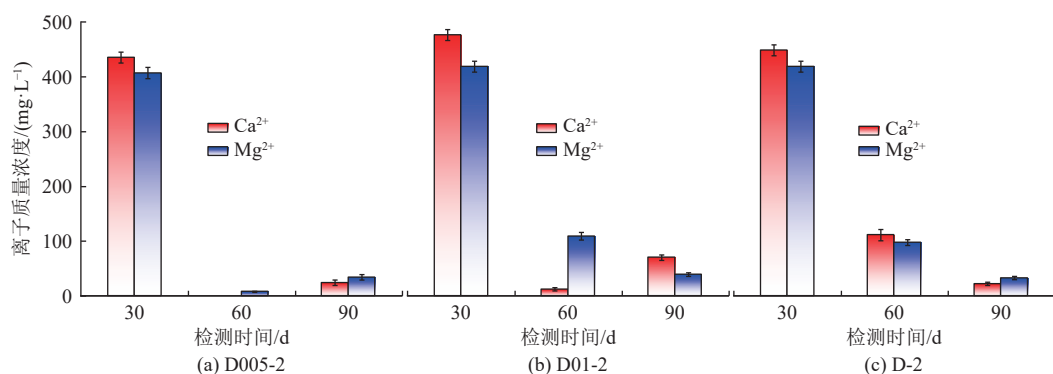


图 9 不同样品钙镁离子质量浓度变化趋势

Fig.9 Variation trends of the concentrations of calcium and magnesium ions in different coal samples

理结果,以相对压力 $p/p_0=0.5$ 为界, $\ln V$ 和 $\ln(\ln(p_0/p))$ 呈现出 2 种不同的斜率,且两者均拟合较好,相关系数 R^2 多数大于 0.9。

根据 p/p_0 将煤的孔隙分形维数分为 2 部分,低压段 ($0 < p/p_0 < 0.5$) 和高压段 ($1.0 > p/p_0 > 0.5$),分别对应分形维数 D_1 和 D_2 , D_1 可表征孔隙表面粗糙程度, D_2 可表征孔隙结构复杂程度。低压段孔隙以 10 nm 的吸附孔为主, D_1 为 2.516 94~2.707 44, 平均为 2.607 09; 高压段孔隙以渗流孔为主, D_2 为 2.412 62~2.486 92, 平均为 2.449 94。如图 11 所示, 低压环境下, CO_2 注入越多, D_1 总体增大, D_2 总体减小, 表明煤微孔表面粗糙程度增大, 大中孔隙结构复杂程度或非均质化程度减小, 考虑主要与微生物降解和碳酸盐沉淀形成的双重作用有关。

3 结论

(1) 煤微生物降解气化实验结果显示, 注入低压 CO_2 量越多, 越不利于 CH_4 的产出, 对其产生了抑制作用, H_2 的注入可以有效缓解这种抑制作用, 促进 CH_4 的产出, 随着 H_2 的参与, 产气途径也发生了改变, 乙酸发酵和 CO_2 还原同时存在, 这表明生化甲烷的产出途径可以根据环境的改变而做出快速调节。

(2) 在整个发酵过程中, 细菌中 *S50_wastewater_sludge_group* 菌属始终为优势菌属, 它与 *unclassified_W27* 菌属均呈现上升趋势, 认为与后期 H_2 的注入有关, 促进了它们的生长代谢。古菌中甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*) 占比最大, 尤其是注入低压 CO_2

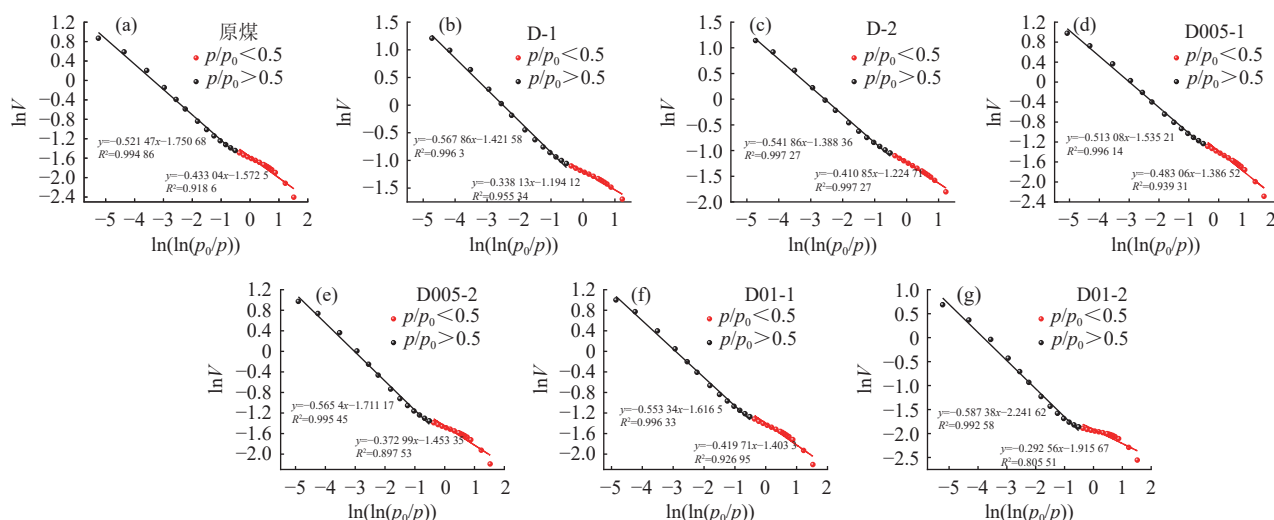


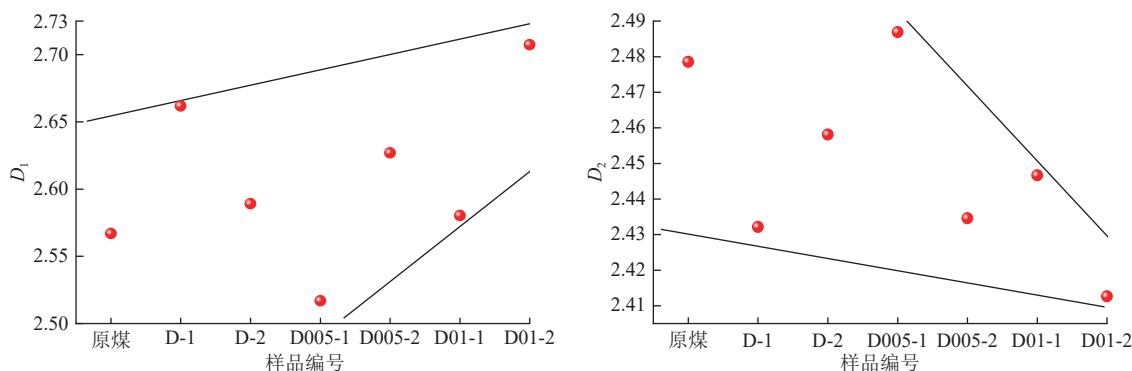
图 10 液氮吸附数据分形特征

Fig.10 Fractal characteristics of liquid nitrogen adsorption data

表 5 煤孔隙分形维数计算结果

Table 5 Calculation results of the fractal dimensions of coal pores

样品编号	相对压力 $p/p_0 < 0.5$			相对压力 $p/p_0 > 0.5$		
	K_1	D_1	R^2	K_2	D_2	R^2
原煤	-0.433 04	2.566 96	0.918 60	-0.521 47	2.478 53	0.994 86
D-1	-0.338 13	2.661 87	0.955 34	-0.567 86	2.432 14	0.996 30
D-2	-0.410 85	2.589 15	0.997 27	-0.541 86	2.458 14	0.997 27
D005-1	-0.483 06	2.516 94	0.939 31	-0.513 08	2.486 92	0.996 14
D005-2	-0.372 99	2.627 01	0.897 53	-0.565 40	2.434 6	0.995 45
D01-1	-0.419 71	2.580 29	0.926 95	-0.553 34	2.446 66	0.996 33
D01-2	-0.292 56	2.707 44	0.805 51	-0.587 38	2.412 62	0.992 58

图 11 分形维数 D_1 和 D_2 随注入 CO₂ 压力增大方向的变化趋势Fig.11 Variation trends of fractal dimensions D_1 and D_2 in the direction of increase in the CO₂ injection pressure

有助于 *Methanobacterium* 丰度的增加, 注入 H₂ 后为其提供电子, 使得 *Methanobacterium* 保持较高的丰度, 但随着 H₂ 的消耗, 其丰度在发酵末期有所降低。 *Methanosarcina* 由于可以进行多途径代谢, 其丰度在发酵体系中有增大趋势。此外, *Methanoculleus* 通过氢营养型途径产出甲烷, 后期因为没有 H₂, 无法利用 CO₂, 很快受到抑制, 其丰度快速衰减。

(3) 在低压 CO₂ 注入较多情况下, 煤吸附能力、最

大吸附量以及总孔容和比表面积呈现降低现象, 表明低压 CO₂ 注入不利于微生物降解煤, 同时微生物对 10 nm 以内的微孔改造更显著, 对大中孔影响较小, 微孔扩孔现象更加明显。由于微生物降解和钙镁等阳离子析出形成碳酸盐沉淀的双重作用, 使得分形维数 D_1 增大, D_2 减小, 煤的微孔表面粗糙度增加, 大中孔隙结构均质化程度增大。

符号注释:

C 为常量; D 为分形维数; K 为 $\ln V$ 和 $\ln(\ln(p_0/p))$ 双对数曲线的斜率, 与 D 呈线性关系, $D=K+3$; p 为吸附平衡压力, MPa; p_0 为气体吸附的饱和蒸气压, MPa; V 为平衡压力下吸附气体体积, cm^3/g ; V_0 为单分子层吸附气体体积, cm^3/g 。

利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

参考文献(References)

- [1] 谢和平, 任世华, 谢亚辰, 等. 碳中和目标下煤炭行业发展机遇[J]. 煤炭学报, 2021, 46(7): 2197–2211.
XIE Heping, REN Shihua, XIE Yachen, et al. Development opportunities of the coal industry towards the goal of carbon neutrality[J]. Journal of China Coal Society, 2021, 46(7): 2197–2211.
- [2] 苏现波, 夏大平, 赵伟仲, 等. 煤层气生物工程研究进展[J]. 煤炭科学技术, 2020, 48(6): 1–30.
SU Xianbo, XIA Daping, ZHAO Weizhong, et al. Research advances of coalbed gas bioengineering[J]. Coal Science and Technology, 2020, 48(6): 1–30.
- [3] 简阔, 傅雪海, 韩作颖, 等. 煤制生物气产出规律及其同位素分馏效应[J]. 煤炭学报, 2020, 45(7): 2602–2609.
JIAN Kuo, FU Xuehai, HAN Zuoying, et al. Production law of biogenic gas made from coal and its isotope fractionation effect[J]. Journal of China Coal Society, 2020, 45(7): 2602–2609.
- [4] JIAN Kuo, FU Xuehai, CHEN Zhaoying, et al. Organic geochemical characteristics of coal biogasification[J]. *Fuel*, 2022, 330: 125637.
- [5] 郭红玉, 宋博, 邓泽, 等. 废弃油脂促进褐煤转化生物甲烷效果与机理[J]. 煤炭学报, 2023, 48(6): 2431–2440.
GUO Hongyu, SONG Bo, DENG Ze, et al. Effect and mechanism of biomethane conversion from lignite promoted by waste oil[J]. Journal of China Coal Society, 2023, 48(6): 2431–2440.
- [6] 夏大平, 廖佳佳, 陈振宏, 等. 生物产氢余煤再产甲烷的有利因素研究[J]. 煤田地质与勘探, 2024, 52(3): 56–63.
XIA Daping, LIAO Jiajia, CHEN Zhenhong, et al. Favorable factors in methane production from residual coal post-biohydrogen generation[J]. Coal Geology & Exploration, 2024, 52(3): 56–63.
- [7] 苏现波, 王乾, 于世耀, 等. 基于低负碳减排的深部煤系气一体化开发技术路径[J]. 石油学报, 2023, 44(11): 1931–1948.
SU Xianbo, WANG Qian, YU Shiyao, et al. Integrated development technology path for deep coal measure gas based on low-negative carbon emission reduction[J]. Acta Petrolei Sinica, 2023, 44(11): 1931–1948.
- [8] 苏现波, 赵伟仲, 王乾, 等. 煤层气井地联合抽采全过程低负碳减排关键技术研究进展[J]. 煤炭学报, 2023, 48(1): 335–356.
SU Xianbo, ZHAO Weizhong, WANG Qian, et al. Conception of key technologies for low-negative carbon emission reduction in the process of coalbed methane development from the CBM well, coal mine and goaf[J]. Journal of China Coal Society, 2023, 48(1): 335–356.
- [9] 张宇杰, 郭红光, 李治刚, 等. 超临界 CO_2 萃取提高褐煤生物甲烷产气模拟实验[J]. 煤炭学报, 2021, 46(10): 3278–3285.
ZHANG Yujie, GUO Hongguang, LI Zhigang, et al. Promoted microbial degradation of lignite by supercritical CO_2 extraction to enhance coalbed methane production[J]. Journal of China Coal Society, 2021, 46(10): 3278–3285.
- [10] 夏大平, 黄松, 张怀文. 铁镍离子组合对褐煤发酵产甲烷的影响[J]. 煤田地质与勘探, 2019, 47(6): 59–66.
XIA Daping, HUANG Song, ZHANG Huaiwen. Effects of iron-nickel ion combination on methane produced by lignite fermentation[J]. Coal Geology & Exploration, 2019, 47(6): 59–66.
- [11] 夏大平, 陈曦, 王闯, 等. 褐煤酸碱预处理-微生物气化联产 H_2 - CH_4 的实验研究[J]. 煤炭学报, 2017, 42(12): 3221–3228.
XIA Daping, CHEN Xi, WANG Chuang, et al. Experimental study on the production of H_2 - CH_4 from lignite jointly with acid-alkali pretreatment-microbial gasification[J]. Journal of China Coal Society, 2017, 42(12): 3221–3228.
- [12] 成雅彤, 宁舒苗, 郭红光, 等. H_2O_2 预处理联合生物厌氧降解对烟煤孔隙的影响[J]. 煤矿安全, 2021, 52(1): 8–12.
CHENG Yatong, NING Shumiao, GUO Hongguang, et al. Effect of H_2O_2 pretreatment combined with anaerobic biodegradation on pore structure of bituminous coal[J]. Safety in Coal Mines, 2021, 52(1): 8–12.
- [13] 鲍园, 安超. 基于 FE-SEM 的微生物降解煤岩孔隙演化特征[J]. 煤炭学报, 2022, 47(11): 4105–4112.
BAO Yuan, AN Chao. Evolution characteristics of coal pore structure by biodegradation based on FE-SEM[J]. Journal of China Coal Society, 2022, 47(11): 4105–4112.
- [14] 鲍园, 常佳宁, 刘向荣, 等. 煤层气生物工程关键预处理技术及其作用机制评述[J]. 煤田地质与勘探, 2022, 50(11): 103–114.
BAO Yuan, CHANG Jianing, LIU Xiangrong, et al. Key pretreatment technologies for coalbed gas bioengineering and review on their mechanism of action[J]. Coal Geology & Exploration, 2022, 50(11): 103–114.
- [15] 鲍园, 李争岩, 安超, 等. 多手段表征富油煤微生物厌氧发酵孔隙结构变化特征及机制[J]. 煤炭学报, 2023, 48(2): 891–899.
BAO Yuan, LI Zhengyan, AN Chao, et al. Multi-method characterization of pore structure evolution characteristics and mechanism of tar-rich coal by anaerobic fermentation[J]. Journal of China Coal Society, 2023, 48(2): 891–899.
- [16] GUPTA P, GUPTA A. Biogas production from coal via anaerobic fermentation[J]. *Fuel*, 2014, 118: 238–242.
- [17] 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.
- [18] GUO Hongyu, LI Yunsong, WANG Qian, et al. Feasibility analysis of the in situ conversion of biomethane in surface weathered coal[J]. *Fuel*, 2020, 268: 1–8.
- [19] SU Xianbo, ZHAO Weizhong, XIA Daping, et al. Experimental

- study of advantages of coalbed gas bioengineering[J]. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 2022, 102: 1–13.
- [20] XIA Daping, NIU Yunxia, TIAN Jixian, et al. Degradation metabolic pathway of low-rank coal using single hydrolytic bacteria[J]. *Fuel*, 2024, 364: 130917.
- [21] SONG Bo, XIA Daping, GUO Hongyu, et al. Effect of fat, oil and grease (FOG) on the conversion of lignite to biogenic methane[J]. *Fuel*, 2023, 331: 125367.
- [22] HARRIS S H, SMITH R L, BARKER C E. Microbial and chemical factors influencing methane production in laboratory incubations of low-rank subsurface coals[J]. *International Journal of Coal Geology*, 2008, 76(1/2): 46–51.
- [23] 苏现波, 汪露飞, 赵伟仲, 等. 超临界 CO₂ 参与下煤储层原位微生物甲烷化物理模拟研究[J]. *煤田地质与勘探*, 2022, 50(3): 119–126.
- SU Xianbo, WANG Lufei, ZHAO Weizhong, et al. Physical simulation of *in situ* microbial methanation in coal reservoirs with the participation of supercritical CO₂[J]. *Coal Geology & Exploration*, 2022, 50(3): 119–126.
- [24] WANG Lufei, SU Xianbo, ZHAO Weizhong, et al. Enhancement of biomethane production from coal by supercritical CO₂ extraction[J]. *Journal of CO₂ Utilization*, 2023, 74: 102545.
- [25] LI Saisai, XIA Daping, CHEN Zhenhong, et al. Experimental study on the change of coal structure and microbial community structure during supercritical-CO₂-H₂O-microorganisms-coal interaction process[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2023, 30: 103036.
- [26] RATHI R, PRIYA A, VOHRA M, et al. Development of a microbial process for methane generation from bituminous coal at thermophilic conditions[J]. *International Journal of Coal Geology*, 2015, 147: 25–34.
- [27] GALLAGHER L K, GLOSSNER A W, LANDKAMER L L, et al. The effect of coal oxidation on methane production and microbial community structure in Powder River Basin coal[J]. *International Journal of Coal Geology*, 2013, 115: 71–78.
- [28] ZHANG Ji, LIANG Yanna, PANDEY R, et al. Characterizing microbial communities dedicated for conversion of coal to methane *in situ* and *ex situ*[J]. *International Journal of Coal Geology*, 2015, 146: 145–154.
- [29] 降文萍, 宋孝忠, 钟玲文. 基于低温液氮实验的不同煤体结构煤的孔隙特征及其对瓦斯突出影响[J]. *煤炭学报*, 2011, 36(4): 609–614.
- JIANG Wenping, SONG Xiaozhong, ZHONG Lingwen. Research on the pore properties of different coal body structure coals and the effects on gas outburst based on the low-temperature nitrogen adsorption method[J]. *Journal of China Coal Society*, 2011, 36(4): 609–614.

(责任编辑 吴敏杰)