

# 生物气模拟实验

梁家骥<sup>1</sup> 肖 颀<sup>1</sup> 周煮虹<sup>2</sup> 戚厚发<sup>3</sup> 阎 霞<sup>3</sup>

(中国科学院微生物研究所, 北京)<sup>1</sup>

(青海石油勘探开发研究院, 西宁)<sup>2</sup>

(北京石油勘探开发研究院地质所, 北京)<sup>3</sup>

本文报道以天山湖底沉积物(腐殖物质)、泥炭作为底物在室内进行甲烷发酵生物气模拟实验。微生物利用底物的部分有机物质生成甲烷、二氧化碳和氢气。天山湖底沉积物、泥炭的甲烷产量分别为 $Y_{Ts} = 16.4L/kg$ ,  $Y_{Vs} = 185.9L/kg$ 和 $Y_{Ts} = 7.86L/kg$ ,  $Y_{Vs} = 352.55L/kg$ 。

**关键词** 生物气; 甲烷发酵; 泥炭

自然界存在的天然气有两种来源, 一种来自地质作用, 这种天然气一般埋藏深; 另一种是由微生物活动产生的天然气, 由于这种天然气埋藏浅, 分布广, 易于开发, 日益受到重视, 这种天然气约占世界总探明储量的20%以上<sup>[1]</sup>。我国早在50年代就曾对生物成因类型的“长江式气苗”进行过大量调查、勘探<sup>[2]</sup>。迄今已探明储量比较大的有柴达木盆地、辽河拗陷、珠江三角洲等地。为了进一步研究生物气的生成机制, 求得未成熟烃源岩生物气的产率, 为生物气资源预测提供依据, 我们在实验室内开展了生物气模拟实验。

## 材料与方 法

### (一) 生物气模拟实验装置

厌氧发酵装置有多种, 本试验采用了一种比较简便装置, 如图1所示: 它由500ml三角瓶(内装样品)(1); 橡皮塞(2); 细玻璃管(3); 盛饱和食盐溶液的三角瓶(4)组成。用排水集气法收集气体和测定产量。

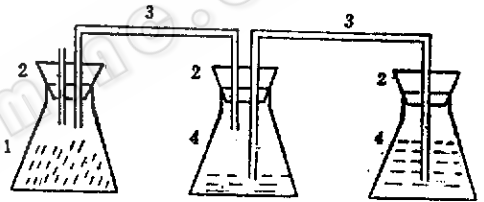


图1 生物气模拟实验装置

Fig.1 Simulated test apparatus of biogenic gases

### (二) 样品来源和接种物

1 样品来源: 天山腐殖物质; (枯枝, 树叶, 草); 北京小汤山地区埋藏30m深的泥炭。

2 接种物: 分别采自北京高碑店污水处理厂, 农村沼气池, 本实验室培养产甲烷活性污泥, 经富集后混和使用。

### (三) 厌氧发酵

称取一定量样品, 测定水分含量后, 装入500ml三角瓶中, 用无机盐培养液或自来水补充到400ml, 用0.5mol/L NaOH调pH至7。接种后, 盖好橡皮塞, 置30℃温室静止培养, 每天进行各项分析。对照瓶培养同上, 只是不加底物。

本文于1990年3月20日收到

无机盐培养液成份(%):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.1,  $\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.02,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.02,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.02,  $\text{NaCl}$  0.02,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.06, 微量元素<sup>[3]</sup> 1ml, 维生素<sup>[3]</sup> 1ml, 自来水100ml, pH 7。

#### (四) 分析方法

1. pH: 用pH试纸或ZD-2型自动电位滴定计测定。

2. 气体成份: 用SC-3A气相色谱仪, XWC-100/AB型长图自动平衡记录仪测定(四川分析仪器厂)。测定条件: 柱温80°C, 热导池60°C, 热导池桥流80mA, 载气为高纯氮, 流速50ml/min, 固定相TDX-02, 载气压力1.7kg/cm<sup>2</sup>, 进样量1ml, 衰减1/4—1/2或不衰减。用含量为50%纯甲烷作外标样。

3. 挥发性脂肪酸: 用GC-7AG气相色谱仪和岛津C-RIB记录仪(日本岛津公司生产)。测定条件: 氢火焰检测器FID, 选择范围10<sup>2</sup>, 信号衰减1/64, 固定相GDX-401(60—80目), 进样口温度220°C, 柱温210°C, 载气为高纯氮, 流速60ml/min, 氢气压力0.6kg/cm<sup>2</sup>, 空气压力0.5kg/cm<sup>2</sup>。用5%的H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>调样品pH至2, 取1ml进行测定。

4. 氧化-还原电位: 用ZD-2型自动电位测定仪, 铂电极做指示电极, 饱和甘汞电极作参比电极, 用标准液K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0.0033mol/L, K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 0.0033mol/L, KCl 0.1mol/L, 25°C, Eh-186mV, 对仪器进行校对, 取一定量的样品, 在氮气保护下测定。

5. 蛋白质: 称取一定量样品放入25ml的小烧杯中, 用7.5ml蒸馏水浸泡, 搅拌过夜(置冰箱), 过滤去泥再用2.5ml蒸馏水淋洗样品3次, 取样用Folin酚法测定血清蛋白质<sup>[4]</sup>。

6. 纤维素和木质素<sup>[5]</sup>: 样品风干,

粉碎通过1mm目筛, 取1g加入洗涤剂100ml(20g十六烷基三甲溴化铵溶于1000ml 1mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液)加热, 回流1h, 抽干洗涤, 再用丙酮洗3次, 在105°C下烘至恒重, 用Tecator纤维分析仪(瑞士)测定。

7. 有机碳: 取一定量的样品磨碎, 过100目筛, 称取0.1—1g样品, 放入100ml烧杯中, 慢慢加入5%盐酸溶液50ml, 在砂浴中加热(100°C)使液体慢慢蒸发, 把蒸发后剩余的1/3冷却, 抽滤放入80°C烘箱6—8h, 用W-12型碳测定仪(美国LECO)测定。

#### (五) 测定数据的处理

上述测定采用2个或2个以上的平行试验。微生物利用天山腐殖物质、泥炭产气的的能力, 参照沼气发酵常规分析使用的部分符号来表达<sup>[6]</sup>。以下列公式计算:

$$Y_{rs} = \frac{V}{TS} \quad (1)$$

式中  $Y_{rs}$ : 单位总固体产气量 (L/kg)

$V$ : 产气量(CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>)(L)

$TS$ : 总固体重量(kg)

$$VS = TSX(C_0 - C_1)\% \quad (2)$$

$VS$ : 微生物利用的有机碳(kg)

$C_0$ : 原有的有机碳

$C_1$ : 利用后剩余的有机碳

$$Y_{rs} = \frac{V}{VS} = \frac{V}{TSX(C_0 - C_1)\%} \quad (3)$$

$Y_{rs}$ : 微生物利用有机碳产气量

$$V_{max} = \frac{V}{TSX(C_0 - C_1)\% + (TSX C_0\%)} \quad (4)$$

$V_{max}$ : 有机碳全部被微生物转化所产气量

$$Y_{conv} = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad (5)$$

$Y_{conv}$ : 基质利用率

## 结果和讨论

### (一) 生物气模拟实验结果

由表1可知, 天山腐殖物质被微生物利用部分, 每公斤干物质产甲烷 188.94L, 这和国外报道<sup>[7]</sup> 每公斤干物质产甲烷195 L 相近。最大理论产气量是指在没有时间限制、没有抑制因子的适宜条件下, 微生

表 1 样品发酵产气结果

Table 1 The efficiency of biogas production with sample in anaerobic fermentation

样品 Sample	Biogas Total biogas (ml)	$Y_{Ts}$ (L/kg)	产 气 率 产 气 率 产 气 率 (L/kg·d)	$Y_{Ts}$ (L/kg)	产 气 率 产 气 率 产 气 率 (L/kg·d)	最大理论 产气量 最大 理论 产气 量 (L/Kg)	
1 2	CH <sub>4</sub>	410	16.4	0.328	188.94	3.78	1332
		157.24	2.503	0.262	352.55	11.75	1348.87
1 2	CO <sub>2</sub>	62.57	5.114	0.05	28.84	0.576	203.31
		102.28		0.170	229.3	7.64	775.03
1 2	H <sub>2</sub>	未测					
		未测					

1. 天山腐殖物质(枯枝、树叶、草)  
Tianshan plant residual, 20g
  2. 泥炭(黑, 硬块)  
Peat, 20g
- 总气量指样品本身产气量, 已扣除对照产气量  
Biogas production with sample(itself)

表 2 样品处理前后各种成份的变化

Table 2 Change of componets of sample before and after treatment in anaerobic fermentation

样品 Sample	发 酵 Fermentat- ion	氧 化 还 原 电 位 En(mv)	蛋 白 质 Protein (ug/g)	纤 维 素 木 质 素 Cellulose, Lignin(%)	有 机 碳 Organic (arbond%)
天山腐殖物 质 Tianshan plant resi- dual	Before	—	265	45.6	28.20
	After	—	140	31.6	19.52
	Utility	—	47.16	30.70	30.78
泥 炭 Peat	Before	-90	105	34.4	19.18
	After	-160	95	31.1	16.90
	Utility	—	9.52	9.5	11.65

物转化所有有机碳生成气体的量。

### (二) 样品厌氧发酵前后各种成份变化

表2说明, 样品经过甲烷发酵后各种成份发生的变化, 微生物利用样品中蛋白质、纤维素、木质素等有机物质致使有机碳含量降低。微生物对天山腐殖物质中蛋白质、木质素、纤维素和有机碳的利用率比泥炭高; 此外无论是天山腐殖物质还是泥炭, 微生物对纤维素和木质素利用率同

表 3 厌氧发酵中挥发性脂肪酸的变化

Table 3 Change of volatile fatty acids in anaerobic fermentation

酸 Volatile fatty acids(g/L)	天山腐殖物质 Tianshan plant residual(g/L)	泥炭 Peat(g/L)
Acetic acid	0.0318(1)*	0.5072(1)*
	0.1356(2)	0.9189(2)
	0.0189(3)	0.0263(3)
Propionic acid	0.0371(1)	0.1245(1)
	0.0671(2)	0.7193(2)
	0.0080(3)	0.0283(3)
Iso-butyric acid	0(1)	0.0731(1)
	0(2)	0.0848(2)
	0(3)	0.0023(3)
Butyric acid	0.0158(1)	0.099(1)
	0.1610(2)	0.177(2)
	0.0128(3)	0.008(3)
Iso-petanoic acid	0(1)	0.1387(1)
	0.0072(2)	0.1380(2)
	0(3)	0.0023(3)
Petanoic acid	0(1)	0(1)
	0.0080(2)	0.063(2)
	0(3)	0.0029(3)
Hexanoic acid	0(1)	0(1)
	0.0088(2)	0(2)
	0(3)	0.0023(3)
Total acids	0.0670(1)	0.9425(1)
	0.3584(2)	3.0139(2)
	0.0269(3)	0.0656(3)

\* (1)(2)(3)分别是发酵初期、旺盛期、后期所产挥发性脂肪酸

(1),(2)and(3) represent volatile fatty acids of fermentation at early, vigorous and last period

有机碳利用率接近，说明有机碳主要成份是木质素和纤维素。

另外天山腐殖物质、泥炭和对照在发酵前pH值为7，发酵中对照pH值不变，而样品天山腐殖物曾下降到6.7、泥炭下降到6.3，这是因为水介产酸菌利用样品中有机物产酸的结果，而随着甲烷生成而pH值又回升到7。

### (三) 样品发酵中产生挥发性脂肪酸的变化

表3 说明，在厌氧发酵中微生物利用样品的有机质生成挥发性脂肪酸，这是生成甲烷的重要前体。发酵旺盛期生成量最大，随着有机物消耗而逐渐减少，这和生成甲烷的规律是一致的。

### (四) 天山腐殖物质发酵中 CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub> 的产量及其含量的变化

图 2、3 说明天山腐殖物质在厌氧发酵中，CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub> 的产生及其含量的变化，表明它们都有一个产气旺盛期，这个时期内日产气量最高，二者有内在联系，变化规律是一致的。这和微生物利用有机物质有密切关系，一般是随着微生物的利

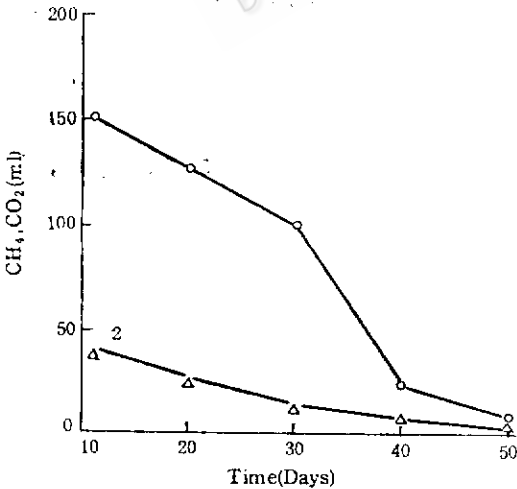


图 2 天山腐殖物质在发酵中甲烷和二氧化碳日产量  
Fig.2 Daily production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> with Tianshan plant residual in anaerobic fermentation  
1. CH<sub>4</sub>; 2. CO<sub>2</sub>

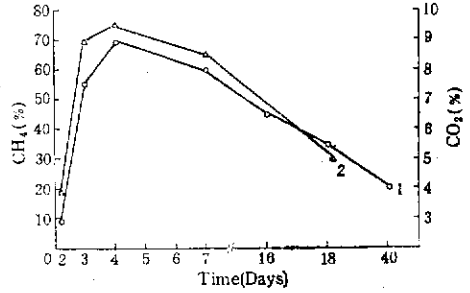


图 3 天山腐殖物质在发酵中甲烷和二氧化碳含量的变化  
Fig.3 Change of contents of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> in biogas produced with Tianshan plant residual in anaerobic fermentation  
1. CH<sub>4</sub>; 2. CO<sub>2</sub>

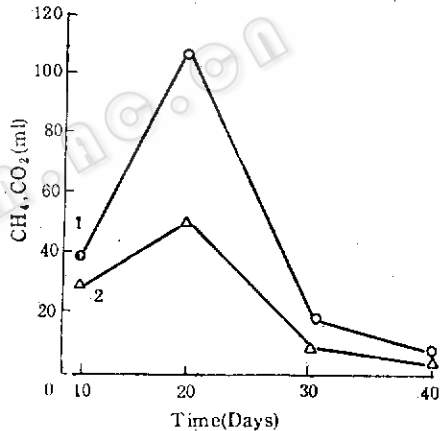


图 4 发酵泥炭中CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>日产量的变化  
Fig.4 Daily production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> with peat in anaerobic fermentation  
1. CH<sub>4</sub>; 2. CO<sub>2</sub>

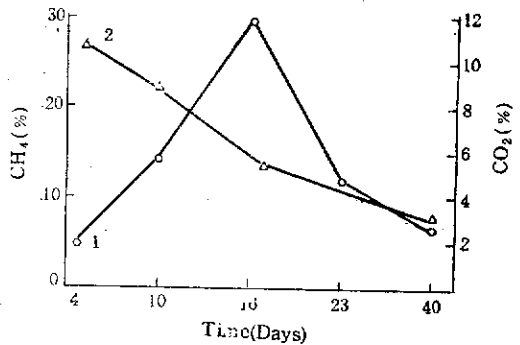


图 5 发酵泥炭中甲烷和二氧化碳含量的变化  
Fig.5 Change of contents of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> in biogas produced with peat in anaerobic fermentation  
1. CH<sub>4</sub>; 2. CO<sub>2</sub>

用, 有机物质减少, 而使发酵缓慢直至停下来。

### (五) 厌氧发酵泥炭所产 $\text{CH}_4$ 、 $\text{CO}_2$ 的产量及其含量的变化

图 4、5 的结果表明, 变化规律同天

山腐殖物质的相似, 但日产气量最高产生时间不同,  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  的含量不同, 这是因为微生物利用不同基质及其基质中 C、N 含量不同造成的。

## 参 考 文 献

- [1] Rice, D. D. et al.: AAPG, 65: 5—25, 1981.
- [2] 戚厚发, 载金星: 天然气工业, 2: 35—41, 1982.
- [3] 刘奉太: 沼气发酵微生物及厌氧技术, 科学出版社, p108, 1990.
- [4] 北京大学生物系生物化学教研室编: 生物化学实验指导, 人民教育出版社, p73, 1979.
- [5] Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists, 14th ed., 7.074, 1980.
- [6] 中国科学院成都生物研究所“沼气发酵常规分析”编写组: 沼气发酵分析, 北京科学出版社, 1984.
- [7] Aubart, C.: Agriculture, 450: 113—118, 1981.

## Simulated Test of Biogenic Gases

Liang Jiayuan<sup>1</sup> Xiao Xie<sup>1</sup> Zhuo Zhuhong<sup>2</sup> Qi Houfa<sup>3</sup> Run Xia<sup>3</sup>

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)<sup>1</sup>

(Scientific Research Institute of Petroleum Exploration and Development, Xining.)<sup>2</sup>

(Scientific Research Institute of Petroleum Exploration and Development, Beijing)<sup>3</sup>

This paper describes simulated test of biogenic gases during methane fermentation using Tianshan plant residual and Beijing peat as substrates. Methanogenic bacterium produces methane and carbon dioxide utilizing a part of organic substances existed in the substrates. Amount of methane produced by the bacterium was  $Y_T = 16.4\text{L/kg}$ ,  $Y_{\infty} = 185.94\text{L/kg}$ , respectively when Tianshan plant residual was used as substrate. Amount of methane produced by the bacterium was  $Y_T = 7.86\text{L/kg}$ ,  $Y_{\infty} = 352.55\text{L/kg}$ , respectively, when peat was used as substrate.

### Key words:

Biogenic gas; peat; methane fermentation