

氧化还原电位对低煤阶煤生物甲烷生成的影响

夏大平¹ 陈鑫¹ 苏现波¹ 吴昱²

1.河南理工大学能源科学与工程学院 2.河南理工大学资源环境学院

夏大平等.氧化还原电位对低煤阶煤生物甲烷生成的影响.天然气工业,2012,32(11):107-110.

摘 要 氧化还原电位(Eh)是煤层生物甲烷生成的重要控制因素之一。为了解其对煤层生物甲烷产出的影响以及产甲烷的动力学过程,在实验室采用 -102 mV 、 -153 mV 、 -208 mV 、 -284 mV 、 -315 mV 这5个氧化还原电位值,对河南义马低煤阶煤样品进行了生物甲烷模拟产出实验,采用气相色谱仪对不同反应阶段生成气体的成分及生成量进行检测,同时对菌种源中微生物进行培养计数。结果表明:①不同 Eh 条件下的实验均有甲烷的生成,氧化还原电位较低时产甲烷菌的繁殖更加快速,在 -284 mV 时生物甲烷的浓度最大, -102 mV 时最小;②通过平板计数法,分析了产甲烷过程和细菌生长动力学机理——整个产甲烷生成过程也是微生物生长代谢的过程,间接证明了产气量大小变化的原因。结论认为, Eh 对于煤层生物甲烷的生成具有重要的控制作用。

关键词 氧化还原电位 低煤阶 煤层 生物甲烷 生成 影响 微生物 平板计数法

DOI:10.3787/j.issn.1000-0976.2012.11.025

煤层生物甲烷是微生物在适宜的温度、介质条件下对低煤阶煤作用生成的以甲烷为主的气体。由于氧化还原电位(Eh)对微生物活性有着明显的影响作用^[1-4],因而对生物甲烷的生成也会产生一定程度的影响^[5-9]。Hae Sung Jee 等发现甲烷菌的最佳生长速率和产甲烷速率在 Eh 介于 $-370\sim -500\text{ mV}$ 时为最高^[10],Fetzerh 和 Conrad 指出 Eh 为 $+100\text{ mV}$ 时可抑制甲烷菌生成甲烷^[11],但这些研究仅限于解决农村能源紧缺与污水处理问题的需要^[12-14],而对于 Eh 影响煤降解生物产甲烷却鲜有报道。

为了解 Eh 对生物气产出的影响及产甲烷的动力

学过程,笔者在模拟低煤阶煤层生物甲烷产出的实验时,对不同 Eh 条件下的甲烷生成量进行了检测,同时探讨了煤层甲烷生成能力及细菌生长代谢动力学机理。

1 实验材料和方法

1.1 实验用煤样

实验所用煤样为采自河南义马常村矿的中侏罗统义马组 2 层长焰煤,煤质分析结果如表 1 所示。实验采用沼液作为外加菌种源^[13],采自焦作市马村区农家沼气池。煤样粉碎至 60 目,充分烘干后备用。

表 1 煤质分析结果表

工业分析			元素分析					R_v
M_{ad}	A_{ad}	V_{daf}	C	H	O	N	S	
5.22%	11.46%	40.52%	78.31%	4.89%	14.83%	1.33%	0.64%	0.56%

注:表中的数值均为重量分数

基金项目:国家自然科学基金“煤层生物甲烷的形成机理研究”(编号:40972109)、国家自然科学基金青年基金“二氧化氯对煤储层的表面改性及增透机理研究”(编号:41002047)、河南省教育厅重点项目“煤储层温度下快速破胶压裂液体系开发研究”(编号:12A440005)。

作者简介:夏大平,女,1983年生,实验师,硕士;2009年毕业于河南理工大学;目前从事煤层气地质学与煤层气勘探开发领域的研究工作。地址:(454000)河南省焦作市高新区世纪路 2001 号河南理工大学。E-mail:xiadp22@hpu.edu.cn

1.2 实验室模拟生物甲烷生成实验

笔者主要研究不同氧化还原电位条件下生物甲烷的生成量及其变化规律,并探讨甲烷在不同反应阶段的生成方式。

1.2.1 产气实验

为探讨不同 Eh 对 CH_4 生成量的影响,本实验以向反应样品加入固体 Na_2S 的方法调节 Eh 。称取处理后的煤样若干份,10 g/份,每份加入 100 mL 沼液和 20 mL 白腐真菌菌液。每个样品做 2 个平行样,实验结果取其平均值。样品分装于 250 mL 锥形瓶中,连接排水集气装置后迅速密封,并做未加煤的空白样以对比,实验结果已去除空白样产气干扰,样品分装情况如表 2 所示。

表 2 不同 Eh 值样品分装表

样品	Eh/mV	样品	Eh/mV
1号	-102	4号	-284
2号	-153	5号	-315
3号	-208	—	—

样品密封后放入恒温生化培养箱中,35 °C 恒温下培养 60 d。由于本实验以沼液做外加菌种源,为排除沼液的内产气量,实验另增设 2 个沼液平行样,实验结果中的 CH_4 生成量为除去沼液影响后煤转化产出的 CH_4 量。

1.2.2 细菌的平板计数法实验

在产气实验结束后,对每组反应瓶中的细菌进行分离培养,然后进行平板计数。由于矿井水中菌种浓度较低,故采用活菌计数法对主要菌种进行计数。活菌计数法,旨在让每个活细菌在适宜的培养基和良好的生长条件下都可以通过生长形成菌落。

具体操作步骤如下:

- 1) 配置培养基和生理盐水。
- 2) 将配好的药品、试剂等高压灭菌。
- 3) 取出灭菌后的物品,放入厌氧工作站内,倒平板,待平板冷却后备用。
- 4) 用稀释倍数法把细菌接种到相应的平板上。
- 5) 将接种好的平板置于厌氧罐内,利用多功能智能厌氧装置抽真空后充入混合气(甲烷、氢气和氮气),于恒温培养箱(37 °C)中,进行为期 90 d 的培养。

1.3 检测方法

气体的生成量、成分及浓度的检测利用北分—瑞利 SP-2100 型气相色谱仪。采用进样针手动进样,每次取气体样 1 mL,每个样进 2 次,取平均值以减少手动进样误差。

2 实验结果与分析

实验结果表明:在实验室条件下,样品在不同 Eh 条件下均可持续生成 CH_4 ,同时生成了 CO_2 、 N_2 及其他气体。不同 Eh 条件下气体生成量及气体浓度如表 3,图 1、2 所示。

表 3 不同 Eh 值样品气体生成量表

样品	CH_4		CO_2 及其他气体		气体总量/ ($mL \cdot g^{-1}$)
	浓度	生成量/ ($mL \cdot g^{-1}$)	浓度	生成量/ ($mL \cdot g^{-1}$)	
1号	65.31%	3.7879 8	34.00%	2.012 02	5.8
3号	75.48%	12.378 72	24.52%	4.021 28	16.4
4号	79.04%	22.605 44	20.96%	5.994 56	28.6
5号	85.44%	18.796 80	14.56%	3.203 20	22.0

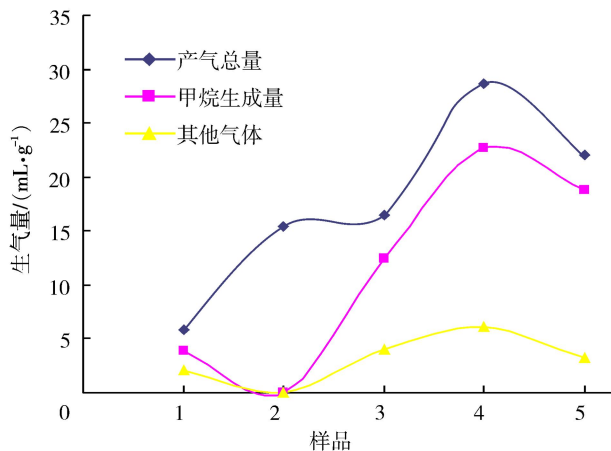


图 1 不同 Eh 下气体生成量图

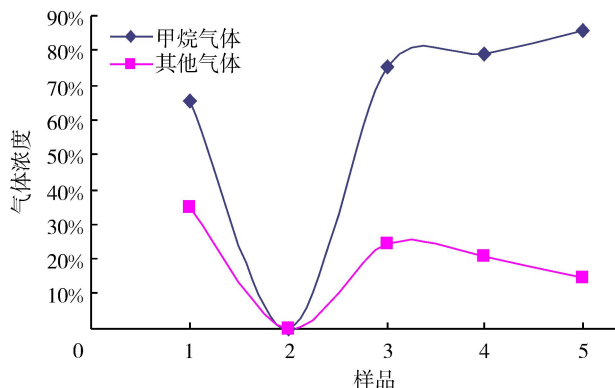


图 2 不同 Eh 时气体生成浓度图

1) 不同 Eh 条件下,煤样的气体生成总量不同。随 Eh 的降低,产气量也逐渐增大,在 Eh 为 -284 mV 和 -315 mV 时,产气量最多,分别为 28.6 mL/g 和

22.0 mL/g, E_h 为 -102 mV 时,产气量最少,为 5.8 mL/g,这说明随着 E_h 的降低,产气总量基本趋势是变大的。

2)不同 E_h 条件下,煤样的 CH_4 生成量和浓度与生成气体总量的变化趋势类似,从 -102 mV 到 -315 mV,呈总体逐渐上升趋势,在 -284 mV 时和 -315 mV 时分别为 22.61 mL/g 和 18.79 mL/g。在 -284 mV 和 -315 mV 时,出现了气体总量和甲烷的产量稍微减少的情况,这可能是随着氧化还原电位的减少,由于在调节相对较低的 E_h 值时所需用的药品硫化钠的投放量也相应增大,而硫化钠的过多投入对细菌有一定的毒害作用,造成产甲烷菌的生长和代谢受到抑制,酶作用动力不足,降解活性减弱,所以导致产气量反而相对减少。

3) E_h 值对菌种总量的影响。实验结束后对反应瓶中的细菌进行接种培养,并采用活菌计数法对菌种量进行计数得出表 4。

表 4 E_h 值对菌种生长总数的影响情况表

E_h 值	菌数	E_h 值	菌数
-102 mV①	2	-102 mV②	2
-153 mV①	17	-153 mV②	8
-208 mV①	28	-208 mV②	30
-284 mV①	48	-284 mV②	42
-315 mV①	38	-315 mV②	36

注:①和②分别代表同一氧化还原电位下不同的培养皿

从接种培养的结果可以看出,细菌的生长个数与氧化还原电位有一定的关系,在高氧化还原电位时产甲烷菌的数量较少,随着氧化还原电位的降低,基本趋势是细菌生长的个数越来越多。由此认为,氧化还原电位是产甲烷发酵的重要限制因子,较低的适合的氧化还原电位可以促进产甲烷菌体内的酶系的活性,使其调整代谢方式和速率,加快生长繁殖。另对 -284 mV 的氧化还原电位值的产甲烷菌进行为期 90 d 的培养观察,菌种的平板培养结果如图 3~5 所示。

微生物的生长特性与生物甲烷的产出过程密切相关的;经过厌氧处理,放入 37 °C 的恒温培养箱;大约 7 d 细菌开始适应繁殖并逐渐生长,如图 4 星点状的细菌分布;再经过 30 d 左右进入对数生长期后,细菌的生长速度增至最大,细菌数量以几何级数增加,细菌数逐渐连成一片,由于细菌的快速繁殖消耗了大量的营养物质,致使培养基浓度降低,进入稳定期。稳定期的细菌总数达到最大值,并恒定一段时间,从图 5 可看出



图 3 平板涂布法计数图



图 4 对数期产甲烷菌图

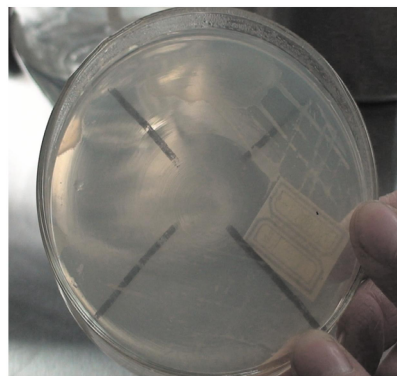


图 5 稳定期产甲烷菌图

呈树枝状的为稳定期,新生的细菌数和死亡的细菌数相当。继稳定期之后,大约 60 d 培养基营养成分被耗尽,细菌因缺乏营养而利用储存物质进行内源呼吸,死菌数大于新生菌数,细菌群体进入衰亡期。试验图示证明:整个产甲烷过程也是微生物生长代谢的过程。

3 结论

笔者在实验室条件下模拟了不同 E_h 条件下生物甲烷生成的情况,对不同条件下产出的气体及甲烷含

量进行分析,并对甲烷在不同反应阶段的生成方式进行了探讨,实验结果表明:

1) *Eh* 对甲烷的生成具有重要的影响作用,较低的氧化还原电位对产甲烷菌的生长有利, *Eh* 在 -284 mV 时最适宜甲烷的生成,此时生成的气体总量和甲烷气体浓度为最大。

2) 通过对实验结束后反应瓶中的产甲烷菌进行培养计数,经几十天的培养和连续观察也可以得出产甲烷菌生长代谢的全过程,间接证明了产气量最大的原因。

参 考 文 献

- [1] APHA .Standard methods for the examination of water and wastewater[S]. Washington DC : American Public Health Association,1998 .
- [2] DIAS J M L , LEMOS P C , SERAFIM L S , et al .Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures :from the substrate to the final product[J]. *Macromolecular Bioscience* ,2006 ,6(11) :885-906 .
- [3] 刘朋波,徐佳杰,付水林,等 .1,3-丙二醇发酵中氧化还原电位的变化与控制[J]. *化学与生物工程* ,2008 ,25(3) :45-48 .
- [4] 郑继岱,徐国谦,储炬,等 .利用氧化还原电位调控乳酸发酵[J]. *生物加工过程* ,2008 ,5(6) :73-77 .
- [5] 李明宅,张洪年,刘华,等 .生物气模拟试验的进展[J]. *石油与天然气地质* ,1996 ,17(2) :117-122 .
- [6] SFIDH J , EITEMAN M A .Influence of redox potential on product distribution in *Clostridium thermosuccinogenes* [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology* ,1999 (82) :91-101 .
- [7] 李明宅,张辉 .煤的厌氧降解产气作用[J]. *天然气工业* ,1998 ,18(2) :10-12 .
- [8] KASTNER J R , EITEMAN M A , LEE S A .Effect of redox potential on stationary-phase xylitol fermentations using *Candida tropicalis* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology* ,2003 (63) :96-100 .
- [9] 关德师 .甲烷菌的生存条件与生物气[J]. *天然气工业* ,1990 ,10(5) :13 .
- [10] HAE SUNG JEE , NISHIO NAOMICHI , NAGAI SHIRO .Influence of redox potential on biomethanation of H₂ and CO₂ by methanobacterium thermoautotrophicum in Eh-Stat batch cultures[J]. *Journal of General Applied and Microbiology* ,1987 ,33(5) :401-408 .
- [11] FETZER SILKE , CONRAD RALF .Effect of redox potential on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri* [J]. *Archives of Microbiology* ,1993 ,160(2) :108-113 .
- [12] BOUALLAGUI H , CHEIKH R BEN , MAROUANI L , et al .Mesophilic biogas production from fruit and vegetable waste in a tubular digester[J]. *Bioresource Technology* ,2003 ,86(1) :85-89 .
- [13] APHA .Standard methods for the examination of water and wastewater [S]. Washington DC : American Public Health Association,1998 .
- [14] 张英,王晓波,李瑾,等 .不同类型有机质生物产甲烷模拟实验研究[J]. *石油实验地质* ,2009 ,31(6) :633-636 .

(修改回稿日期 2012-09-05 编辑 居维清)