



现代生物质能源
技术丛书

沼气发酵 检测技术

苏有勇 编著



冶金工业出版社
Metallurgical Industry Press



现代生物质能源
技术丛书

沼气发酵检测技术

苏有勇 编著

北 京
冶金工业出版社
2011

内 容 提 要

本书重点介绍了沼气发酵过程中相关项目的检测方法和技术手段,内容包括沼气发酵原料的基本指标分析、沼气发酵过程的指标检测以及沼气发酵残留物的营养成分和生物活性物质分析等。

本书具有很强的实用性,可供从事生物质能相关领域的研究人员参考,也可供高等院校相关专业的师生参阅。

图书在版编目(CIP)数据

沼气发酵检测技术/苏有勇编著. —北京:冶金工业出版社, 2011.3

(现代生物质能源技术丛书)

ISBN 978-7-5024-5461-6

I. ①沼… II. ①苏… III. ①甲烷—发酵—检测—技术 IV. ①S216.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 006430 号

出 版 人 曹胜利

地 址 北京北河沿大街嵩祝院北巷 39 号, 邮编 100009

电 话 (010)64027926 电子信箱 yjchs@cnmip.com.cn

责任编辑 张熙莹 谢冠伦 美术编辑 彭子赫 版式设计 孙跃红

责任校对 刘 倩 责任印制 张祺鑫

ISBN 978-7-5024-5461-6

北京百善印刷厂印刷; 冶金工业出版社发行; 各地新华书店经销

2011 年 3 月第 1 版, 2011 年 3 月第 1 次印刷

850mm × 1168mm 1/32; 4.75 印张; 125 千字; 141 页

18.00 元

冶金工业出版社发行部 电话:(010)64044283 传真:(010)64027893

冶金书店 地址:北京东四西大街 46 号(100010) 电话:(010)65289081(兼传真)

(本书如有印装质量问题,本社发行部负责退换)

前 言

沼气是有机质在厌氧环境中保持一定水分、温度和酸碱度的情况下，经过多种微生物的共同作用，发酵分解而产生的一种可燃气体，主要成分为甲烷和二氧化碳。沼气是一种方便清洁的气体燃料，可以直接用于炊事和照明，也可以用于供热、烘干、发电。在沼气发酵过程中产生的残留物沼液和沼渣中富集了丰富的养分，如氮、磷、钾、锌、铁、钙、镁、铜、硼等营养元素；同时，在沼气发酵过程中，复杂的厌氧微生物代谢产生了氨基酸、B族维生素、各种水解酶类、植物激素、腐殖酸等许多生物活性物质。沼气发酵原料的分析、发酵过程的监测以及发酵残留物的检测对沼气发酵的启动、运行以及发酵产物的综合利用具有十分重要的意义。本书是作者在几年来从事沼气发酵技术研究的基础上，收集和参阅了国内许多相关领域的检测技术资料，在注重实用性、采用经典分析方法的同时，采用了大量相关学科领域最新的分析方法和检测技术编写而成的。

本书立足于沼气发酵过程中涉及的相关项目的检测技术和手段，主要包括：绪论、沼气发酵原料分析、沼气发酵过程分析和沼气发酵残留物分析等。本书可供从事生物质能相关领域的研究人员参考，也可供高等院校相关专业的师生参阅。

本书的编写得到了昆明理工大学冶金节能减排教育部工

II 前 言

程研究中心全体同仁和云南师范大学张无敌教授的支持和帮助，在此一并致以真挚的谢意。

由于编者水平有限，书中难免有不妥和疏漏之处，敬请广大读者给予批评指正。

作 者
2010 年 9 月

目 录

1 绪论	1
1.1 沼气的起源	1
1.2 沼气的性质	1
1.3 沼气发酵的基本原理	2
1.3.1 沼气发酵的微生物	3
1.3.2 沼气发酵机理	3
1.4 沼气发酵检测的意义	4
1.5 检测试样的采集与保存	4
1.5.1 正确采样必须遵循的原则	5
1.5.2 不同类别样品的取样原则	5
1.5.3 试样的保存	7
1.6 检测项目的设置与测定顺序	8
1.6.1 分析项目的设置	8
1.6.2 分析顺序	9
1.7 测定误差与数据处理	10
1.7.1 准确度与精密度	10
1.7.2 误差的来源和性质	12
1.7.3 准确度与精密度的关系	13
1.7.4 有效数字及计算规则	14
2 原料分析	18
2.1 水分的测定	18
2.2 总固体、挥发性固体和灰分的测定	19
2.2.1 总固体的测定	19
2.2.2 挥发性固体和灰分的测定	20

2.3	原料碳氮比的测定	21
2.3.1	碳的测定	21
2.3.2	氮的测定	24
2.3.3	碳氮比的计算	28
2.4	粗脂肪的测定	29
2.5	纤维素、半纤维素和木质素的测定	32
2.6	有机废水的特性指标分析	37
2.6.1	pH 值的测定	37
2.6.2	悬浮物	41
2.6.3	五日生化需氧量的测定	42
2.6.4	化学耗氧量的测定	53
3	沼气发酵过程分析	56
3.1	pH 值的测定	56
3.2	挥发性总脂肪酸含量的测定	58
3.2.1	蒸馏法	58
3.2.2	比色法	60
3.3	碱度的测定	62
3.3.1	溴甲酚绿-甲基红指示剂滴定法	63
3.3.2	电位滴定法	65
3.4	氧化还原电位的测定	66
3.5	硫化物的测定	70
3.5.1	碘量法	71
3.5.2	亚甲蓝比色法	75
3.6	原料产气潜力的测定	78
3.7	沼气组成成分分析	80
3.8	水力滞留时间和容积有机负荷率的计算	87
3.9	酶活性测定	88
3.9.1	蛋白水解酶的测定	88
3.9.2	纤维素水解酶和半纤维素水解酶的测定	90



3.9.3 脂肪水解酶的测定	94
3.9.4 淀粉水解酶的测定	96
3.9.5 脱氢酶活性的测定	99
4 沼气发酵残留物分析	102
4.1 营养成分分析	102
4.1.1 氮元素的测定	102
4.1.2 磷的测定	105
4.1.3 钾元素的测定	109
4.1.4 钙和镁的测定	112
4.1.5 有机碳和有机质的测定	117
4.1.6 腐殖质的测定	120
4.2 生物活性成分分析	122
4.2.1 B族维生素的测定	122
4.2.2 氨基酸的测定	133
附录	136
附录1 常用酸碱的密度和物质的量浓度	136
附录2 常见酸碱指示剂的配制方法	136
附录3 常用缓冲溶液的配制	137
附录4 元素相对原子质量表	139
参考文献	141

1 绪 论

1.1 沼气的起源

沼气是有机物在厌氧条件下，经过多种厌氧微生物分解代谢所产生的可以燃烧的混合气体。由于这种可燃气体最初是从沼泽中发现的，所以叫做沼气。生活中常见的秸秆、杂草、人畜粪便、有机垃圾、生活污水和工业有机废水等有机质经厌氧发酵均可产生沼气。沼气发酵是自然界中物质循环的一个极其重要的组成部分。

沼气分为天然沼气和人工沼气两大类。天然沼气是在自然环境条件下，有机质被厌氧微生物分解产生的，是自发的厌氧发酵产物。人工沼气是在人为创造厌氧微生物所需要的营养条件和环境条件下，在特定的装置里，积累高浓度厌氧微生物，发酵分解配制好的有机质而产生的。人工沼气发酵速度和质量都比自然条件下的好，所产生的沼气便于收集和利用。

1.2 沼气的性质

沼气是一种混合气体，它含有甲烷（俗称瓦斯）、二氧化碳、硫化氢、一氧化碳、氢、氧、氮等气体。其成分不仅取决于发酵原料的种类及其相对含量，而且随发酵条件及发酵阶段的不同而变化。当沼气池处于正常稳定发酵阶段时，沼气的大致成分为：甲烷 50% ~ 70%，二氧化碳 30% ~ 40%，一氧化碳 0 ~ 2%，氢 0 ~ 7%，氮 0 ~ 4%，氧 0 ~ 4%，硫化氢 0 ~ 0.1%，还有少量的低级碳氢化合物 0 ~ 7%。

甲烷的分子式为 CH_4 ，摩尔质量为 16g/mol，是由一个碳原子和四个氢原子结合而成的简单碳氢化合物。甲烷是一种无色、无味、无毒的气体，化学性质比较稳定。甲烷相对密度为



$0.55\text{g}/\text{cm}^3$ ，熔点 -182.5°C ，沸点 -161.5°C ，着火点 537.2°C 。甲烷在空气中燃烧的最高温度约 2000°C ，甲烷热值约为 $39.5\text{kJ}/\text{m}^3$ 。甲烷在水中的溶解度很小，通常用水封的办法来贮存沼气。

二氧化碳：二氧化碳极易溶于水，为提高沼气中甲烷含量和热值，可以利用石灰水来吸收沼气中的二氧化碳，形成碳酸钙沉淀。

硫化氢：有毒气体，微量时具有恶臭，沼气中的臭味主要来源于它。一般沼气中含有万分之几的硫化氢。经过燃烧后，硫化氢被氧化成硫或二氧化硫，失去臭味，毒性减轻。因此，使用沼气基本上是安全的，一般可以不去除硫化氢而直接燃烧。

1m^3 沼气相当于 1kg 煤，或 0.7kg 汽油，或 0.4kg 煤油，或 1.5m^3 煤气，可发电 $1.25\text{kW}\cdot\text{h}$ 。 1m^3 沼气可供 4 口人的农户做三顿饭，能够给一盏亮度相当于 $60\sim 100\text{W}$ 的沼气灯照明 6h ，可供 1 马力的内燃机工作 2h ，可供载重 3t 的汽车行驶 2.8km 。

在工业方面，利用沼气可以生产多种化工产品，如甲醇、甲酸、草酸、活性炭、二氯甲烷、四氟乙烯、有机玻璃、合成橡胶等。

1.3 沼气发酵的基本原理

沼气是有机物在隔绝空气和保持一定水分、温度、酸碱度等的条件下，经过多种微生物的分解而产生的。因此，沼气发酵过程是一个微生物分解的过程，参与有机质分解的这些微生物统称为沼气发酵微生物或厌氧微生物，这一分解过程称为沼气发酵，也称为厌氧消化或甲烷发酵。

沼气发酵具有如下一些特点：

(1) 沼气发酵微生物自身耗能少，在相同的基质条件下，厌氧代谢所需的能量仅为好氧代谢的 $1/20\sim 1/30$ ；换言之，在沼气发酵中，每去除 1 个单位的 COD 大约可获得自由能 $420\sim 1250\text{J}$ ，而在好氧情况下则可获得自由能 12.5kJ 以上。

(2) 沼气发酵能够处理高浓度有机废水，其 COD 含量可以高达 $10000\text{mg}/\text{L}$ 以上，而好氧条件下一般只能处理 COD 含量为



1000mg/L 以下的有机废水。

(3) 沼气发酵微生物对营养要求较低，能处理的有机废弃物多种多样。

(4) 沼气发酵受温度的影响较大。

(5) 发酵产物沼气容易从发酵液中分离出来。

1.3.1 沼气发酵的微生物

在沼气发酵过程中，有发酵性细菌、产氢产乙酸菌、嗜氢产乙酸菌、嗜氢产甲烷菌、嗜乙酸产甲烷菌等五大类微生物参与，沼气发酵过程中厌氧菌的种类和数量见表 1-1。

表 1-1 沼气发酵厌氧菌的种类和数量

类 群	数量/个 · cm ⁻³	属 特 性
发酵性细菌	10 ⁶ ~ 10 ⁹	梭菌属、拟杆菌属、G ⁻ 杆菌
产氢产乙酸菌	10 ⁶	G ⁻ 杆菌
嗜氢产乙酸菌	10 ⁵ ~ 10 ⁶	梭菌属、乙酸杆菌属
嗜氢产甲烷菌	10 ⁶ ~ 10 ⁸	各属产甲烷菌
嗜乙酸产甲烷菌	10 ⁴	脱硫弧菌属

1.3.2 沼气发酵机理

从沼气发酵的生物化学过程来看，大致可分为三个阶段：

液化阶段：发酵细菌产生胞外水解酶水解大分子有机聚合物，即纤维素、半纤维素、果胶、淀粉、脂类以及蛋白质等非水溶性含碳化合物，经水解性细菌产生的一系列水解酶将其水解成较小分子的水溶性化合物，如糖、醇、酸等。参与这一过程的微生物主要是发酵性细菌，如纤维素分解菌、脂肪分解菌、蛋白质分解菌等。

产酸阶段：这个阶段是三个细菌群体的联合作用，先由发酵性细菌将液化阶段产生的小分子化合物吸收进入细胞内，并将其分解为乙酸、丙酸、丁酸、氢和二氧化碳等，再由产氢产乙酸菌



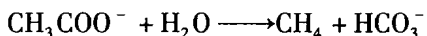
把发酵性细菌产生的丙酸、丁酸转化为产甲烷菌可以利用的乙酸、氢和二氧化碳。

此外，耗氢产乙酸菌群利用氢和二氧化碳生成乙酸，还能代谢糖类产生乙醇，它们能转变多种有机物为乙酸。

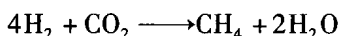
液化阶段和产酸阶段是一个连续过程，统称不产甲烷阶段。在这个过程中，不产甲烷的细菌种类繁多、数量巨大，它们的主要作用是为产甲烷菌提供营养并创造适宜的厌氧条件，消除部分毒物。

产甲烷阶段：在此阶段中，产甲烷菌群可以分为嗜氢产甲烷菌和嗜乙酸产甲烷菌两大类群，报道的 70 多种产甲烷菌利用以上不产甲烷的三种菌群所分解转化的甲酸、乙酸、氢和二氧化碳小分子化合物等生产甲烷。

嗜乙酸产甲烷菌分解乙酸产生甲烷的过程如下：



嗜氢产甲烷菌大多能直接转化甲酸产生甲烷或间接利用氢还原二氧化碳产生甲烷，其过程如下：



1.4 沼气发酵检测的意义

沼气发酵和其他微生物发酵过程一样，存在着微生物的生长环境和营养条件调控、发酵工艺条件选择与过程控制监测等。但沼气发酵过程，它的发酵基质是各种各样的有机废弃物，是在厌氧条件下依靠多种微生物的综合作用，比其他发酵更为复杂和独特。因此，对沼气发酵过程进行监控和分析测试是非常必要的。

1.5 检测试样的采集与保存

分析检测的第一步就是分析样品的采集，从大量的分析对象中抽取有代表性的一部分作为分析材料（分析样品），这项工作称为样品的采集，简称采样。



供检测的试样必须具有代表性。经验表明, 对于一个不均匀的待测物, 由于采样方法不当带来的误差可能比分析误差大若干倍。分析误差对于一个经过严格训练的分析人员来说, 可以被降到最低限度, 而要克服采样误差却很困难。沼气发酵原料来源广泛, 成分复杂, 在同一个沼气池中也存在不均匀现象, 特别是以农业有机废弃物为原料的沼气池内, 常有浮渣层、沉渣层和活性层之分。因此, 采样时必须遵守一定的规则, 掌握适当的方法, 并防止在采样过程中, 造成某种成分的损失或外来成分的污染。

1.5.1 正确采样必须遵循的原则

(1) 采集的样品必须具有代表性, 采样及样品制备过程中设法保持原有的理化指标, 避免预测组分发生化学变化或丢失。

(2) 取样后, 及时作为样品登记, 并贴好标签, 注明取样日期、取样人、取样地点、取样部位、发酵温度和测定项目等, 避免分析时依靠回忆来识别样品。

(3) 样品的采集方法(如部位、时间、取样方式、数量等)应根据样品的性状及所选择的测定项目来合理拟定。例如, 以城市工业有机废水为原料的沼气发酵原料和以农业有机废物为原料的发酵物料, 在取样方式上是不同的, 前者常从搅拌后的流出物中取得分析试样, 而后者必须进行分层多点取样以获得混合试样。此外, 由于分析目的不同, 取样方法也不同。

1.5.2 不同类别样品的取样原则

(1) 发酵原料。沼气发酵原料的种类非常多, 常见的有城市生活污水、工业有机废水、农业生产废弃物、人畜粪便、城市生活垃圾和藻类等。发酵之前, 往往需要进行原料的主要成分分析。通常, 发酵原料是来源不同的混合物, 如秸秆加上人畜粪便。在对这样的混合原料进行成分测定时, 需在混合前进行各原料的成分测定。然后, 参照此测定值与混合时的原料配比, 计算出混合原料中某成分的含量。这样一方面有利于克服由于混料不



均匀带来的分析误差,同时根据此测定值,调整发酵物料的配料方案,使混合物料达到需要的成分配比。例如,某一农村沼气池,发酵原料由猪粪、堆沤稻草和污泥组成,发酵前需调节好三者的混合比例,使其混合后的碳氮比为 $(20 \sim 30):1$ 。为此,需事先对三种原料的碳和氮的含量进行测定,然后按照测定值调整三种原料的混合比例。对于有机废水类型的发酵原料来说,采样需注意原料的不同空间分布和不同时间原料的差异。

(2) 气体试样。未经净化的沼气,其主要成分是甲烷、二氧化碳及少量的水蒸气。沼气样品的采集,通常是使其通过硅胶干燥管去除气体中的水分。如果是现场分析,可用注射器直接抽取去除了水分的气体;如需运送或贮存,则需按照排水集气法通入玻璃贮气瓶中,并使用饱和氯化钠溶液作“水封”。也可通入胶囊贮存,但这种贮存方法不能超过 24h,否则气体成分将发生变化。使用玻璃瓶贮存时,如以普通水代替饱和氯化钠溶液作水封,则由于二氧化碳的减少,使得沼气中甲烷的分析结果偏高。

(3) 沼气池中固体和液体试样的采集方式。

单样:在某一拟定时间内,从沼气池的特定部位采集的单一试样。它既适用于成分均匀的待测物的取样,也适用于为某种特殊要求而拟定的分析取样。例如,为了研究发酵条件,有时测得的平均数据或总值对一项试验研究来说其价值是无足轻重的,而某一点的动态变化规律却是很意义的,此时就需要对池内的某一部位进行某一时刻的定位单点取样,并进行分析。单样的采集只需注意取样部位的选择应与分析目的相符合。

时间组合试样:在同一部位,一个时间周期内的不同时刻,分别采集的样品混合物。这种取样方法获得的样品,适用于基质较为均匀的发酵物料,它比分析大量的单样更为节省分析时间。但这种取样方法仅限于如平均浓度这类指标的分析,这类分析样品的采集方法及要求类似于单样的采集。

部位组合试样:在同一时间内,从沼气池的不同部位取得的各个样品的混合物。这种采样方法是最广泛使用的,它适用于不



均匀的发酵物料，其分析结果可反映某一时刻整个沼气池的基质负荷情况及各测定组分的平均含量。部位组合试样的适用范围较大，但这种试样的采集比较困难，如采集工具、代表性部位的选择等，都必须按照具体情况正确拟定。

1.5.3 试样的保存

采集的样品如不能及时分析，其保存是否得当将关系到分析结果的可靠性。保存不当会引起试样成分的化学结构和组分变化。妥善保存样品的目的在于减慢生物和化学的作用，减少组分的挥发。

样品的妥善保存主要包括：防腐措施，选择适当的盛装容器。一般来说，应在取样后尽快测定。样品的防腐手段包括 pH 值控制、化学添加剂的使用、冷藏及冰冻等。按照待测项目的不同，所选用的保存方法亦不同，如表 1-2 所示。

表 1-2 待测样品的保存方法和保存时间

测定指标	容器选择	保 存 方 法	保存时间
酸 度	塑料或玻璃	4℃下冷藏	24h
碱 度	塑料或玻璃	4℃下冷藏	24h
BOD	塑料或玻璃	4℃下冷藏	6h
COD	塑料或玻璃	加硫酸使 pH=2	尽可能及时分析
溶解金属	塑料或玻璃	现场过滤，加硝酸使 pH<2	6 个月
总 氮	塑料或玻璃	加硫酸使 pH<2，4℃下冷藏	24h
氨态氮	塑料或玻璃	加硫酸使 pH<2，4℃下冷藏	24h
总有机碳	塑料或玻璃	加盐酸使 pH<2，4℃下冷藏	24h
pH 值	塑料或玻璃	现场及时分析	
总 磷	玻 璃	4℃下冷藏	
可溶性磷	玻 璃	现场过滤，4℃下冷藏	24h
硫化物	塑料或玻璃	加 2mL 乙酸锌	24h
挥发性脂肪酸	塑料或玻璃	现场过滤，4℃下冷藏	24h



1.6 检测项目的设置与测定顺序

1.6.1 分析项目的设置

在沼气发酵的研究或生产中，分析项目的设置取决于试验目的、各项指标的生物学意义等。在沼气发酵中常用的分析项目列于表 1-3，按照其使用意义分为三大类型，即沼气发酵运行条件、运行效率和抑制因子。

为了了解发酵系统中微生物生长的环境与营养条件、底物浓度，以便掌握发酵进行的条件，将常需开展的项目定为运行条件。例如，总固体、挥发性固体、生化需氧量、化学耗氧量、纤维素、脂肪、木质素、pH 值、总碱度、氨氮、挥发性脂肪酸、总氮、总磷等。在一个具体的试验中，这些项目不需要全部测定，应将它们分为基本分析项目和选测项目。

表 1-3 沼气发酵分析项目的设置

类 型	测 试 项 目		备 注
	基本测定项目	选测项目	
沼气发酵运行条件	TS、VS、COD _{Cr} 、BOD、TOC（活性有机碳）、总 N、总 P、E _h 、pH、碱度、NH ₃ -N、VA	木质素、纤维素、半纤维素、脂肪、总糖、蛋白质、K、Na、Ca、Mg、Fe、Mn、Cr、Zn	TS——总固体； VS——挥发性固体； COD _{Cr} ——化学耗氧量； BOD——生物需氧量； TOC——总有机碳； E _h ——氧化还原电位； VA——挥发性脂肪酸； TVA——挥发性脂肪酸总量； UVA——未电离挥发性有机酸总量
运行效率	TS、VS、COD _{Cr} 、BOD 的减量、TOC 的减量、总 N、NH ₃ -N、VA、CH ₄ 、O ₂ 、N ₂ 、CO ₂ 、H ₂	木质素、纤维素、半纤维素、脂肪、醇、酯、酮	
抑制因子	NH ₃ -N、TVA、UVA、NO ₂ ⁻ 、NO ₃ ⁻ 、硫化物	CN ⁻ 、Hg ²⁺ 、Na ⁺ 、K ⁺ 、Cu ⁺ 、Cu ²⁺	



基本测定项目包括：氧化还原电位、总固体、挥发性固体、生化需氧量、化学耗氧量、pH 值、总碱度、氨氮、挥发性脂肪酸、总氮等。氧化还原电位和 pH 值分别表示发酵系统的厌氧密封性和酸碱度，以碳酸钙及乙酸钙为主要成分的总碱度表示发酵系统所具有的酸碱缓冲性能，这些都是沼气发酵中重要的环境因素。碳、氮、磷的分析是用以了解基质中营养物质的含量及其搭配比例，同时也反映发酵的底物浓度。各种挥发性脂肪酸的测定有着重要的意义，它们可表示原始基质的分解转化及利用情况。氨态氮是沼气发酵中微生物可利用的唯一氮素形态，它一方面表示有效氮素营养水平，同时也是控制基质浓度和原料配比的指标。

选测项目包括纤维素、半纤维素、脂肪、木质素、糖和某些金属元素等。基质组成的种类不同关系到发酵工艺的选择及管理控制方法差异。因此，根据基质来源及种类不同，对以上有机物含量的含量进行选择测定是有必要的。无机金属元素的测定则应根据研究目的及基质来源决定。

运行效率的各个分析项目，是用以考察发酵工艺的优劣，衡量发酵的效率。其分析项目主要包括：产气量测定、气体成分分析、基质负荷的减量。这些指标反映发酵过程的最终结果，是最基本的指标。应用这些分析结果可以了解发酵的基质产气速率以及基质利用率。此外，各类挥发性脂肪酸的含量及组分变化的测定可以检验发酵过程中基质的分解转化效率，并预示一定时期内的发酵潜力。

抑制因子主要考察阻碍沼气发酵正常进行的化学因素，其中最常见的是氨态氮、非电离的挥发性脂肪酸以及硫化物等。

1.6.2 分析顺序

当需要分析的项目较多时，分析测定应按照一定的先后顺序进行。一般来说，容易变化的组分安排在前，相对稳定的组分安排在后。如氧化还原电位、pH 值的测定应于现场即时分析；总