

江苏省青年基金(BK20140199)资助

中央高校基本科研基金项目(2014QNB41)资助

煤炭资源与安全开采国家重点实验室自主课题(SKLCRSM13X05)资助

江苏高校优势学科建设工程项目资助

山西省煤基重

14-03)资助

科技型企业技

6)资助

水文地质条件的人工扰动 对产甲烷菌群的代谢影响

Shuiwen Dizhi Tiaojian De Rengong Raodong Dui Chan Jiawanjunqun De Daixie Yingxiang

肖 栋 王恩元 / 著

中国矿业大学出版社

江苏省青年基金(BK20140199)资助

中央高校基本科研基金项目(2014QNB41)资助

煤炭资源与安全开采国家重点实验室自主课题(SKLCRSM13X05)资助

江苏高校优势学科建设工程项目资助

山西省煤基重点科技攻关项目(MQ2014-03)资助

科技型企业技术创新资金(BC2014066)资助

水文地质条件的人工扰动 对产甲烷菌群的代谢影响

肖 栋 王恩元 著

中国矿业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

水文地质条件的人工扰动对产甲烷菌群的代谢影响/

肖栋,王恩元著. —徐州:中国矿业大学出版社,2016.10

ISBN 978 - 7 - 5646 - 2852 - 9

I. ①水… II. ①肖… ②王… III. ①厌氧微生物—代谢—研究 IV. ①Q939

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 233547 号

书 名 水文地质条件的人工扰动对产甲烷菌群的代谢影响

著 者 肖 栋 王恩元

责任编辑 何晓惠 马晓彦

出版发行 中国矿业大学出版社有限责任公司

(江苏省徐州市解放南路 邮编 221008)

营销热线 (0516)83885307 83884995

出版服务 (0516)83885767 83884920

网 址 <http://www.cumtp.com> E-mail: cumtpvip@cumtp.com

印 刷 江苏徐州新华印刷厂

开 本 787×1092 1/16 印张 8.75 字数 167 千字

版次/印次 2016 年 10 月第 1 版 2016 年 10 月第 1 次印刷

定 价 36.00 元

(图书出现印装质量问题,本社负责调换)

前 言

本书是作者多年研究成果的总结,书中收集了大量产甲烷菌以及煤层微生物群落的最新研究成果。煤层微生物是一种长期存活在煤层中的,能够以煤中的有机质为主要碳源,能够充分吸收环境物质完成新陈代谢以及能量转化的一种特殊的生命体。煤层产甲烷微生物群是煤层微生物的一个主要分支。煤层微生物活动对煤层甲烷赋存的影响研究,是以煤层微生物学为基础、以煤体生物发酵理论为核心、以煤与微生物的相互影响作用及应用基础为主要研究内容,目的是为煤层气开采及煤炭瓦斯治理提供理论与实验基础。本书充分反映以上要求,力求反映煤层产甲烷微生物领域的最新研究成果。本书采用从基础到试验方法、到结果分析与验证的方法。本书将章节与内容结构进行了整合与组合,将煤层微生物与煤层产甲烷菌的生命特征与代谢及能量获取等内容安排在前面章节,之后的章节以试验准备、试验方法设计、结果分析和验证为主要内容。这样可以首先了解煤层微生物的特性,然后进行试验分析和验证,为理论和观点的提出进行铺垫。

在本书写作过程中,彭苏萍、Satya Harpalani、王恩元等教授给予了指导并提出了许多宝贵意见;得到了中国矿业大学煤炭资源与安全开采国家重点实验室的老师以及其他同行的大力支持。在本书付梓之际,谨向他们表示真诚的谢意!另外,本书参阅了大量国内外专家学者的重要著作和文献资料,在此谨向所有文献资料的作者表示衷心感谢!

由于著者水平所限,书中疏漏和谬误之处在所难免,恳请读者批评指正!

著 者

2016年6月

目 录

1 绪论	1
1.1 研究背景及意义	1
1.2 研究现状	2
1.3 研究综述	5
1.4 主要研究内容	7
1.5 主要研究方案及研究方法	8
2 微生物生长活性	10
2.1 微生物生长环境、营养和新陈代谢特征	10
2.2 厌氧微生物活性	17
2.3 产甲烷菌新陈代谢特性	24
2.4 微生物的自身抑制与诱导	30
2.5 本章小结	33
3 煤层产甲烷菌活动迹象研究	35
3.1 煤层气成分分析	35
3.2 地下水水样分析	41
3.3 Springfield 煤层产甲烷菌活动迹象分析	42
3.4 Seelyville 煤层产甲烷菌活动迹象分析	44
3.5 本章小结	45
4 煤层产甲烷菌当前活性研究	47
4.1 试验系统设计	47
4.2 煤样与培养液制备与试验方案	49
4.3 煤层产甲烷菌当前活性试验研究结果分析	51
4.4 本章小结	54

5	煤层产甲烷菌群生存环境影响因素	56
5.1	菌群生存特征的试验系统设计	56
5.2	煤样与培养液的制备	58
5.3	煤层产甲烷菌群生存环境影响试验结果分析	61
5.4	本章小结	78
6	煤层产甲烷菌产甲烷能力及对煤中有机成分降解选择性	80
6.1	试验方法及系统设计	80
6.2	煤层产甲烷菌群甲烷生产能力试验结果分析	82
6.3	本章小结	86
7	煤层产甲烷菌群在乳化液中的生长特性评定	87
7.1	乳化液特性	87
7.2	湿润煤层中乳化液对产甲烷菌的影响	88
7.3	干燥煤层中注水对产甲烷菌的影响	99
7.4	本章小结	105
8	水力作业或注水与煤层产甲烷菌群激活与活性特征的相关性	108
8.1	煤层产甲烷菌在煤层中的状态	108
8.2	煤层环境对产甲烷菌生存的适应性特征	112
8.3	水对产甲烷菌生存的适应性特征	116
8.4	本章小结	118
9	总结、展望与创新点	120
9.1	总结	120
9.2	展望	122
9.3	创新点	122
	参考文献	124

1 绪 论

1.1 研究背景及意义

在目前中国的能源结构中,煤炭仍占最主要部分,中国一次能源生产和消费结构中,煤炭比重分别高达 76% 和 68.9%,是世界上一次能源生产和消费结构中煤炭所占比重最大的国家。煤炭产业在今后相当长的时期内将有着广阔的前景。但是,我国煤炭赋存条件复杂、自然灾害较为严重、生产技术条件和装备总体比较落后等情况,决定了煤矿安全问题仍是制约煤炭工业发展的突出问题。

矿井灾害中,煤岩动力灾害是其中主要灾害之一。矿井煤岩动力灾害现象主要包括煤(岩)与瓦斯(甲烷或二氧化碳)突出、冲击矿压(又称冲击地压、岩爆或矿震)、顶板塌陷、围岩变形等。煤与瓦斯突出是矿井含瓦斯煤岩体呈粉碎状态从煤岩层中向采掘空间急剧(数秒钟到数分钟)运动,并伴随着大量瓦斯喷出的一种强烈的动力过程。冲击矿压和煤与瓦斯突出相似,只是没有或极少有瓦斯气体的参与,它通常是在煤岩力学系统达到强度极限时,聚积在煤岩体中的弹性能量以急速、猛烈的形式释放,造成煤岩体震动和破坏。

我国是世界上矿井煤岩动力灾害严重的国家。从 1950 年辽源矿务局富国矿西二坑发生的第一次有记载的突出以来,我国已发生了上万起煤与瓦斯突出事故。其中最大的是 1975 年 8 月 8 日发生在天府矿务局三汇坝一矿的煤与瓦斯突出事故,突出煤岩 12 780 t、甲烷 140 万 m^3 。我国自 1933 年抚顺胜利矿发生冲击矿压以来,在北京、辽源、通化、阜新、北票、枣庄、大同、开滦、天府、南桐、徐州、大屯、新汶等矿务局都相继发生过冲击矿压现象。随着煤炭开采深度的加深,瓦斯、煤尘、冲击地压、煤与瓦斯突出、地温等自然灾害危害程度不断升级,迫切需要采取行之有效的灾害防治技术,解决煤炭开采中的安全问题。国内外科研工作者对煤层注水技术进行了大量研究,证明煤层注水能有效治理煤尘、煤与瓦斯突出、冲击地压、地温等自然灾害。

长期以来,各种研究主要针对于灾害监测及治理,但在水力作业与煤层注水是否会导致其他灾害危险性等副作用的增加方面仍缺乏研究。针对此问题,本书对在新鲜水源及乳化液影响下,煤层微生物生存条件的改变能否满足煤层产

甲烷微生物激活,使一方面通过注水等方法提高甲烷排放以利于防灾减灾以及在菌群代谢作用下新的甲烷相继产生,提高煤层瓦斯含量的特征方面展开研究工作。

本书根据实验室细菌培育和生命特性研究,论证了煤层中产甲烷菌种存在的可能性。利用细菌新陈代谢、生殖繁育机理,对该菌种的生命活动特征进行了分析研究,以确定煤田地质条件特征对产甲烷菌群生存活动的影响。在细菌营养学基础上,对地下水营养物进行了分析,并结合细菌生长和营养供给进行了试验研究,同时对目前使用最为广泛的两种乳化液对细菌的毒性进行了试验研究,从而对细菌生存环境进行了评价,并分析出了产甲烷菌种的最佳生存环境,进一步论述了注水以及水力作业中由于新鲜水源或乳化液的影响会导致产甲烷菌激活的可能性。研究工作能够评估或确定注水等条件下生物气对瓦斯灾害的影响程度,在煤炭气化方面具有重要的理论意义和应用价值。

1.2 研究现状

1.2.1 煤层注水及水力作业的研究现状

作为一种煤与瓦斯突出的防治措施,煤层高压注水 20 世纪 30 年代最早在苏联煤矿推广应用。20 世纪 60 年代,我国在学习苏联采煤经验的基础上,在阳泉、北票和抚顺等煤矿进行了工业试验,效果显著。目前,煤矿瓦斯灾害治理常用水力挤出、深孔高压注水、水力割缝、水力冲孔和水力掏槽等水力化措施,主要通过煤体的强制卸压增大煤层渗透率,使瓦斯抽放更加容易,同时可以湿润煤层,达到降尘的目的。

经过长期理论研究与现场试验,形成了一系列的研究成果,并对注水提高瓦斯解吸机理方面提出多种学说。对注水对煤层瓦斯解吸影响的研究,形成两种观点:

(1) 防突机理在于对煤体力学性质的改变,导致采掘工作面集中应力带前移,采掘工作面安全屏障加大。如蒋承林等人提出煤层注水可以降低硬煤分层的强度,工作面前方产生一个较长的破裂带和卸压带,使得具有突出危险的软分层内瓦斯能够在暴露前提前释放;王兆丰、刘明举等人提出,高压注水后集中应力带前移,卸压带长度加长,工作面瓦斯涌出量增大,减小了煤体内瓦斯的内能。

(2) 注水的防突机理在于对煤体瓦斯解吸特性的影响。瞿涛宝、魏国营、刘建新、李平等人从吸附角度提出高压注水后,水封堵瓦斯,对瓦斯解吸有抑制效应,煤层注水降低了煤体内瓦斯的解吸速度,避免了大量瓦斯的快速解吸,从而

起到防突的作用。

水力挤出、水力割缝、水力冲孔和水力掏槽等对煤层瓦斯防治机理与煤层注水相似。均是借助于措施,改变工作面前方煤体应力重新分布,使应力集中带前移、卸压带加长、大幅增加煤体抵抗突出的范围和能力,使突出危险性减小;在水的作用下,卸压带内煤体破碎、弹性降低,塑性增加,伴随瓦斯涌出煤层中瓦斯压力得到释放,减弱了突出危险性。

目前,煤与瓦斯突出防治中,对于改变采场应力效应与影响煤体瓦斯解吸特性哪方面起主要作用,目前还没有定论。

1.2.2 生物气在煤层气成因中作用的研究现状

煤层生物甲烷的深入研究在美国、加拿大以及澳大利亚已展开多年。研究方向主要针对于阐述、论证煤层气的形成过程和寻求在地下通过产甲烷菌新陈代谢过程中对二氧化碳的消耗而实现二氧化碳固定的方法。Knox 等人对二氧化碳气田沉积进行了试验研究,目的是借助于微生物手段实现二氧化碳地下固化;美国南伊利诺伊大学和伯克利实验室对二氧化碳煤炭沉积及瓦斯置换进行了深入研究。以上试验研究发现了当前在煤层和油田仍处于活性状态的煤层产甲烷菌的存在,从此展开了对该菌种的研究工作。

研究发现,多数煤层气中同时存在热解气和生物气两种形式的甲烷、二氧化碳和少量的氢气。过程广泛作用于油田与煤田之中。

邓鸣放和陈伟煌在研究报告中提出,生物气在天然气中占有重要地位。大约 20% 的天然气是微生物在代谢过程中产生的。利用对碳同位素分析基础上的研究结果表明,莺歌海-琼东南盆地第三系上中新统第四系具有存在丰富生物气的条件。

李赞豪针对我国油田、煤田厌氧菌再生生物气展开研究工作。他在针对我国的油气资源分布及形成条件的研究中发现,生物气在我国油田范围内具有分布广、与重油相伴生的特征。同时他还指出,该生物气在浅层煤层的还原条件下亦可通过微生物的降解生成。

有资料显示,在松辽、渤海湾、二连、泌阳、苏北、百色、三水、东海、南海珠江口等含油气盆地的气样分析中发现了生物气成分。

在油田针对生物气展开大量研究的同时,近期针对煤层气成因方面也展开了一定的研究工作。作为我国大型煤矿的淮南矿业集团拥有华东地区重要的煤田基地,煤层中煤层气蕴含丰富。为实现安全生产和对煤层气的综合利用,该集团针对煤层瓦斯研究展开了长期、深入的工作。煤炭科学研究院西安分院、中国科学院地质与地球研究所以及中国科学院长沙大地构造研究所对淮南煤层气进

行了成藏分析。张私、崔永君、陶明信等人在淮南煤田次生生物成因与热成因混合型煤层气成藏动力学系统演化研究中证实,淮南煤田的煤层气是由早生生物气、热成因气和次生生物气所组成的混合气。笔者认为,早生生物气是煤层由煤泥向煤过渡期间由细菌活动所形成;热成气是由于煤埋藏较深或者附近受岩浆活动影响使温度升高,进而导致煤级升高时由煤的挥发分而形成;在煤热成之后,在有微生物的活动下,产生了大量的生物气,与以上气体共同存在于煤层之中,共同形成今天的煤层气。

同时根据二叠纪煤系埋藏史、煤层生气史分析,将淮南煤田煤层气成藏动力学系统分为四个演化阶段:

- (1) 泥炭浅埋和早期生物气阶段;
- (2) 煤层深埋和热成因气阶段;
- (3) 煤系剥露和吸附气散失阶段;
- (4) 煤系再埋藏和次生生物气补充阶段。

以上研究通过生物气的存在证实了在煤田或油田中,具有产甲烷菌等微生物活动的迹象。

针对煤层气进行分析以及成因的研究国外起步较早,美国、加拿大、澳大利亚等国针对生物气在煤层气生成过程中的作用方面已经开展多年的研究工作,Clayton、Whiticar、Schoell、Rice 与 Alain 等人针对煤层气碳同位素分析表明,生物气在煤层气中占有重要比例,并且伴随煤层后期活动的整个过程。生物气在煤层中的产生主要在两个阶段中形成。首先,是煤炭形成初期,由煤泥向煤的过渡阶段,伴随产甲烷菌的活动而产生的生物气;其次,则是煤在热成熟之后,产甲烷菌在煤层中活动而产生的次生生物气。这一结论与 Clayton 等人的研究成果相吻合。

Zinder、Ahmed、Bonin 等在产甲烷菌菌落研究过程中指出,油田、煤层等自然环境中存在产甲烷菌活动迹象,并证明其在活动中产生大量甲烷气体,以不同形式存储于油田或煤层中,并是天然气、煤层气的重要组成部分。

我国针对煤层气成因及伴随煤矿开采以及安全生产的需要等研究工作相继展开。郭红玉、苏现波、陈润等在煤层气的微生物分馏效应研究中借鉴生物气成因等理论,从分馏的角度对微生物作用下煤层气生成过程及途径展开了探讨,对生物成因的煤层甲烷碳同位素值进行定性描述。通过对产甲烷菌依靠二氧化碳与乙酸(根)两种成因的煤层气的研究中得出以下结论:

- (1) 煤层气的生物分馏效应发现煤层 CH_4 含量升高,分馏使 CH_4 碳同位素变轻,重烃含量降低。
- (2) 以 CO_2 还原为主的煤层气藏内, CH_4 中的 ^{13}C 与 CO_2 中的 ^{13}C 之间存在

反向相关性,并且以 CH_4 中 ^{13}C 值为轻。

(3) 对于所有的沉积相而言, CO_2 还原分馏效应所生成的 CH_4 在生物成因的甲烷中居于相对重要的地位。

夏遵义、白志强等人针对我国油田中的产甲烷菌特征进行了研究试验。采用涩北气田岩芯在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下培养,试验研究发现:

(1) 涩北生物气田样品中普遍存在厌氧发酵性细菌,产氢、产乙酸菌,产甲烷菌,厌氧纤维分解菌,硫酸盐还原菌,同时各菌种数量呈现共同消长现象。

(2) 在有机质含量为 $0.5\%\sim 1\%$ 条件下可以保持主要的产甲烷行为。随着温度的升高,产气及产甲烷菌生长加快。

(3) 在 $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 岩芯产生物甲烷气试验中,注入二氧化碳后甲烷产率有明显变化。

通过针对煤层气成因以及生成途径等方面的研究,发现鸡西、勃利、抚顺、林盛、开滦、峰峰、鹤壁等煤田中均存在生物气的迹象。由此提出了微生物在煤层气成因中所占的重要作用。

1.3 研究综述

产甲烷菌是一种可以通过代谢有机质和无机质产生甲烷以及二氧化碳的古生菌,该菌种存在于多数自然条件下。目前学者们对产甲烷菌的特征研究逐渐深入。

产甲烷菌的研究始于 1899 年,微生物学家 B. L. Omeliansku 将厌氧分解纤维素的微生物分为两类:一类是产氢的细菌,另一类是产甲烷的细菌。Schnellen 第一个从消化污泥中分离纯化得到甲酸甲烷杆菌和巴氏甲烷八叠球菌。1901 年,Sothgen 对产甲烷菌的特征及对物质转化作用进行了详细研究。1936 年,Baker 对奥氏产甲烷菌进行了分纯研究,但由于厌氧分离产甲烷菌技术尚不完备,这些研究均未取得大进展。直到 1950 年亨格特(Hungate)第一次创造了无氧分离技术才使产甲烷菌的研究得到了迅速发展。这个技术后来被称为亨格特技术。在亨格特技术出现之后,Baker、Smith、Wolfe、Fox、Max 等微生物学、生物化学家及污水处理专家从产甲烷菌的形态、结构、生理、生化及生态学等多方面进行了研究,为厌氧消化技术的应用提供了坚实的理论基础。

1974 年 Bryant 首次提出了产甲烷菌(Methanotrops)一词,将其与以甲烷为能量来源的嗜甲烷菌(Methanotrohs)区分开来。到目前为止,分离鉴定的产甲烷菌已有 200 多种。它们存在于沼泽、湖泊、海洋沉积物及瘤胃动物的胃液等自然生态系统中,也存在于废水处理、堆肥和污泥消化等非自然的生态系统中。

油田与煤层中相继发现的生物气的存在以及产甲烷菌在其中活动迹象表明,产甲烷菌在油田和煤层中伴随了整个历史过程,并在代谢过程中产生大量的甲烷气体。产甲烷菌在油田以及煤田的活动引起了广泛关注,国内外学者针对自然环境中存在的产甲烷菌群以及油田及煤田环境下生物气特征进行了大量研究,在产甲烷菌生存特征以及煤层气中生物气的分析研究方面取得了一定成果。

近年来,受到资源紧缺以及能源利用率低下等因素的影响,世界多国针对利用产甲烷菌对油田以及煤田进行再降解,从而可以获得更多的天然气或煤层气的可行性进行了大量的论证、研究工作。Energy Biosciences Institute 小组、Gilcrease、Shurr、Beaton、Langenberg、Dongmei、Philip Hendry、Mohinudeen Faiz 等通过产甲烷菌群在油田以及煤田活动特征的研究表明,产甲烷菌群至今为止仍然存在于煤层之中,但是由于受到环境等条件限制,其中多数处于休眠状态。当周围环境条件变化,如水源和营养源等充足时,菌群可以由休眠状态转为活动状态,并利用煤中的有机质完成代谢过程,产生新的甲烷气体。

矿山注水作业在当前各煤矿中被广泛采用,其可应用于强化瓦斯抽采,防尘、防冲治理。同时,水力冲孔、水力挤出以及水力爆破等多种作业形式可以改变煤层环境。由于地下水或乳化液等对煤层环境的改变能够满足产甲烷菌团的激活条件,致使该菌种被激活并产生大量甲烷气体,危害到矿山安全生产。以上学者的研究过程仅限于实验室环境中,是在特定培养环境中实现对产甲烷菌群的激活。针对矿山注水以及水力作业过程中,产甲烷菌的状态变化及活性是目前研究的一个空白,需要针对以下关键问题展开深入研究:

(1) 产甲烷菌存在于目前大多数自然环境中,即使在一些极端环境下,仍然可以找到产甲烷菌的身影。利用碳同位素分析方法对煤层生物气的测定证实了历史中甲烷菌活动的事实。但是针对特定区域内是否确实因产甲烷菌群的活动而生成甲烷气,还是该气体来自于其他区域或煤层仍需要通过特定区域内的煤层气的氢同位素测试以及针对于微生物活动所具有特征的煤层水的分析加以确定。

(2) 产甲烷菌群的生存需要依靠足够的营养与水源。经过长时间在煤层中的变异,生存下来的菌群多能够正常适应周围环境。水源是一切生命活动的根本,注水作业势必会引入新鲜水源,改善周围环境。由于产甲烷菌只能采用简单碳结构化合物作为营养来源,它的生存仍需要其他菌种的协同才能实现。菌群在注水过程中能够被激活是判断该作业是否会导致煤层中甲烷产生的重要判断条件之一。该条件能够成立需要通过模拟激活试验来加以验证。

(3) 产甲烷菌的活动是否给防止矿井瓦斯带来负面影响取决于产甲烷菌群利用煤与乳化液作为营养源时,单位煤体的产气量和产气率。随着产气速率与

产气能力的提升,产甲烷菌的活动对瓦斯防治的影响逐渐变大。

(4) 为了能够更好地了解煤层中产甲烷菌群的活性,需要深入研究菌群的生存特性与特征。如何能够完善注水技术,防止由于注水而导致的细菌激活,需要对菌群的代谢特征、环境因素影响等作出研究,从而为下一步的细菌抑制奠定基础。

1.4 主要研究内容

本书的研究目标是确定产甲烷菌群确实存在于煤层之中,而且处于可激活状态。在煤层注水过程中,由于乳化液的引入,能够成功激活产甲烷菌群。在外界因素的刺激下,菌群能够成功地恢复活性,产生大量的甲烷气体,从而给瓦斯防治带来影响。

基于此,本书主要研究内容如下:

(1) 煤层中产甲烷菌群活动迹象鉴定

在煤层活动过程中,产甲烷菌会在新陈代谢过程中产生甲烷气体,并储存于煤层之中,为煤层气的一部分。生物产气不同于热解气,能在能量、酶、营养源需求等多方面的条件下,对碳源与氢源加以选择性利用,因此造成了碳同位素与氢同位素在气相以及液相中的相对含量的变化。

基于此,对煤层气样中的碳同位素和氢同位素进行分别检测,通过对比分析对煤层气来源加以判定。生物生长对周围水源同样会产生一定作用,生物生长过程中对微量元素的选择性代谢会造成氢同位素与氧同位素含量的变化。因此,可以同时通过对煤层水的分析,加以判定煤层气是否来自于本区域。

(2) 产甲烷菌团在煤样中的活性状态研究

只有当煤层中含有活的菌种,才有可能在注水以及水力作业过程中由于乳化液或非净化水的影响使其活性发生变化,并产生甲烷气体威胁矿井安全。实验室中利用煤样进行产甲烷菌培养,通过反应皿中混合气的变化,判断是否存在可被激活的菌群。

(3) 微生物的活动、代谢特征和产气能力研究

微生物的生长与代谢往往受周围环境影响较大。实验室中利用多种煤样对不同煤样中的产甲烷菌群进行分析,以判定菌群特征。该特征主要包括:温度、pH 值水平、营养源、微量元素以及乳化液的影响。

产甲烷菌的活动是否能够影响到煤矿瓦斯的治理在于菌群活性,即产气能力和产气率。随着菌群的产气能力与产气速率的提升,对矿井瓦斯灾害防治的影响将逐渐增大。实验室中,通过地下水或者乳化液,在最优条件下对产甲烷菌

的产气能力进行试验,以判定其对安全的影响。

(4) 乳化液对产甲烷菌的影响分析

注水作业过程中,为了改善水质,通常使用乳化液作为水源进行注水作业。乳化液由多种化学成分组成。该成分是否会对产甲烷菌群产生影响将直接影响到注水工序在矿井瓦斯灾害防治中的安全程度。实验室中利用不少于两种常规乳化液对产甲烷菌的代谢特征进行分析,通过菌群的活性的变化判断乳化液对产甲烷菌的作用以及对矿井瓦斯灾害防治安全性的影响。

(5) 产甲烷菌降解能力

由于水解菌与其他菌种一样,代谢过程中对营养具有选择性,在一定条件下,单位煤中可被产甲烷菌团利用并降解有机质的含量为一定值。为证明这一观点,试验通过水封煤样与新鲜煤样的产甲烷菌的活动性进行了对比分析,通过菌群的活动对营养源的需求进行了验证分析。

(6) 注水和水力作业对煤层产甲烷菌激活与活性特征分析

注水和水力作业在实施过程中,煤层会在新鲜水源或乳化液影响下使微生物生存环境发生改变。这一环境改变是否满足产甲烷菌群的激活条件,并且为菌群的发展提供适宜的生存环境,是对注水与水力作业在提高瓦斯抽采、解决矿山瓦斯灾害威胁的同时是否会由于产甲烷菌的代谢影响,使煤层瓦斯含量具有升高趋势的进行评价的重要因素。对此,本书对水和乳化液作用下,具备产甲烷菌激活的煤层环境特征展开了综合论述。

1.5 主要研究方案及研究方法

本书采用理论分析与实验室培养相结合的方法,对煤层中的产甲烷菌群进行试验研究。

首先对煤层气与地下水进行测试,通过同位素分析方法确定煤层气中生物气的存在。该测试利用 Springfield 和 Seelyville 煤样进行含水高温分解试验,以人工方式获得热产甲烷的同位素特征值。同位素以及气体组分含量分析采用 Delta Plus XP 同位素比率分光计和 GC-17 A 完成分析。试验中还利用 DIXNEX ICS-2000 离子色谱分析仪对地下水中主要 7 种阴离子进行了测试。对地下水中 δD_{H_2O} 与 $\delta^{18}O_{H_2O}$ 同样采用 Delta Plus XP 同位素比率分光计进行测试分析。

在针对煤层气中生物气的分析中,通过 Berner 和 Faber 利用试验数据建立的镜质组反射率 R_0 为条件下的煤热解气产出率的评估模型,对热解气中的甲烷、乙烷和丙烷的体积产出率进行测算。将测算结果与实际 C_1 、 C_2 、 C_3 含量对比分析,以初步判定煤层气在产生过程中是否受到微生物产气的影响。

基于 Springfield 和 Seelyville 的煤层气的 ^{13}C 、氘的同位素分析数据基础上,利用交会图法对 $\frac{C_1}{C_2+C_3}$ 与 $\Delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2-\text{CH}_4}$ 进行分析。该技术方法可以通过数据落点判定煤层气中的甲烷气的来源。

利用 Whiticar 对产甲烷微生物的二氧化碳降解理论,将 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ 和 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ 通过分流系数模型转化为分流系数 $\alpha_{\text{CO}_2-\text{CH}_4}$ 和 $\alpha_{\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_4}$ 。通过交汇曲线中的数据落点,对以上分析给予证实。

在分析的最后,根据 Schoell 的微生物甲烷生成过程中甲烷中与水中的氘含量存在一定的比例关系理论结合地下水的分析对以上结果进行验证,从而最终判定是否确切有生物气存在于煤层气之中。

生物气在煤层气中的存在表明了煤层形成存储的历史过程中具有微生物活动迹象。但在目前条件下,该类菌种是否在煤层解危措施中的注水作业中被激活还需要通过对产甲烷菌群的培养试验进行验证。

在细菌活性验证试验的第一步,即对细菌是否具有活性进行培养试验。只有产甲烷菌群是活性细菌,在外界刺激下才有可能由休眠状态转化为活动状态,产生甲烷气体。对此,实验室中对 Springfield 煤层的煤样进行了培养试验。在密封、绝氧的条件下,利用培养液对煤样中的微生物实施培养,通过显微镜下观察以及培养过程中甲烷浓度在培养皿中的变化对产甲烷微生物菌群是否处于活性或可激活状态进行判定。

在煤层产甲烷菌的生存环境特征试验中,利用两种煤样,通过改变培养皿温度、培养液 pH 水平以及营养元素分析产甲烷菌群的环境适应能力以及营养需求特征。

针对煤层具体环境,利用乳化液对煤样微生物群实施培养,通过培养的对比分析判定注水作业过程中微生物可被激活的可能性。

整个微生物培养试验过程是在无菌厌氧环境下实施试验。分别采用 Tutt-nauer 公司生产的 8350 型高压蒸汽灭菌器进行灭菌处理,RX-5 型甲烷、二氧化碳气体体积浓度传感器实施实时监测,利用恒温浴槽向试验系统提供恒定温度环境以达到试验过程中温度变化的需求。

通过以上试验方法分析完成注水作业过程中是否会由于激活产甲烷菌群而导致煤层瓦斯的增加。

2 微生物生长活性

微生物在地球已经存在数十亿年(图 2-1)。无论是在人类活动,还是在整个生态系统中,微生物都处于核心地位。尽管微生物是生态系统中最小的生命体,但是微生物群却创造了地球生命所需的大量且多样的生命维护元素,同时也为其他有机生命体的成长提供了不可缺少的各种物质以及化学反应过程,如氧气由地球最早的释氧蓝菌族(图 2-2)产生,并拉开了生命诞生的序幕。除此之外,多数动植物需要微生物的帮助来进行营养转化和有机物降解。因此,脱离了微生物,任何生态系统都将不复存在。

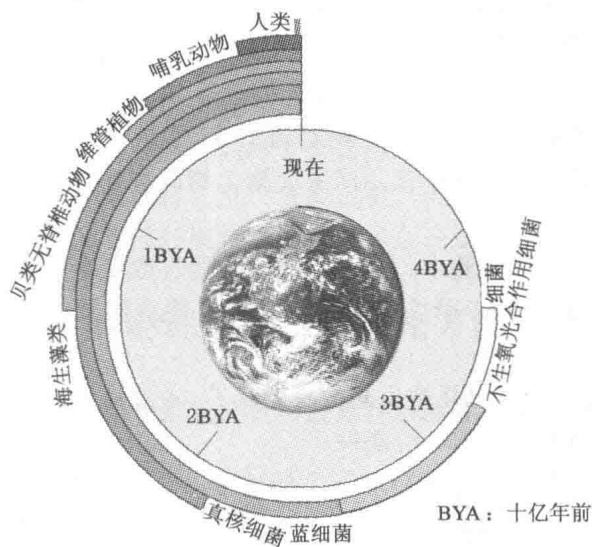


图 2-1 地球生命序列

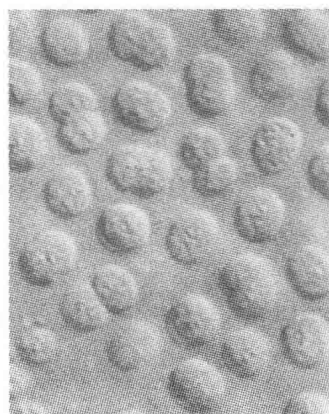


图 2-2 蓝菌族

2.1 微生物生长环境、营养和新陈代谢特征

微生物具有群落特征,即多种微生物往往混居在一起,具有相互补给特性,这种特性被称为微生物群。微生物群中的种群特征和数量,是由环境资源丰富度、环境特征、pH 值水平和氧含量等多种因素决定的。

自然环境下,细胞的生长和复制受多种条件限制,它们必须均衡不同的化学元素以及有机物质生成不同的功能系统或组织,这个过程即被称为新陈代谢。新陈代谢有异化作用(释能过程)和合成代谢(吸能过程)之分,但是都是对微生物所需营养的转化和合成。对生物而言营养并非千篇一律,不同组织成长、不同物种都有各自相对独特的营养搭配和营养配比。

在微生物营养中,有些是需求量很大、对应物种范围很宽,被称为常规营养元素;还有一些需求量相对较少,而且具有一定的针对性的营养元素被称为微量营养元素。尽管大多数成分是由 H、O、C、N、P 和 S 等元素构成(图 2-3),生物营养学分析表明,至少有 50 种元素是由生物自身合成的。

□ 微生物基本元素 ▤ 绝大多数微生物所必需的正负离子元素 ▨ 痕量金属，部分微生物所需元素 ▩ 特种用途元素 ■ 非必要元素，但参与新陈代谢 ■ 非必要元素，不参与新陈代谢																		2			
1																	2				
H																	He				
3	4															5	6	7	8	9	10
Li	Be															B	C	N	O	F	Ne
11	12															13	14	15	16	17	18
Na	Mg															Al	Si	P	S	Cl	Ar
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36				
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr				
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54				
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe				
55	56	57-71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86				
Cs	Ba	La-Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn				

- 微生物基本元素
- ▤ 绝大多数微生物所必需的正负离子元素
- ▨ 痕量金属, 部分微生物所需元素
- ▩ 特种用途元素
- ▧ 非必要元素, 但参与新陈代谢
- 非必要元素, 不参与新陈代谢

图 2-3 微生物营养元素表

2.1.1 碳和氮元素

所有的细胞结构都需要碳元素,同时绝大多数原核生物也都需要碳元素作为它们有机组织的构成部分。对所有高分子而言,碳元素是其不可缺少的元素成分,如干燥后的细胞其组分的 50% 以上都是由碳构成的。碳元素在微生物中以多种形式存在,如氨基酸、脂肪酸、有机酸、含氮碱基、糖、有机芳香族化合物等。生物可以吸收各种物质并在新陈代谢过程中合成自己能够使用的营养物质。有部分微生物属于自养生物,可以将二氧化碳中的碳元素转化成自身所需的所有营养物质。微生物需要利用光照或者非有机化学反应为其提供能量,以完成各种转化和合成。

除碳元素之外,氮元素是细胞结构中另一种重要元素,干燥细胞中包含 12% 的氮元素。同时,氮还是蛋白质、核酸和其他一些细胞结构的重要组成部分。自然界中的氮一部分以有机形式存在,同时更多地以 N_2 、 NH_3 或者 NO_3^- 等无机形式存在。在氮的吸收利用上,绝大多数的微生物也可以利用氨基作为氮源(表 2-1),但只有数种微生物可以利用氮气这种存在为最广泛的无机物作为