

国家自然科学基金(51404163)
山西省基础研究计划项目(2014021036-2)资助出版

生物成因煤层气 相关微生物多样性研究

郭红光 著



煤炭工业出版社

责任编辑：张江成

封面设计：晓 杰



微博



微信

ISBN 978-7-5020-4731-3



9 787502 047313 >

定价：15.00元

国家自然科学基金 (51404163) 资助
山西省基础研究计划项目 (2014021036-2)

生物成因煤层气相关微生物 多样性研究

郭红光 著

煤炭工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物成因煤层气相关微生物多样性研究/郭红光著. --北京:
煤炭工业出版社, 2015

ISBN 978 - 7 - 5020 - 4731 - 3

I. ①生… II. ①郭… III. ①煤层—地下气化煤气—生物多样性—研究 IV. ①P618. 110. 4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 290559 号

生物成因煤层气相关微生物多样性研究

著 者 郭红光
责任编辑 张江成
责任校对 李新荣
封面设计 晓 杰

出版发行 煤炭工业出版社 (北京市朝阳区芍药居 35 号 100029)
电 话 010 - 84657898 (总编室)
010 - 64018321 (发行部) 010 - 84657880 (读者服务部)

电子信箱 cciph612@126.com

网 址 www.cciph.com.cn

印 刷 北京市郑庄宏伟印刷厂

经 销 全国新华书店

开 本 850mm × 1168mm^{1/32} 印张 4^{3/4} 插页 3 字数 121 千字
版 次 2015 年 1 月第 1 版 2015 年 1 月第 1 次印刷
社内编号 7586 定价 15.00 元

版权所有 违者必究

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,本社负责调换,电话:010 - 84657880

内 容 提 要

生物成因煤层气是现存煤层气的重要组成部分，是由微生物降解煤所产生的以甲烷为主要成分的气体。本书作者利用地球化学与分子生物学相结合的方法，研究了柳林煤层气田和沁水煤层气田煤层气的成因类型、原位微生物群落多样性及产甲烷活性。现将有关研究成果汇编成册，为深入研究柳林煤层气田和沁水煤层气田的生物降解煤产甲烷机理，以及微生物增产煤层气的应用奠定基础。

本书可供从事微生物增产煤层气、煤的生物转化微生物生态的技术人员使用，也可作为大专院校采矿工程、安全工程、环境工程专业研究生的教学参考书。

前 言

煤层气作为一种清洁能源，在世界上备受关注，许多国家和地区已成功开采。根据煤层气的成因不同，煤层气分为热成因气和生物成因气。热成因气是在煤化阶段，由煤热解所产生的以烃类为主的混合气，期间没有微生物的参与。生物成因气是由微生物降解煤所产生的以甲烷为主要成分的气体。生物成因气的发现及研究使煤层气的生物再生成为可能，并由此引出了微生物增产煤层气技术，这极大地推动了煤层气产业的可持续发展。

生物成因气的生成和微生物增产煤层气的核心机理都是煤的生物降解产甲烷，其关键是参与其中的微生物群落。研究煤层气田原位生物成因气相关微生物群落结构和多样性具有重要的科学和实践意义。煤层气田原位微生物多样性研究始于2007年。近年来，生物成因气相关微生物多样性研究已在多个国家开展，如美国、日本、澳大利亚、加拿大等。在中国，煤层气相关研究起步较晚，煤层气相关微生物的研究还非常少。作者在最近数年中，特别是在攻读博士学位期间，以我国煤层气开采的热点区域——鄂尔多斯盆地和沁水盆地为研究对象，在煤层气田原位生物多样性、群落结构，以及产甲烷潜能等方面，做了一些系统的研究工作。

本书总结了作者近年来的研究成果，以期为煤层气的可持续发展、煤层气增产提供研究基础。全书共分为4章。

第1章介绍了生物成因煤层气的形成机理、相关微生物研究进展，以及目标煤层气田的研究现状。

第2章和第3章论述了鄂尔多斯盆地柳林煤层气田原位微生物多样性研究。第2章主要介绍了通过微生物学与地球化学相结合的方法,对柳林煤层气田煤层气的成因类型和产出水中的微生物多样性进行的研究,明确了甲基型产甲烷途径在柳林煤层气田生物成因气形成中的主导地位。第3章介绍了采用第二代测序方法——454高通量测序技术对柳林煤层气田产出水、目标煤层、邻近岩层中的微生物多样性,以及微生物群落在三者之间的分布情况进行的研究,再次证实了该煤层气田以甲基型产甲烷途径为主,同时发现了微生物群落在产出水、煤岩中分布的显著差异性。

第4章论述了沁水盆地原位微生物多样性研究。论述了利用地球化学结合454高通量测序技术和富集培养技术,对沁水盆地的煤层气成因类型、原位微生物群落结构、原位产甲烷菌的产甲烷类型及潜能进行的系统研究,明确了该煤层气田生物成因气的形成以氢营养型产甲烷途径为主。

作者十分感谢恩师张洪勋教授的教诲!还要感谢师长余志晟教授的教导!在作者的研究工作中,两位老师给予了莫大的启发、指导和帮助!感谢出版社同仁为本书出版付出的辛勤劳动。本书的出版得到了国家自然科学基金(51404163)和山西省基础研究计划项目(2014021036-2)的资助,在此,向国家自然科学基金委员会和山西省科技厅表示感谢!本书编写过程中参阅了国内外发表的相关研究成果,均已在参考文献中列出。为此,特向文献作者们表示感谢。

由于编者水平有限,再加上时间仓促,虽几经改稿,书中错误和缺点在所难免,错误和不妥之处,欢迎广大读者批评指正。

郭红光

2014年9月于太原

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 煤层气简介	1
1.2 煤层气的地球化学研究	5
1.3 生物成因气的形成机理	11
1.4 产甲烷菌简介	14
1.5 煤层气相关微生物研究进展	21
1.6 柳林煤层气田概况及研究现状	30
1.7 沁水煤层气田概况及研究现状	33
第 2 章 甲基营养型产甲烷途径主导柳林煤层气田 生物成因气的形成	37
2.1 研究材料和方法	37
2.2 实验结果	51
2.3 结果分析	62
2.4 本章小结	66
第 3 章 高通量测序揭示柳林煤层气田生物成因气的 甲基型产甲烷途径	68
3.1 研究材料和方法	69
3.2 实验结果	75
3.3 结果分析	84
3.4 本章小结	93

第4章 沁水盆地煤层气田生物成因气相关微生物 多样性研究	94
4.1 研究材料和方法	94
4.2 研究结果	98
4.3 结果分析	113
4.4 本章小结	120
附录	122
参考文献	125

第1章 绪 论

1.1 煤层气简介

1.1.1 何为煤层气

煤层气 (Coalbed Methane, CBM) 俗称瓦斯, 是指以吸附态为主游离态为辅, 赋存在煤层中以甲烷为主要成分的一种自生自储的非常规天然气^[1]。其中 CH_4 的体积分数一般大于 80%, 甚至可达 98%, 其余为少量的 CO 、 CO_2 、 N_2 、 H_2 等气体。长期以来煤层气被人们视作危害矿井安全的有害气体, 对煤矿生产有极大的危害。人们治理瓦斯一直都采用“抽排”的方法, 将其从煤层抽出后排入大气, 为煤矿生产提供便利。直到 20 世纪 70 年代发生能源危机后, 人们才认识到煤层气作为一种清洁、经济的能源, 可有效缓解世界能源危机, 人们治理瓦斯的思路也逐渐由“抽排”转向“抽采利用”。

1.1.2 国内外煤层气资源概述

根据国际能源署的统计资料 and 我国煤层气资源评价结果, 全球煤层气资源总量约为 $91 \times 10^{12} \sim 260 \times 10^{12} \text{ m}^3$, 其储量占世界天然气总储量的 30% 以上。世界上已发现的 26 个较大的天然气田 (储量大于 $2.83 \times 10^{12} \text{ m}^3$) 中, 有 16 个是煤层气田, 位居世界前 5 位的特大气田均为煤层气田^[2]。我国煤层气资源十分丰富, 是世界上继俄罗斯、加拿大之后的第三大煤层气储藏国^[3]。新一轮全国煤层气资源评价结果表明, 我国 42 个主要含气盆地埋深在 2000 m 以浅的煤层气地质资源量为 $36.18 \times 10^{12} \text{ m}^3$, 埋深在 1500 m 以浅的煤层气可采资源量为 $10.19 \times 10^{12} \text{ m}^3$ 。2011 年 12 月 31 日, 国家发展和改革委员会正式发布煤层气利用“十二

五”规划：政府将通过增加财政补贴、促进民企参与投资等多项政策，提高煤层气产量和利用率，要求到2015年煤层气的产量达到 $3.0 \times 10^{10} \text{ m}^3$ 。如果规划得以实现，届时的煤层气产量将是2010年的20倍^[4]。

美国率先涉足煤层气领域，进行煤层气的勘探、开发研究工作。自1979年开始，地质学家先后对美国13个盆地的煤层气进行了研究，启动了煤层气成藏条件研究，引发对煤层气产出机制认识的突破，使煤层气勘探开发在各盆地成功开展，如在黑勇士、圣胡安等盆地开展煤层气勘探、开发试验工作。经过几十年的努力，煤层气在美国已进入大规模商业开发阶段。美国的煤层气主要产于宾夕法尼亚系、白垩系和三叠系。在1995年，90%以上的煤层气产于阿拉巴马黑勇士盆地的宾夕法尼亚系地层和科罗拉多与新墨西哥圣胡安盆地的白垩系地层。现在美国的17个盆地都有煤层气产出，但主要产量来自于圣胡安盆地、粉河盆地和黑勇士盆地（表1-1），这三个盆地也是目前美国煤层气研究的热点区域。截至2006年，圣胡安盆地、粉河盆地和黑勇士盆地的煤层气历史累计产量约占全美煤层气累计产量的87%^[5-7]。在美国成功开发煤层气后，世界上一些主要产煤国家纷纷涉足这一领域，借鉴美国的成功经验进行煤层气的勘探开发研究。然而，

表1-1 美国煤层气勘探概况^[7]

盆地名称	地质时代	煤 阶	$R_o/\%$	可采储量/ ($\times 10^8 \text{ m}^3$)
圣胡安	上白垩世	长烟煤-气肥煤	0.75~1.2	2391.7
粉河	古新世	褐煤	0.3~0.4	684.7
黑勇士	宾夕法尼亚纪	烟煤	1.0~1.9	585.6
阿巴拉契亚	宾夕法尼亚纪	烟煤		564.9
尤因塔	上白垩世	褐煤	0.5~0.6	252.9
拉顿	上白垩世~古新世	烟煤	0.6~1.5	788.9

各国煤层特性差异较大, 美国的成功经验不能完全复制。截至目前, 除澳大利亚进展喜人外, 其他国家均尚未进入煤层气的大规模开发阶段。

我国煤层气的勘探研究起步较晚。20 世纪 50 年代, 煤层气以抽放为主, 以减少煤矿瓦斯危害为目的; 70 年代开始在少数煤矿进行煤层气商业开发试验; 90 年代开始在全国范围内开展煤层气评价研究和勘探工作^[8]。迄今为止, 我国已查明全国煤层气资源的分布状况和赋存格局, 逐步形成了一系列煤层气勘探开发技术, 并成立了煤层气开采试验区。近年来, 煤层气开发在山西河东柳林、山西晋城、河北大城、陕西韩城等地先后取得重大突破, 特别是我国煤层气勘探的热点地区——鄂尔多斯盆地和沁水盆地更是捷报频传。

1.1.3 煤层气开发意义

煤层气作为新型清洁能源, 对其开发具有以下几方面的意义:

(1) 煤层气作为一种新能源, 可缓解我国天然气能源供应不足的现状。煤层气以烃类气体为主要成分, 属于一种清洁能源, 燃烧时仅产生少量 CO_2 ; 煤层气的发热量很高, 达 $8000 \sim 9000 \text{ kcal/m}^3$, 相当于常规天然气的 90% 以上, 且价格较为适中。

(2) 矿井抽放煤层气, 减少开采灾害, 有助于煤矿的安全开采。煤层气即瓦斯, 是影响煤矿安全生产的最主要问题。瓦斯爆炸不仅带来经济损失, 而且可造成人员伤亡。在进行煤炭开采之前进行煤层气的开发, 抽取赋存在煤层中的大部分瓦斯后, 可有效降低、甚至杜绝瓦斯灾害。同时, 瓦斯的大量抽放可减少矿井安全防治工作的资金、人力投入, 降低矿井生产成本。

(3) 减少温室气体的排放, 保护大气环境。煤层气的主要成分甲烷, 是大气中主要的温室气体之一。甲烷具有极强的红外线吸收能力, 其温室效应是二氧化碳的 20 多倍, 对臭氧层的破

坏是二氧化碳的 7 倍。因此,煤层气的开发利用能够减少煤矿开采过程中的甲烷排放量,从而有效降低温室效应的危害。此外,二氧化碳驱替增产煤层气技术的迅速发展,不仅提高了煤层气的采收率,而且可在煤层中储存大量 CO_2 , 进一步减少温室气体的排放。

综上所述,煤层气产业的发展,不仅是新能源开发利用的必然趋势,而且也是煤矿安全开采和环境保护的客观要求。

1.1.4 煤层气成因

煤层气的生成是以煤岩的有机组分为基础,以各种地质运动、构造活动引起的沉积埋藏并导致煤化作用为条件,内、外因共同作用的结果^[9]。植物体埋藏后,经过微生物的生物、化学作用转化为泥炭(泥炭化作用阶段),泥炭又经历以物理-化学作用为主的地质作用,向褐煤、烟煤和无烟煤转化(煤化作用阶段)。在煤化作用过程中,成煤物质发生了复杂的物理-化学变化,挥发分含量和含水量减少,发热量和固定碳的含量增加,同时也生成了以甲烷为主的气体。泥炭在煤化作用过程中产生煤层气,已知的有两种生成机制,即生物成因和热成因,生成的气体分别称为生物成因气和热成因气。

生物成因气是指在相对低的温度(一般小于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下,通过微生物的参与或作用,在煤层中生成以甲烷为主的气体。生物成因气的生成有 3 种机制,即二氧化碳的还原作用、有机酸(一般为乙酸)的发酵作用、甲基类化合物的发酵作用。其产甲烷途径又分别称为二氧化碳还原型产甲烷途径(或氢营养型产甲烷途径)、乙酸发酵型产甲烷途径和甲基营养型产甲烷途径。目前在煤层气田发现的主要为二氧化碳还原型和乙酸发酵型产甲烷途径,甲基营养型产甲烷途径也在生物成因气生成中起重大作用。在某些煤层气田中,生物成因气可能是煤层气的一个重要来源^[10-12]。生物成因最初由 C. T. Rightmire 等(1984)在对美国含煤盆地的煤层气研究后提出^[1]。此后, D. D. Rice 等

(1993) 根据煤层气的稳定同位素组成和煤岩 R_o 值, 也提出煤层气中含有生物气^[13]。A. R. Scott 等 (1994) 在前人基础上, 针对煤化作用早期阶段的生物成因气, 提出了次生生物成因甲烷, 即次生生物成因煤层气^[14]。至此, 生物成因气的来源、分类基本确定。原生生物成因煤层气是在煤化作用早期阶段, 由相对低温和浅埋深的泥炭沼泽环境中的泥炭或低煤级煤, 通过微生物分解等一系列复杂过程所生成的。由于泥炭或低变质煤中的孔隙有限, 而且埋藏浅、压力低, 对气体的吸附作用也弱, 因此一般认为原生生物成因气不能被大量保留在煤层。煤系地层在成煤后因构造运动被抬升并剥蚀到近地表, 含菌地表水下渗进入煤层, 在相对低的温度下, 煤化过程中产生的湿气、正烷烃及其他有机物经微生物降解和代谢作用而生成次生生物成因。煤层中存留的生物成因气大部分属于次生生物成因气。

当温度超过 50 ℃, 煤化作用增强, 煤中碳含量丰富, 而大量富氢和富氧的挥发性成分被释放 (去挥发分作用), 其挥发性成分主要是甲烷、二氧化碳和水等, 即热成因气。热成因气的生成一般分为早期阶段和主要阶段 (也称晚期阶段)。早期阶段, 从高挥发烟煤中生成气体, 含有较多的乙烷、丙烷及其他湿气成分; 晚期阶段, 随着沉积条件, 即温度、压力的变化, 煤层组成发生不同程度的变化, 释放大量气体, 该阶段是热成因煤层气形成的主要阶段。

1.2 煤层气的地球化学研究

煤层气成因分为热成因和生物成因。生物成因气又可分为二氧化碳还原型、乙酸发酵型和甲基营养型 3 种。一般来说, 国内外学者通常利用煤层气的地球化学特征来鉴定目标煤层气的成因类型。

煤层气是伴随煤的成熟以及复杂的地质构造运动过程而形成的。在成煤过程的泥炭化作用阶段和煤化作用阶段, 以及后期煤

层抬升阶段,在微生物或热力作用下,伴随煤成分与结构的变化,烃类气体不断形成。而不同阶段、不同成因类型的烃类气体具有不同的组分与稳定同位素特征。现今保留在煤层中的煤层气是经过运移和聚集的各阶段、各成因类型气体的混合物,其独特的地球化学特征是各种因素叠加作用的结果^[15]。因此,研究煤层气的地球化学特征对煤层气成因类型的鉴定,形成条件、保存程度和后期运移散失的研究,以及煤层气资源评价和勘探开发具有重要意义。煤层气的地球化学研究主要包括煤层气的组分构成特征分析和煤层气的稳定同位素测定。

1.2.1 煤层气组分构成特征分析

煤层气的组分主要有:CH₄、重烃(C₂₊)、N₂、CO₂、H₂等。通过对世界各国生产矿井、煤层气开采气以及解吸气成分的统计,各地煤层气组分差异较大,但一般以CH₄为主要成分,其次是重烃和其他气体^[13]。后续的煤层气研究也同样证明了这一论证(表1-2)^[11,16-18]。

表1-2 部分已报道煤层气田煤层气气体组分

煤层 气田	煤层气气体体积百分比浓度/%					$\frac{C_1}{C_2 + C_3}$	参考 文献
	CH ₄	C ₂ H ₆	C ₃ H ₈	CO ₂	N ₂		
西里西亚	62.9 ~	0 ~	0 ~	0 ~	0.77 ~	n. a.	11
	99	0.73	0.15	16.7	21.3		
卢布林	14.4 ~	0	0	3.9 ~	18.7 ~	n. a.	11
	76.9			7.4	76.2		
北海道	86.5 ~	n. a.	n. a.	1.5 ~	0 ~	187.8 ~	16
	94.8			3.9	7.8	298.8	
伊利诺伊	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	893 ~ 17529	17
粉河盆地	5.09 ~	0 ~	0 ~	0.86 ~	0 ~	98 ~	19
	97.95	0.16	0.22	28.81	77.80	4240	

注:1. 表中 n. a. 代表未检测。

2. 表中0代表低于检测限值。

3. C₁、C₂、C₃ 分别代表甲烷、乙烷、丙烷的体积百分比浓度,余同。

1.2.2 煤层气稳定同位素测定

有关煤层气的稳定同位素特征研究涉及 ^{13}C 稳定同位素比率($\delta^{13}\text{C}$)及 ^2H 稳定同位素比率(δD)。已报道的煤层气稳定同位素特征主要包括 CH_4 和 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$, CH_4 的 δD , 有时还会包括重烃的 $\delta^{13}\text{C}$ 。某些研究还测定了产出水中 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 以及产出水中的 δD 。Rice等曾对世界各国煤层气碳、氢稳定同位素数据进行统计^[13], CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 变化范围在 $-80\text{‰} \sim -16.8\text{‰}$ 之间, δD 变化范围在 $-333\text{‰} \sim -117\text{‰}$ 之间; CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 变化范围在 $-26.6\text{‰} \sim +18.6\text{‰}$ 之间; 乙烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 变化范围在 $-32.9\text{‰} \sim -22.8\text{‰}$ 之间。

此后所报道的煤层气稳定同位素特征也基本在上述范围内(表1-3)。如: Smith等通过研究澳大利亚Sydney和Bowen盆地煤层气的稳定同位素特征, 确定了生物成因气的存在。结果显示, CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-78.9\text{‰} \sim -18.0\text{‰}$ 之间, CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-15.5\text{‰} \sim +16.7\text{‰}$ 之间, CH_4 的 δD 值在 $-255\text{‰} \sim -152\text{‰}$ 之间^[20]。

表1-3 部分已报道煤层气田煤层气气体稳定同位素比率

煤层气田	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$		$\delta\text{D}/\text{‰}$	参考文献
	CH_4	CO_2	CH_4	
西里西亚	$-79.9 \sim -44.5$	$-27.2 \sim -2.8$	$-202 \sim -153$	11
卢布林	$-67.3 \sim -52.5$	$-13.7 \sim -11.9$	-201	11
北海道	$-45.1 \sim -42.5$	$-3.5 \sim 19.0$	$-228 \sim -134$	16
伊利诺伊	$-66.5 \sim -57.2$	$-4.7 \sim 11.4$	$-206 \sim -187$	17
粉河盆地	$-83.37 \sim -51$	$-24.6 \sim 22.4$	$-325 \sim -283.5$	19

1.2.3 煤层气来源的鉴别

热成因煤层气在煤化中期产生, 而生物成因煤层气在煤化的