

# 1854m~2608m 气源岩中产甲烷菌的 富集培养和发酵产气实验研究<sup>①</sup>

丁安娜<sup>1</sup> 连莉文<sup>2</sup> 张辉<sup>2</sup> 张中宁<sup>1</sup> 惠荣耀<sup>1</sup>

(1 中国科学院兰州地质研究所,兰州 730000)

(2 农业部成都沼气科学研究所,成都 610041)

**提 要** 供试样品 10 个,为准噶尔盆地马庄气藏侏罗系气源岩,埋深 1854m~2608m,形成于沼泽—滨浅湖相沉积环境,为 I<sub>B</sub>~II 型有机质, R<sub>o</sub> 值 < 0.74%,处于低演化阶段。本文就气源岩中厌氧发酵细菌的数量及产甲烷菌的类型、分布状况进行了研究,并直接利用地质样品进行了生化模拟产气实验。样品中发酵性细菌数量分布在 5×10<sup>2</sup> 个/g~2.3×10<sup>4</sup> 个/g 之间。在 35℃~65℃ 状态下,从样品中普遍富集培养出产甲烷球菌 (*Methanococcus*); 在 55℃ 条件下,从 7 号样品中富集培养出产甲烷杆菌 (*Methanobacterium*)。模拟产气结果表明:①35℃ 时的甲烷累计产气量最高,为 29.48ml~39.41ml,占总产出气体的 80% 以上。(2) 产出气体组份一致,以 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 为主,含极微量的乙烷和丙烷。(3) 在 35℃ 时,产出甲烷气体的 δ<sup>13</sup>C 值分布在 -40.12‰~-43.98‰ 之间,55℃ 时为 -56.82‰~-60.10‰,65℃ 时为 -58.06‰~-65.11‰,35℃~55℃ 时产出气体的甲烷碳同位素比值中值与实际气藏天然气的甲烷 δ<sup>13</sup>C 值相近。该项研究为探讨产甲烷菌等厌氧微生物在 2000 多米沉积岩中仍有活动提供了直接证据,为研究地学微生物和中浅层沉积物中天然气的形成机理提供了有意义的科学信息。

**关键词** 气源岩 产甲烷菌 发酵模拟实验 准噶尔盆地

**第一作者简介** 丁安娜 49 岁 副研究员 地球化学

## 前 言

以往,国外学者在地学微生物的研究中,对产甲烷菌的培养主要集中在 1000m 深度以内,对陆相地层 1000m~3000m 层段沉积岩研究甚少,国内也不多见。近年来,我国分别在松辽盆地,渤海湾、云南、新疆等地相继发现了生成于低成熟阶段的天然气,对其成因有不同的解释,特别是对 1000m~3000m 层段陆相地层中产甲烷菌能否存在,是否有活性、产气量等,都有不同的疑问,为此,笔者选择了准噶尔盆地马庄气藏侏罗系气源岩样品 10 个,对其地质背景、35℃ 厌氧发酵性细菌的 MPN 计数,35℃ 产甲烷菌的富集培养,产气活性以及在 35℃、55℃、65℃ 三个温度段发酵模拟产气实验进行了初步的研究。

## 1 测试样品的地质背景

样品为准噶尔盆地马庄气藏侏罗系气源岩,埋深 1854m~2608m, R<sub>o</sub> < 0.74%,形成于沼泽—滨浅湖相沉积环境。气源岩干酪根的元素分析结果表明, H/C 原子比为 0.35~0.95, O/

① 国家自然科学基金资助项目

C 原子比为 0.11~0.16, 在 Van Krevelen 类型图中, 烃源岩处于 II<sub>B</sub>~III 型的位置。全岩 Rock-Eval 分析, 氢指数为 1mg/gCOT~200mg/gCOT, 氧指数为 8mg/gCOT~64mg/gCOT, 在 邬立言 等人<sup>[1]</sup>的 烃源岩 类型图 版中 均落在 II<sub>B</sub>~III 型 范围内, 并以 III 型 为主。最大 热解温 度, 有 4 块 样品未 达到 400℃, 其余 6 块 样品为 419℃~431℃, 比 其它地 区 III 型 有机质 都低, 再次 显示出 低成熟 的特性。表 征历史 成烃的 S<sub>1</sub> 峰值 为 0.02mg/gCOT~3.07mg/gCOT, 热解 成烃的 S<sub>2</sub> 峰值 为 0.01mg/gCOT~5.61mg/gCOT, 代表 CO<sub>2</sub> 含量 的 S<sub>3</sub> 峰值 为 0.02mg/gCOT~0.80mg/gCOT, 与 其它 III 型 烃源岩 相比, 这 三个峰 值明显 较低, 表明 在低演 化样品 中陆源 有机质 经过脱 氧富氢, 有相 当数量 已向气 态烃转 化。部 分样品 还有一 定的生 烃潜能, 如 3 号 和 8~10 号 样品(表 1)。

表 1 马庄气藏烃源岩干酪根元素分析和全岩 Rock-Eval 分析

Table 1 Kerogen elements and Rock-Eval data of the whole source rock from the Mazhuang gas reservoir

样品 编号	岩性	时代	层段 (m)	元素分析		Rock-Eval 分析										烃类 源岩 型
				H/C	O/C	T <sub>max</sub> ℃	COT %	S <sub>1</sub> mg/g	S <sub>2</sub> mg/g	S <sub>3</sub> mg/g	S <sub>1</sub> +S <sub>2</sub> mg/g	S <sub>2</sub> /S <sub>3</sub>	IH mg/gCOT	IO mg/gCOT		
1	灰绿色泥岩	J <sub>3</sub>	1854~1855	0.62	0.12	—	0.80	0.02	0.01	0.06	0.03	0.17	1	8	II	
2	灰绿色泥岩	J <sub>2</sub>	2173~2176	0.63	0.11	—	0.62	0.02	0.01	0.08	0.03	0.13	2	13	II	
3	灰绿色泥岩	J <sub>2</sub>	2188~2191	0.85	0.13	420	0.63	0.81	1.09	0.24	1.90	4.54	173	38	II <sub>B</sub>	
4	深绿色 粉砂泥岩	J <sub>2</sub>	2192~2194	0.35	0.15	—	0.36	0.04	0.01	0.06	0.05	0.16	3	17	II	
5	灰色泥岩	J <sub>2</sub>	2373~2379	0.56	0.16	425	0.42	0.05	0.02	0.27	0.07	0.07	5	64	II	
6	灰绿色泥岩	J <sub>2</sub>	2379	0.60	0.15	—	0.12	0.03	0.01	0.02	0.04	0.50	8	17	II	
7	灰绿色 砂质泥岩	J <sub>3</sub>	2191~2193	0.51	0.16	429	0.81	0.03	0.02	0.28	0.05	0.07	2	35	II	
8	灰色泥岩	J <sub>2</sub>	2380~2383	0.95	0.13	419	2.80	3.07	5.61	0.62	8.68	9.04	200	22	II <sub>B</sub>	
9	灰色炭 质泥岩	J <sub>1</sub>	2603~2608	0.69	0.11	431	2.12	0.33	2.01	0.80	2.34	2.51	95	38	II	
10	灰色含碳粉 砂质泥岩	J <sub>1</sub>	2607	0.58	0.12	426	1.18	0.43	1.15	0.36	1.58	3.19	97	31	II	

据有机显微组分的鉴定结果, 镜质组含量较高, 为 31%~77%, 其次是菌解无定形体, 为 8%~40%, 有 6 个样品在 20% 以上, 此外, 还有一定数量的藻无定形体, 为 5%~25%, 表明部分以陆源高等植物为主的有机质在水解细菌、纤维素分解菌、脂肪酸分解菌等的强烈改造下形成了无荧光或荧光无定形体, 这些先质可能是气源岩的主要原始母质。

用米丘林土壤分析法对陆源有机质的结构组分进行了分析, 实测含水量为 0.69%~

4.55%,有机质含量为 0.24%~5.54%,有机氮痕量。有机质成份以粗纤维,木质素和残余腐殖酸为主。可溶性糖几乎全部降解(表 2)。样品虽处于低演化阶段,但气源岩中的陆源有机质未保存大量原始组份,它们已经转化成气态烃。

阜康凹陷的古地温梯度为 1.9℃/100m,所采样品原始地层温度约为 35℃~52℃,平均 48.5℃,因此选择 35℃、55℃为主要实验温度较为符合实际地质情况。

同气源岩紧密相连的层间水是产甲烷菌等微生物群体生存繁殖的重要环境,高盐度的层间水将会对产甲烷菌显示出抑制作用,马庄气藏气源岩的层间水主要为 NaHCO<sub>3</sub> 型, J<sub>2</sub> 层组水中 Cl<sup>-</sup> 离子浓度为 4000mg/L,矿化度为 8000mg/L; J<sub>1</sub> 层组 Cl<sup>-</sup> 离子浓度为 5800mg/L,矿化度为 11000mg/L,与深海钻探生物气田结果相比,矿化度普遍较低,适合于产甲烷菌的生长和发育。

表 2 原始样品的生物化学组份

Table 2 Biochemical compositions of original samples

样品编号	原始样品生物化学组份分析(%)								水解细菌数 (个/g 岩石)
	有机质	腐殖酸	粗纤维	有机氮	水分	组灰份 550℃灼 烧残留物	可溶性 总糖	乙醚 提取物	
1	1.52	0.240	1.29	0.021	2.88	94.00	—	—	2.3×10 <sup>4</sup>
2	1.24	0.206	1.10	0.019	2.00	94.84	—	0.15	1.2×10 <sup>3</sup>
3	1.66	0.327	1.07	0.019	2.70	92.06	—	1.94	5.0×10 <sup>2</sup>
4	0.71	0.206	1.10	—	2.23	93.99	—	0.18	3.0×10 <sup>3</sup>
5	0.87	0.292	1.29	0.030	0.69	92.60	0.07	0.03	1.4×10 <sup>3</sup>
6	0.24	0.034	0.90	0.030	1.36	95.39	—	—	—
7	1.71	0.364	1.26	0.031	4.55	91.36	—	0.15	0.8×10 <sup>3</sup>
8	5.54	0.275	1.91	0.029	2.66	92.42	—	1.94	3.0×10 <sup>3</sup>
9	3.31	0.309	2.10	0.038	0.99	92.78	—	0.18	0.8×10 <sup>3</sup>
10	2.23	0.250	1.99	0.046	1.36	92.71	—	0.03	5.0×10 <sup>2</sup>

\* “—”为未检测出

pH 值能影响产甲烷菌酶的离解和底物的极性基团,从而妨碍酶促反应的进行,国外报导产甲烷菌生长的 pH 值范围为 5.9~8.8,最佳值为 7.2~7.6,属于微碱性环境,本项实验所用供试样品的 pH 值大约为 7.0~8.8。

## 2 厌氧条件的保证

生存在 1854~2608m 地层中的产甲烷菌等厌氧微生物均需在绝对无氧的条件下检测。提供无氧环境的系统有铜柱除氧系统和厌氧箱除氧系统<sup>[2]</sup>。本项实验中所用 N<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub> 气体均通过在 35℃ 条件下加热还原的铜柱除去微量氧,接种、稀释及气体的加入全部采用无菌无氧注射器。培养基制备、样品前处理、分装等全部在厌氧箱中完成。并在培养基中加入灵敏的氧化还原指示剂——刃天青,以指示和检测微量氧的存在。

### 3 水解细菌的 MPN 计数

水解细菌是甲烷发酵过程中第一阶段微生物类群的总称,具有重要的生理功能,它可以将不同的大分子物质降解为水分子物质,在水解过程中,部分细菌的代谢产物,如  $H_2$ 、 $CO_2$ 、乙酸等,可以直接被产甲烷菌转化为甲烷。

#### 3.1 水解细菌计数培养基(35℃,组分以 g/L 计)

葡萄糖:10.00	蛋白胨:5.00	NaCl:3.00
牛肉膏:3.00	L-盐酸半胱氨酸:0.50	
刃天青(0.1%):1.5ml		pH 值:7.00

#### 3.2 水解细菌的 MPN 计数

在每只厌氧试管中分别装入 4.5ml 培养基,120℃灭菌 20 分钟。取泥岩样品 0.5g,依次作 10 倍稀释,每一稀释度样品为 3 只试管重复,置于 35℃条件下培养,一周后用 SC-3A 型气相色谱仪检测每只试管中  $H_2$  气产生情况,有  $H_2$  气产生的样品,证明有水解细菌,再用统计学方法,估算出水解细菌的数量。表 2 为 MPN 计数结果,除 6 号样品外,其余 9 个样品都普遍含有水解细菌,分布数量在 500~23000 个/g 之间,需要指出的是,6 号样品的有机质丰度、腐殖酸和粗纤维的含量都是最低的。因此,水解细菌的活性可能与有机质的类型、丰度及沉积环境等因素有关。

### 4 产甲烷菌的富集培养

产甲烷菌生活在厌氧生境、是古细菌中一类最大的菌群,由于它具有特殊的生理和生化功能,在某些类型天然气的形成过程中,产甲烷菌起着重要作用<sup>(3,4,5)</sup>。

#### 4.1 本源产甲烷菌的富集培养基(35℃,组分单位为 g/L)。

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ :0.14	$KH_2PO_4$ :0.14
NaCl:10.00	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ :1.00
$NaCl \cdot 2H_2O$ :0.20	KCl:0.33
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ :4.00	$NH_4Cl$ :0.25
$NaHCO_3$ :2.00	$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 7H_2O$ :0.002
酵母膏:2.00	$Na_2S \cdot 9H_2O$ :0.20
L-盐酸半胱氨酸:0.50	维生素溶液:10ml
微量元素溶液:10ml	刃天青(0.1%):1ml
调节 pH 至 7.0	

#### 4.2 产甲烷菌的富集培养

分别将 20ml 培养基分装于 60ml 血清瓶中,120℃灭菌 20 分钟。然后分别接种 2.0g 气源岩样品,同时加入甲酸、乙酸、 $H_2$  和  $CO_2$ ,在 35℃条件下振荡培养,15 天后每隔 10 天测定一次甲烷,在产甲烷高峰时,将产甲烷的培养液制成温片,在荧光显微镜下观察,用紫外光照射,波长 420nm,由于产甲烷菌含有特殊的辅酶-F<sub>420</sub>,在氧化状态下,会发出明亮的蓝绿色荧光,可检测到产甲烷菌的存在,并采用高速摄影机拍下有活性的产甲烷菌的照片。本项研究检测到的产甲烷菌为 *Methanococcus*(35℃普遍培养出)和 *Methanobacterium*(55℃7 号样品培养

出,培养基略)。这是首次从 1854~2608m 陆相地层气源岩中培养出产甲烷菌,它进一步证明了在埋藏深度超过 1000m 的气源岩中仍有产甲烷菌存在,并具有活性。

## 5 地质样品发酵产气模拟实验

本项实验采用培养基加地质样品和种液的方法进行。

### 5.1 发酵装置

选择 60ml 和 160ml 的血清瓶作厌氧发酵器,预先标定瓶体积,计算出发酵瓶顶空体积。发酵器压力,初始为常压,实验期间为气体自压力,控制在小于 1.5atm·以内。

### 5.2 接种物和接种量:

按不同实验温度和样品中本源优势产甲烷菌群选择接种物源,并进行培养和驯化(表 3)。在 35℃ 和 65℃ 富集培养过程中,本源菌主要是产甲烷球菌,55℃ 时,地质试样中主要培养出产甲烷球菌和杆菌,所以模拟实验选择优势菌群为产甲烷杆菌(接种物、35℃ 和 65℃)、甲烷丝菌和甲烷八迭球菌(接种物、55℃),这样有可能认为在实验过程中增加的  $CH_4$  产量包括本源产甲烷菌的产气量。

表 3 接种物选择与驯化

Table 3 Inoculum selection and domestication

温度	35℃	55℃	65℃
出 种 源	肉联废水消化污泥(2L)	乐至酒厂厌氧消化污泥	资阳糖厂厌氧消化污泥
	重油厌氧降解种泥(0.2L)		
	酒精废水消化污泥(0.1L)		
	产甲烷菌纯培养物(0.1L)		
驯化温度(℃)	35±1	55±1	65±1
驯化时间(天)	54	15	15
终点 TS 含量(mg/ml)	8.26	14.58	—
终点 VS 含量(mg/ml)	3.92	7.02	—
优势产甲烷菌	甲烷杆菌	甲烷八迭球菌、甲烷丝菌	甲烷杆菌

TS 为样品中有机物质浓度; VS 为接种物有机物质浓度。

### 5.3 模拟实验与结果讨论

在每个厌氧发酵器中加入 20ml 培养基、20ml 种液、5.0g 气源岩粉末,CK 为只加入培养基和接种物、不加入地质试样的标样。35℃ 发酵 47 天,55℃ 发酵 49 天,65℃ 发酵 70 天,当产气基本终止时,测定  $CH_4$  和  $CO_2$  累计产量。再根据样品的绝对干重及有机质含量换算出样品的  $CH_4$  和  $CO_2$  产率(图 1)。从表 4 可以看出,在 35℃ 时,各测点的甲烷累计产气量,有地质样品的均高于 CK 标样,与以往成都沼气所模拟实验结果大体上类同。其原因可能是模拟温度与实际地层温度接近。CK 标样中的气体主要是接种物中产甲烷菌利用培养基为营养源,自身产生的气体。接种地质样品的厌氧发酵器中的  $CH_4$ ,除包括种液产甲烷菌自身产  $CH_4$  气量外,还包括种液产甲烷菌和地质样品中本源产甲烷菌利用培养基和样品中有机质

产出气体的量。

表4 不同温度发酵模拟实验甲烷累计产量

Table 4 Methane accumulating yields at different temperatures in the fermentation experiment

温度点		35℃								
发酵天数	测定日期	一月					二月			
		三日	五日	十三日	十六日	廿日	廿七日	一日	八日	廿日
样品编号		开始	2	10	13	17	24	27	35	47
CK*		3.96	8.66	9.38	14.60	18.51	24.93	27.14	29.48	29.39
1		9.15	14.84	12.20	18.66	28.62	34.13	39.23	39.41	39.40
2		9.36	15.97	13.44	20.49	31.23	37.62	40.12	39.10	39.20
3		9.24	16.85	13.34	19.14	30.52	35.33	37.40	37.88	37.37
4		8.84	14.30	13.73	22.51	31.05	37.12	38.74	38.97	38.63
5		8.22	15.13	12.41	21.34	29.56	35.00	37.08	37.26	37.34
6		9.33	12.10	11.50	20.32	27.79	35.62	36.48	36.47	36.30
7		9.45	13.56	12.88	21.52	25.59	33.42	36.27	36.12	36.09
8		8.23	9.33	12.81	21.43	28.67	34.07	34.92	34.07	34.18
9		9.13	12.42	13.40	21.74	30.48	35.09	36.84	36.99	37.03
10		9.93	13.60	13.30	21.64	28.45	33.78	36.05	36.62	36.80

续表4 不同温度发酵模拟实验甲烷累计产量

Table 4 Methane accumulating yields at different temperatures in the fermentation experiment

温度点		55℃							65℃					
发酵天数	测定日期	一月			二月				三月	五月	六月		七月	
		廿二日	廿四日	廿七日	一日	八日	十五日	廿五日	九日	廿六日	十三日	廿八日	十一日	廿一日
样品编号		2	4	7	11	18	25	35	49	28	35	47	60	70
CK*		6.41	9.32	15.01	20.68	22.20	20.57	21.79	26.48	9.75	11.79	21.65	37.13	40.81
1		5.44	8.36	13.30	17.31	19.26	19.25	29.43	26.82	8.05	10.89	22.41	38.40	41.84
2		6.00	9.42	13.16	16.17	19.86	17.19	20.08	23.89	9.03	11.37	21.29	38.91	40.76
3		5.27	7.99	11.12	12.86	14.83	15.88	17.85	23.18	7.77	12.46	24.46	39.84	43.88
4		4.77	7.82	12.88	15.77	18.76	21.40	26.81	27.38	8.40	12.19	26.67	42.84	47.30
5		5.63	8.93	12.61	14.97	16.63	20.00	24.02	23.91	9.61	12.01	22.61	35.95	41.32
6		5.40	7.85	13.31	14.33	18.55	20.25	25.26	26.51	7.55	11.63	23.50	38.41	44.58
7		5.04	7.58	13.04	14.36	18.35	20.29	25.40	27.57	8.17	13.28	25.86	38.97	46.30
8		4.91	7.56	12.08	13.10	16.04	17.62	22.82	29.14	9.64	11.19	26.20	37.98	44.20
9		4.79	7.52	11.08	12.56	14.50	15.42	18.73	15.53	8.37	12.63	22.83	32.60	41.10
10		4.80	7.45	11.29	14.00	15.81	18.18	21.01	18.86	5.37	11.87	22.11	34.53	37.62

\* CK为只加接种液和培养基,不加地质样品的标样(1992年完成实验)

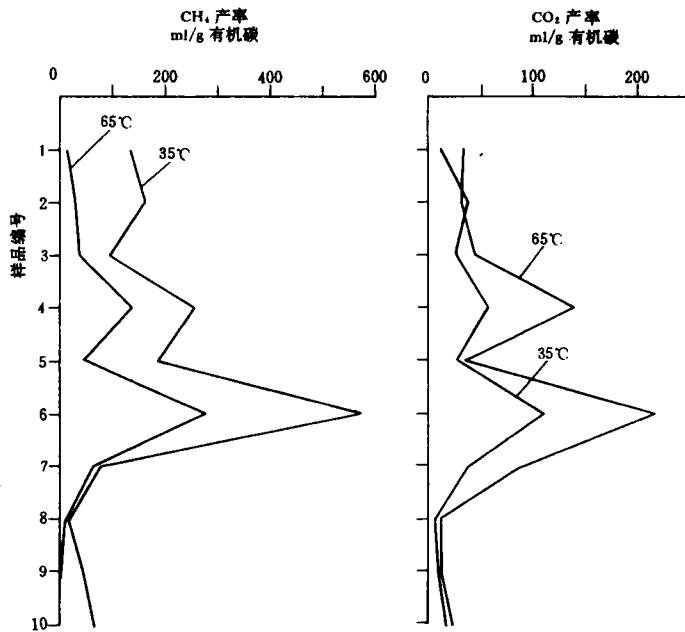


图 1 35℃~65℃微生物产气模拟实验气体产率

(55℃时气体产率略低于 65℃,曲线几乎重合,故此省略)

Fig. 1 CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> yields of per gram organic carbon at 35℃~65℃ simulating experiment

(55℃ curve is omitted because the gas yield at 55℃ is less than that at 55℃ and their curves almost overlap)

55℃时甲烷累计产气量从开始至很长时间内,CK 标样均比加入地质样品的高,直到产气即将终止时,样品才表现出比 CK 标样略高。65℃与 55℃发酵有相似的趋势,在这两个温度段,初始产甲烷过程所需时间越来越长,可能是模拟温度高于实际地层温度,地质样品初始没有介入反应,接种物经过驯化,对温度有适应性,可直接利用培养基中较丰富的基质产出 CH<sub>4</sub> 气,而本原产甲烷菌经过较长时间的适应,才产出少量 CH<sub>4</sub> 气体。

从甲烷产率来看,①三个温度下的模拟实验,除 9、10 号样品甲烷产率较低外,其余样品均有较高的产率,多数样品分布在 77 ml/g<sub>Org.</sub> ~ 200 ml/g<sub>Org.</sub> 范围内,最高达 568 ml/g<sub>Org.</sub>。②与成都沼气所以往的实验相同,35℃段为主产气段。甲烷产率高低排列顺序为 35℃ > 65℃ > 55℃。③就同一个样品而言,甲烷产率高,CO<sub>2</sub> 产率也高。④在相同温度状态下,CH<sub>4</sub> 产率高,CO<sub>2</sub> 产率也高。⑤从总趋势看,温度升至 65℃时,甲烷产率略有降低,CO<sub>2</sub> 产率升高。

#### 5.4 模拟产出气体的地球化学特征

(1)气体组分 模拟产出气体的组分比较一致,以 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 为主,含极微量的乙烷和丙烷。在 35℃和 55℃时,CH<sub>4</sub> 含量普遍大于 80%,到 65℃时甲烷含量下降,最长达 50%。

(2)甲烷碳同位素比值 气源岩模拟发酵产出气体的碳同位素比值在 35℃时最重,为 -40.12‰ ~ -43.98‰,当温度升高时变轻,55℃为 -56.82‰ ~ -60.10‰,65℃为 -8.06‰ ~ -65.11‰(表 5)。35℃温度段与实际地层温度接近,从样品中富集培养出产甲

烷球菌,该菌群细胞壁厚度均匀,对地层温度和压力适应性较强,在达到一定深度后,仍然具有较强活性,利用 $^{13}\text{C}$ 的能力也比其它产甲烷菌强。在模拟产气达到高峰时,除接种物中的优势菌种外,地质样品中的主导菌种也很活跃,故而实验产出气体的甲烷碳同位素比值接近气藏中天然气的甲烷 $\delta^{13}\text{C}$ 值。在 $55^\circ\text{C}\sim 65^\circ\text{C}$ 时,由于模拟温度高于实际地层温度,地质样品中起主导作用的本源产甲烷菌难于适应和发挥作用,而接种物中的优势菌主要是产甲烷八迭球菌、产甲烷丝菌和杆菌,这些菌群多见于浅层沉积物中,利用 $^{12}\text{C}$ 的能力较强,在实验过程中它们可能优先利用培养基、通入的 $\text{CO}_2$ 气体、烃源岩中的残留 $^{12}\text{C}$ ,因此产出气体的甲烷碳同位素比值表现较轻。关于这一问题有待今后进一步深入研究。

表5 模拟产出甲烷气体碳同位素组成

Table 5  $\delta^{13}\text{C}$  values of methane from the fermentation experiment

分析项目 样品编号 温度( $^\circ\text{C}$ )	甲烷碳同位素比值(PDB‰)										
	CK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
35	-44.90	-40.27	-43.11	-41.80	-42.24	-43.07	-42.90	-40.12	-43.98	-40.83	-42.45
55	-56.66	-56.82	-57.57	-58.75	-56.83	-59.67	-60.10	-58.02	-57.95	-	-58.87
65	-66.20	-60.22	-61.68	-61.42	-59.50	-64.36	-	-58.06	-	-65.11	-59.20

CK 为只加接种液和培养基、不加地质样品的标样。

## 6 结 语

1) 准噶尔盆地马庄气田侏罗系 1854~2608m 泥岩沉积物为 I<sub>B</sub>~II 型有机质,处于低成熟阶段,研究表明有水解细菌存在,并产出  $\text{H}_2$  和  $\text{CO}_2$ ,经过富集培养,有产甲烷球菌和甲烷杆菌。模拟试验资料证明,样品可以生化作用产气。产甲烷菌等微生物群体的产甲烷作用可以在  $65^\circ\text{C}$  甚至更高范围内进行,微生物作用是中浅层天然气形成的重要因素。

2) 模拟产出气体组分以  $\text{CH}_4$  为主,其次为  $\text{CO}_2$ 。当模拟温度与实际地层温度相近时,实验结果与实际地质情况基本符合, $35^\circ\text{C}\sim 55^\circ\text{C}$  模拟产出气体的平均甲烷碳同位素比值为  $-42.07\text{‰}\sim -58.28\text{‰}$ ,其中值与实际气藏中天然气的比值接近。

收稿日期:1994年11月10日

## 参 考 文 献

- [1] 邬立言、顾信章、盛志伟、范成龙、童箴言、程克明,1986,生油岩热解快速定量评价,科学出版社,1~19。
- [2] 刘聿太,1990,沼气发酵微生物及厌氧技术,科学出版社,112~119。
- [3] 惠荣耀、丁安娜、连莉文、张辉、张中宁,1994,产甲烷菌等微生物群体在中浅层天然气藏形成中的作用,天然气工业,14(增刊):56~61。
- [4] 丁安娜、惠荣耀,1991,一种值得重视的天然气类型,天然气工业,(1):1~5。
- [5] 丁安娜、惠荣耀,1991,产甲烷菌生物地球化学作用的研究,地球科学进展,(3):62~69。



## Studies on the Enriched Cultivation of Methanogen and the Fermentation Experiment by Using 1854 to 2608m Gas Source Rocks

<sup>1</sup>Ding Anna <sup>2</sup>Lian Lixun <sup>2</sup>Zhang Hui <sup>1</sup>Zhang Zhongqing and <sup>1</sup>Hui Rongyao

<sup>1</sup>(Lanzhou Institute of Geology, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

<sup>2</sup>(Chengdu Biogas Research Institute of the Ministry of Agriculture, Chengdu 610041)

### Abstract

10 samples were collected from the Jurassic system of the Mazhuang gas reservoir in the Junggar Basin. Formed in a swamp-shallow shore depositional environment, they consist of rich Type I<sub>B</sub> and III organic matter with  $R_o$  values less than 0.74% at the low evolutionary stage.

This paper mainly discusses questions on the amount of anerobic fermenting bacteria, the type and distribution of methanogen, and the methane yield of per gram organic carbon in the process of the simulating fermentation experiment and so on.

The numbers of permenting bacteria are from  $5 \times 10^2$ /g rock to  $2.3 \times 10^4$ /g rock. At 35°C ~ 65°C, *Methanococcus* is found in all samples, at 55°C, *Methanobacterium* is found in No. 7 sample. Simulating experiment results show: (1) methane accumulation yields are the most at 35°C, from 29.48ml to 39.41ml, over 80% in the total gas-producing yield. (2) in the gas product, methane is the major, secondly carbon dioxide, and only a trace of ethane and propane is present. (3) from the methane-producing yield of per gram organic carbon, it can be seen that most of samples produce 50ml/g org. to 200ml/g org. gas, and the highest reaches to 568ml/g org. gas. (4) the methane-producing ability is different at different temperature, 35°C > 65°C > 55°C. (5) under the condition of the same sample and temperature, with the increase of the methane yield the carbon dioxide yield is also increasing. (6) the  $\delta^{13}\text{C}$  values of methane are -40.12‰ to -43.98‰ at 35°C, -56.82‰ to -60.10‰ at 55°C, -58.06‰ to -65.11‰ at 65°C, and the median value of the carbon isotopic ratio of methane at 35°C to 55°C is nearly similar to the  $\delta^{13}\text{C}$  value of methane from the Mazhuang natural gas reservoir.

This paper provides some evidence for that methanogen and other anaerobic microbes still have activity beneath over 2000m sediments and also it gives many significant scientific information to the study on geomicrobiology and some of natural gas-forming mechanism.