科 学 通 报
第 39 卷 第 11 期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1994 年 6 月

细菌降解作用对异养黄化藻热解产气的影响*

章 冰 吴庆余
(南京大学生物系，南京 210008)

盛国英 傅家谟
(有机地球化学国家重点实验室，广州 510640)

关键词 细菌降解、异养黄化藻、热解产气

海洋或湖泊内大量浮游藻类在受热力降解作用之前的沉积埋藏过程中，其细胞会发生一些变化．一般而言，主要包括叶绿素消失、细胞黄化和藻细胞受到微生物的降解[1]．我们用异养黄化藻类热模拟产烃的实验[2,3]揭示 300 °C 时异养黄化藻细胞热解产烃率为绿色自养藻细胞的 32 倍，黄化藻细胞热解产出的烃气率大大高于绿色藻细胞，两类藻细胞产气组分特征指标参数也明显不同．关于微生物降解作用对藻类热解成烃的影响资料非常有限．Fukushima 等以海藻在微生物降解作用下形成的类干酪根进行的热解产烃实验表明，微生物降解作用对藻类热解成烃结果有显著影响[4]．但是迄今为止，将藻类黄化过程和微生物对藻类的降解过程共同考虑来研究藻类热解产烃特征，国内外尚无报道．本文研究了细菌降解作用对异养黄化藻热解产气率及各产气组分特征指标参数的影响，并试图从分子有机地球化学的角度来探讨产生这些影响的原因．

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料 *Chlorella protothecoides*(原始小球藻)由美国得克萨斯大学藻种中心提供．藻种在琼胶平皿培养基上于冰箱中长期保存(4 °C)．

1.2 藻类的异养培养

将少量的黄化藻细胞在无菌工作台上接种于 30L 有机培养液中，有机培养液(1000ml)配方如下：KH_2PO_4, 0.7g; K_2HPO_4, 0.3g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.3g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 3mg; 甘氨酸, 0.1g; V_{B1}, 10μg; Arnon's A_5 微量元素液，1ml; 葡萄糖，10g．接种前培养液和培养容器均于 20p.s.i. 加热加压灭菌 20min．接种后的三角瓶置于恒温振荡培养箱中，23 °C 恒温无菌培养 6 天，获黄化的浓藻液 30L．将其在 4000r/min 下离心 10min，经洗涤并同样离心 2 次后，沉淀部分取 1/3 置于红外线快速干燥器中低温干燥，得异养黄化藻细胞干粉(样品 1A)．剩余 2/3 沉淀置于 −20 °C 冰箱中留作细菌侵染降解实验用．

1.3 细菌培养及其对异养黄化藻的侵染降解

采用常规培养基及常规培养方法获大肠杆菌液和枯草杆菌液．将异养黄化藻浓藻液离心留下的沉淀分成 2 份，置于 2 个 500ml 锥形瓶中，一份加入大肠杆菌液(100ml)，另一份加入枯草

1993-09-04 收稿，1994-01-04 收修改稿．
*国家自然科学基金和有机地球化学国家重点实验室基金资助项目．

杆菌液(100ml)，于恒温振荡器中 35°C 条件下培养 12 天，让细菌对藻类进行侵染降解作用．然后于 2000r/min 下离心10min，除去细菌．经洗涤并同样离心2次后，取沉淀置于红外线快速干燥器中低温干燥，得经大肠杆菌降解的异养黄化藻干粉(样品 2A)和经枯草杆菌降解的异养黄化藻干粉(样品 3A)．

另培养获枯草杆菌液 10L，在 5000r/min 下离心 15min，经洗涤并同样离心 2 次后，取沉淀置于红外线快速干燥器中低温干燥，得枯草杆菌干粉(样品 4A)，作为对照实验样品．

1.4 热模拟降解实验

将未经细菌降解的异养黄化藻(1A)，经大肠杆菌降解的异养黄化藻(2A)，经枯草杆菌降解的异养黄化藻(3A)各 1.5g，枯草杆菌干粉(4A)1.0g 分别装入安瓿中，用高纯氮气多次连续吹洗和抽气，除去空气，然后抽真空封口．将分装样品的安瓿置于马弗炉中，以 300°C 恒温持续热解 100h，得对应的热解样品 1B，2B，3B 和 4B．

1.5 热解气体的分析

热解后装有样品的安瓿从马弗炉中取出，用液氮冷冻后按排水取气法取气．用国产 SC-4 型气相色谱仪对 CO_2，H_2，N_2 进行分析，CO_2 用 GDX104 柱，H_2 用 5A 分子筛柱，N_2 用 13X 分子筛柱加活性碳，柱温均为 50 °C，H_2 用高纯氮气，其余2 种用氢气作载气．用美国进口 HP-5890II 型气相色谱仪对 C_1—C_7 烃类进行分析，用 Al_2O_3/KCl 柱，采用 50m 长毛细管柱，内径 0.53mm，柱温 60—150 °C，60 °C 保留 4min，升温速率 30° C/min，载气为 N_2．

2 结果与讨论

2.1 热解产气率

各样品热解产气率如图 1 所示．对比纯异养黄化藻热解产气率和经细菌降解作用后异养黄化藻热解产气率发现，大肠杆菌的降解作用使异养黄化藻热解产气率提高了 64.5%，枯草杆菌的降解作用使异养黄化藻热解产气率提高了 35.9%．由于纯枯草杆菌样品本身热解产气率较低(图 1，4B)，因此这种提高不是细菌的混入造成的，而是细菌对藻类降解作用的结果，即细菌降解作用可以提高异养黄化藻热解产气率．

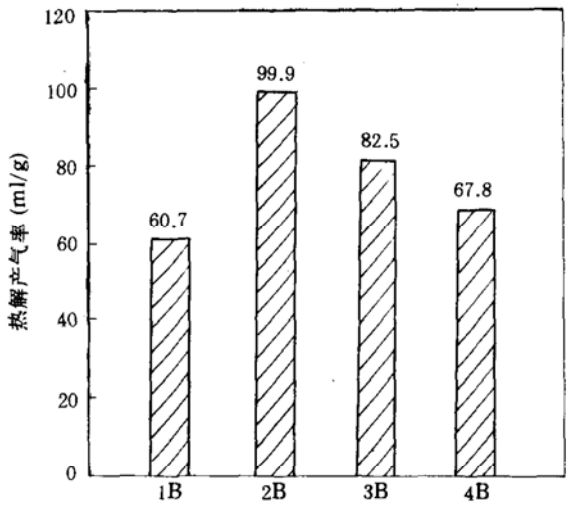

图 1 不同样品热解产气率直方图

1B 为纯异养黄化藻，2B 为经大肠杆菌降解的异养黄化藻，3B 为经枯草杆菌降解的异养黄化藻，4B 为纯枯草杆菌

2.2 产气组分及相关指标参数

异养黄化藻热解产气组分(表 1) 可分为烃气与非烃气．从表 1 可看出烃气所占比例较少，非烃气特别是 CO_2 所占比例较高．值得注意的是未经细菌降解的异养黄化藻产出的 N_2 率较经细菌降解过的异养黄化藻高出 5 倍以上．表 2 显示了产气组分特征指标参数．其中 $C_1/\Sigma(C_1-C_5)$ 为干燥系数，反映产气组分干湿程度；$CO_2/\Sigma(C_1-C_5)$ 为酸烷比，反映 CO_2 气体与烃气之间产出比例；nC_4/iC_4 为正异构丁烷比值，C_2H_6/C_2H_4 是乙烷与乙

烯比值. 这些特征指标常用来指示天然气藏的母质类型,热演化阶段或成熟度等. 表2反映微生物的作用可提高烃气/非烃气值. 若用烃气含量代表天然气质量,则细菌降解作用可改善微藻来源的天然气质量. 细菌降解作用对干燥系数,正异构比影响不明显,但可使酸烷比降低,乙烷与乙烯比值上升.

表1 热解产气组分

样品号	样品名	产气组分 (%)										
		CH_4	C_2H_4	C_2H_6	C_3H_8	iC_4	nC_4	iC_5	nC_5	H_2	CO_2	N_2
1B	异养黄化藻	3.49	3.63	2.23	1.22	0.10	0.58	0.05	0.39	0.84	60.0	18.0
2B	经大肠杆菌降解的黄化藻	6.00	3.04	4.28	2.55	0.18	1.06	0.09	0.58	0.43	61.2	3.47
3B	经枯草杆菌降解的黄化藻	4.96	3.14	3.34	2.19	0.17	0.84	0.09	0.46	0.51	64.9	3.40
4B	枯草杆菌	4.38	0.33	3.09	2.34	0.22	0.26	0.04	0.02	1.09	59.1	11.9

表2 产气组分特征指标参数

样品号	样品名	$\frac{烃气}{非烃气}$ (%)	$\frac{C_1}{\Sigma(C_1-C_5)}$	$\frac{CO_2}{\Sigma(C_1-C_5)}$	$\frac{nC_4}{iC_4}$	$\frac{C_2H_6}{C_2H_4}$
1B	异养黄化藻	13.93	0.28	4.91	5.58	0.61
2B	经大肠杆菌降解的黄化藻	23.31	0.32	3.27	5.76	1.40
3B	经枯草杆菌降解的黄化藻	19.57	0.30	4.00	4.96	1.06
4B	枯草杆菌	14.01	0.39	5.29	1.19	9.42

细菌降解作用使异养黄化藻产出的N_2率显著下降,酸烷比降低,烃气/非烃气值有所提高,其原因可能在于细菌对藻细胞有机质的选择性利用. 我们用光学显微镜对藻细胞的形态进行观察,发现细菌的侵染降解使黄化藻细胞聚集成团,表面皱缩甚至破裂,藻细胞变小,内部结构模糊. 细菌通过酶作用对细胞中的有机质进行分解. 获取代谢的能量来源和物质基

表3 C_6, C_7轻烃组分分析结果

样品号			1B		2B		3B		4B	
样品名			异养黄化藻		经大肠杆菌降解的黄化藻		经枯草杆菌降解的黄化藻		枯草杆菌	
C_6, C_7轻烃组成 (V/V, ppm)	正烷烃	正己烷	1890	90.54%	2410	88.61%	1960	88.90%	136	79.12%
		正庚烷	1770		792		694		120	
	异烷烃	2,2-二甲基丁烷	12.7	5.61%	31.8	7.88%	20.8	7.85%	3.12	15.28%
		2,3-二甲基丁烷	12.7		31.1		20.8		3.12	
		2-甲基戊烷	126		124		110		23.9	
		3-甲基戊烷	21.4		41.0		33.0		10.2	
		2,4-二甲基戊烷	–		0.97		0.67		–	
		2,2,3-三甲基丁烷	11.2		11.2		9.62		2.57	
		2-甲基己烷	21.4		22.7		19.8		3.26	
		3-甲基己烷	21.3		22.7		19.8		3.26	
	环烷烃	甲基环戊烷	12.7	1.15%	31.1	2.60%	20.8	2.38%	3.12	3.62%
		环己烷	21.1		41.9		33.2		5.07	
		甲基环己烷	12.9		20.9		17.2		3.52	
	芳烃	苯	58.3	2.70%	25.6	0.73%	18.4	0.86%	3.58	1.98%
		甲苯	50.8		7.13		7.22		2.82	
	甲苯/苯		0.88		0.03		0.39		0.78	

础．蛋白质和碳水化合物降解后提供了氨基酸和糖，供细菌利用，而类脂化合物作为不活跃降解产物则保存在藻细胞中，样品处理时又在 2000r/min 的离心条件下将细菌除去．由于类脂化合物是烃类的主要分子来源[2, 3]，蛋白质和碳水化合物可能分别是 N_2 和 CO_2 的主要分子来源，因此造成了经细菌降解作用的异养黄化藻热解产出的 N_2 率和酸烷比的下降，也使其烃气/非烃气值有所提高．

2.3 C_6, C_7 轻烃分析

近年来天然气 C_6, C_7 轻烃组成的研究进展较快．已有的研究指出，来源于腐泥型母质的天然气轻烃组成中富含正烷烃，而源于腐质型母质的天然气轻烃组成中富含异构烷烃和芳烃[5]．我们对异养黄化藻热解产气轻烃组成的分析结果与上述结论相符．从表 3 数据可见，异养黄化藻在细菌降解作用前后其轻烃组成中正烷烃均占明显优势．此外，细菌降解作用可使轻烃组成中甲苯/苯值大幅度下降，这可能与藻类细胞壁中纤维素被降解有关[6]．

致谢　本实验气体组分分析部分得到有机地球化学国家重点实验室张惠之同志的协助，在此表示感谢．

参　考　文　献

[1] R. B. 约翰斯(主编)，沉积记录中的生物标志物，科学出版社，北京，1991, 6—9.
[2] 吴庆余等，中国科学，B 辑，1993, **23**(4): 423—429.
[3] 吴庆余等，自然科学进展——国家重点实验室通讯，1992, **2**(4): 435—439.
[4] Fukushima, K. *et al.*, *Chem. Geo.*, 1989, **76**(3): 131—141.
[5] 钱志浩、陈正辅，石油实验地质，1992, **14**(3): 217—226.
[6] 黄籍中，地球化学，1990, (1): 32—43.