

沼气发酵菌的富集培养和应用

四川省生物研究所沼气组

(四川、成都)

1972年以来，我省农村大办沼气的群众运动蓬勃发展，许多生产队、生产大队和人民公社已基本实现沼气化。在大办沼气的群众运动中，我们开展了沼气发酵菌的研究工作。

活性污泥的选择

为了提高沼气产量并加速产气以及增加沼气中的甲烷成分，我们采集了沼气较多的活性污泥，经富集培养，选取产气量和沼气中甲烷含量较高的污泥作为“菌种”，接入沼气池进行发酵。

一、活性污泥来源

高寒山区的草原沼泽污泥，沼气池底污泥，以及酒精厂、丙酮丁醇厂、屠宰场、味精厂阴沟污泥和塘泥等。

二、富集培养方法

用10升的试剂瓶作发酵瓶，瓶口用插有玻璃管和温度计的橡皮塞塞紧，以石蜡密封。用橡皮管作导气管，用5升或10升的试剂瓶作贮气瓶和贮水瓶，采用排水集气法收集产生的沼气。

将采集的各种活性污泥，按10—20%的接种量和料(草和粪搭配，干物质为10%左右)搅拌均匀，分别装入上述实验瓶，于26℃恒温培养。半月之后，每隔3—4天取出30%的发酵物，同时加入等量的经堆沤的新料。

三、活性污泥的比较

通过富集培养，对不同来源活性污泥的产气量进行了比较。表1所列举的几种活性污泥是产气情况较

好者，其中污水处理厂沼气池底污泥产气最快，而且产气量高。

四、污泥富集培养物在沼气池中的应用

将污水处理场沼气池底污泥经富集培养后，按30%的接种量在实验室常温下进行扩大培养，当天即能正常产气。然后将实验室的扩大培养物在农村粪坑中进行扩大，用塑料薄膜将粪坑密闭，培养一周后，按30%接种量加入沼气池，进行应用试验。结果如表2所示，试验组和对照组的产气效果基本近似。但从煤气表上看出，4号池的用气量较2号和3号池都高，后半个月高出50%，说明对照池中产生的沼气含甲烷量较试验池低。群众还反映对照池的沼气点燃后火焰带黄，说明含杂气多。而试验池沼气火焰为纯蓝色，说明甲烷含量较高。

在应用中发现，经一个月的发酵之后，三个添加有富集培养物的池子同对照池的产气量与气体中甲烷含量基本一致。为进一步考察活性污泥在沼气发酵中究竟有无作用，我们在实验室较严格条件下作了加活性污泥与不加活性污泥，原料堆沤与不堆沤沼气发酵的比较试验。结果见表3。

如表3所示，使用堆沤原料时，不管加与不加活性污泥，发酵产气量均高。在发酵初期，以添加活性污泥者产气量大、甲烷含量高，随发酵时间的延续又趋于一致。而使用未经堆沤的原料时，加与不加活性污泥产气都很微少，唯加污泥者甲烷含量偏高。

甲烷菌的选择培养

沼气发酵主要是甲烷发酵。但纯甲烷菌种在生产

表1 几种活性污泥产气量的比较

编 号	污 泥 来 源	接 种 日 期	开始正常产气的时间	产气天数(天)	沼气(升)/发酵液(升)
1	味精厂阴沟污泥	5月3日	5月27日	35	0.44
2	制药厂丙酮丁醇车间阴沟污泥	5月3日	5月28日	34	0.40
8	农村沼气池底脚污泥	5月3日	5月31日	31	0.40
9	屠宰场阴沟污泥	5月3日	5月29日	33	0.41
10	污水处理厂沼气池底污泥	5月3日	5月21日	41	0.47

表 2 污泥富集培养物在沼气池中的应用效果

编 号	池 别	池 容 (立方米)	接 种 量 (%)	配 料 比 (%)	用 气 量 (立方米)	甲 烷 含 量 (%)		备 注
						投料后半月	投料后五个月	
1	试验池	9.3	30	青草5, 牛粪20 猪粪5, 水70	28.4	62.25	59.3	4 口人
2	试验池	13.7	30	同 上	36.2	66.4	60.0	9 口人
3	试验池	11.63	30	同 上	31.6	67.23	64.5	7 口人
4	对照池	14.9	30	除同上配料外, 另加了 与污泥扩大相当的原料	43.6	57.27	59.9	8 口人

注: 所用活性污泥为污水处理场沼气池底污泥, 所用青草系堆沤半月以上, 猪粪也事先经过堆沤。

表 3 添加活性污泥与不添加活性污泥沼气发酵的比较

结 果 组 别		发 酵 天 数	3	6	9	12	18	21	24	27	33
第 一 组	总产气量 (毫升)	995	3250	5575	7018	9338	10518	11798	12408	14498	
	甲烷含量 (%)	36.9	50.5	47.18	51.9	66.4	69.15	71.42	66.28	71.99	
第 二 组	总产气量 (毫升)	833	2468	5118	6778	8873	9733	10568	11598	13628	
	甲烷含量 (%)	5.8	20.5	25.11	28.2	35.2	37.78	43.88	48.13	64.72	
第 三 组	总产气量 (毫升)						产气微	产气微	产气微		
	甲烷含量 (%)	—	—	—	—	—	0.84	1.26	2.76	4.99	
第 四 组	总产气量 (毫升)						产气很微	产气很微	产气很微	产气很微	
	甲烷含量 (%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

* 堆沤加菌种系指原料草和猪粪均加堆沤, 活性污泥加量 10%。鲜料系指鲜草和鲜猪粪。

上的应用尚有一定距离, 混合菌种效果较好。我们采用甲烷菌培养基富集培养活性污泥中的甲烷细菌, 以产气量大和含甲烷量高的甲烷菌富集培养物接入沼气池。

一、甲烷菌的富集培养

取草原沼泽污泥、沼气池底污泥、天然气田深层土壤等作为菌源。培养基成分(%)：醋酸钙 1, 无水乙醇 2, 氯化铵 0.075, 氯化镁 0.01, 磷酸氢二钾 0.04, 以水配制。在以上溶液中再加 3% 去氧剂(去氧剂为含有 1% 硫化钠、5% 碳酸钠溶液)。

将菌源样品与培养基混匀后, 装入 5 升的试剂瓶, 石蜡封口, 置常温(不超过 26℃)培养。培养过程中, 不定期除去部分旧料, 并加入等量新鲜培养基继续培养, 用气相色谱仪测定气体成分, 并记录产气量。

培养结果如表 4 所示, 其中 3 号与 43 号两个甲烷菌富集培养物产气量大, 有时甲烷含量较高。

二、甲烷菌富集培养物的应用试验

将 43 号富集培养物作为菌种, 逐级扩大, 最后一次扩大是以堆沤过的草和粪为培养基, 在沼气池中进行的。

作 3 个试验池和 1 个对照池。3 个试验池均按池的容量大小配备比例相同但数量不等的发酵原料。对照池与试验池配料相同, 只是不加“菌种”, 而多加了与试验池所加“菌种”量相当的粪草和水。

试验结果表明, 3 个试验池所产沼气达到可燃水平(含 50% 甲烷)的时间比对照池提前 2.5—4 天。试验池的平均日产气量在进池后的 5—8 天达到对照池的 5 倍左右, 9—10 天为对照池的 3 倍左右, 19—28

表 4 几种甲烷菌富集培养物日产气量和气体中的甲烷含量

编 号	样 品 采 源	接 种 量 (克)	培 养 基 (升)	甲 烷 含 量 (%)	甲 烷 平 均 含 量 (%)	沼 气 (升) /发 酵 液 (日. 升)
3	天然气井附近深层土壤	1700	3.3	61.9—95.0	79.4	0.51
35	农村沼气池	2170	4	76.4	76.4	0.13
42	污水厂沼气池	2150	3	78.2—79.2	78.8	0.32
43	污水厂沼气池	2150	3	58.0—81.4	71.0	0.84

表 5 43 号甲烷菌富集培养物发酵的甲烷含量

池 号	池 别	池 容 (米 ³)	“菌种”量(担)		发 酵 料			甲 烷 含 量 (%)	
			“菌” 液	青草(斤)	三 合 粪 (担)	水 (担)	发 酵 6 天	发 酵 11 天	
1	试验池	9.4	32	1610	51	202	33.9	66.0	
2	试验池	10.7	33	1800	53	230	45.6	62.3	
3	试验池	10.7	33	1800	53	230	53.0	62.3	
4	对照池	12.9	—	2024	74	319	21.1	60.5	

天为对照池的 2 倍左右，29 天后与对照池趋于一致。

试验池所产沼气的甲烷含量在第 6 天时高于对照池，11 天后又趋于一致(见表 5 及图 1)。

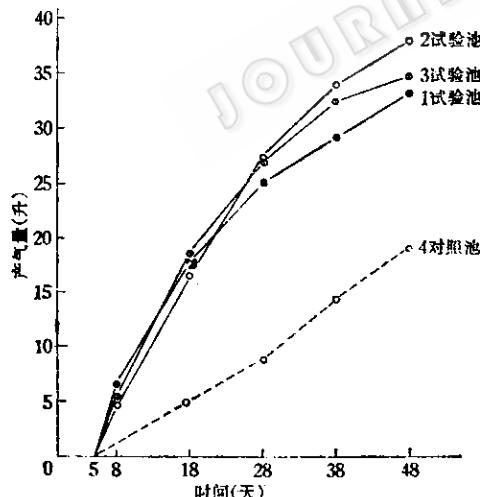


图 1 43 号甲烷菌富集培养物发酵的沼气产量

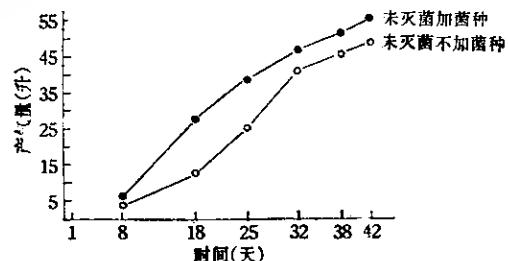


图 2 不灭菌的堆沤青草加与不加“菌种”产沼气的比较

为了进一步验证甲烷菌富集培养物在沼气发酵中的作用，又以不灭菌的堆沤青草为培养基，作了加“菌种”和不加“菌种”的试验，结果如图 2 所示。加菌种者，在发酵初期甲烷含量较高，产气较快。但 15 天后，所产气体中甲烷含量基本一致，产气量也在一月左右趋于相等。

参 考 资 料

张树政等：沼气发酵试验报告，微生物学通讯 1(1):1, 1959。