

三种厌氧微生物产气的碳同位素特征^{*}

王万春¹ 宋一涛² 徐永昌¹ 沈平¹

(1.中国科学院地质与地球物理研究所气体地球化学重点实验室 2.中国石化胜利油田有限公司地质科学研究院)

王万春等.三种厌氧微生物产气的碳同位素特征.天然气工业,2008,28(10):36-40.

摘 要 在咸水和半咸水两种条件下,进行了螺旋藻、马尾藻和松针三种厌氧微生物产甲烷的模拟实验研究,结果表明:在咸水不利产甲烷条件下,CH₄和CO₂的产率低,δ³C值相对偏轻;而在半咸水较有利产甲烷条件下,CH₄和CO₂的产率较高,δ³C值相对偏重。反映生化模拟实验中CH₄和CO₂的δ³C值与其产率有关。在咸水和半咸水两种实验条件下,马尾藻厌氧微生物产甲烷的δ³C值相对于螺旋藻和松针厌氧微生物产甲烷的δ³C值均偏重,可能与马尾藻中高的粗纤维含量有关。厌氧微生物产CO₂与CH₄的δ³C值之间多不存在相关性,反映模拟实验中甲烷菌生成CH₄的途径可能主要为乙酸发酵途径。生化模拟实验中CH₄的δ³C值分布范围较宽,介于-19.5‰~-68.3‰,与地质样品中生物甲烷δ³C值普遍低于-60‰的特征不完全符合,表明生化模拟实验由于时间短、有机质的量有限,难以完全重现地质微生物的作用过程,其实验结果仅可作为生物气研究的参考。

主题词 螺旋藻 马尾藻 松针 厌氧微生物 甲烷 二氧化碳 碳同位素 特征

生物成因甲烷不仅是主要的温室气体,也是重要的能源资源。生物成因甲烷是甲烷菌的代谢产物。甲烷菌的代谢作用主要分为3种类型,即甲基营养型(methyltrophic)、乙酸分解型(aceticlastic)和二氧化碳还原型(CO₂ reduction)^[1]。一般将甲基营养型和乙酸分解型统称为乙酸发酵途径。

生物成因甲烷及二氧化碳的碳同位素组成,取决于其形成的环境、有机母质的碳同位素组成、微生物代谢途径、微生物群体的特征及沉积有机质的沉积速率等^[2-8]。由于200℃以下CH₄和CO₂之间不可能发生同位素交换^[9]。因此,低温下生物甲烷形成过程中,决定碳同位素分馏的因素是动力同位素效应,而不是同位素交换平衡效应^[10]。

以往的厌氧微生物产甲烷模拟实验,多利用稻田土壤、稻草根、淤泥、沉积物、煤等^[2,11-15]。笔者利用单一的水生及陆生植物螺旋藻、马尾藻和松针,在咸水和半咸水两种条件下,进行厌氧微生物产甲烷模拟实验研究,目的在于探讨不同化学及同位素组成的物质,厌氧微生物产甲烷及二氧化碳的碳同位素组成特征与变化规律,为不同沉积环境有机质厌氧微生物产气特征及生物气资源预测提供参考。

一、样品与实验

以螺旋藻(半咸水培养的蓝藻)、马尾藻和松针

作为厌氧微生物培养的接种物,螺旋藻样品编号为BA,马尾藻样品编号为MA,松针样品编号为PL。实验分为两个系列,BA1、MA1、PL1为咸水及不利产甲烷条件下的生化产气模拟实验,BA2、MA2、PL2为半咸水较有利产甲烷条件下的生化产气模拟实验。所选菌种为取自污泥的复合产甲烷菌群。所用螺旋藻、马尾藻和松针的量为2g,菌种量为20mL,培养基由K₂SO₄(0.1%)0.4mL,FeCl₃·6H₂O(0.1%)2.1mL,CaCl₂·2H₂O(0.1%)2.0mL和NaHCO₃(10%)0.8mL组成。模拟实验温度均为35℃。取样时模拟实验已进行的天数分别为10d、35d、50d、70d和90d^[16]。

咸水不利产甲烷环境条件的实验,采用的菌种、培养基的组成和温度条件与半咸水较有利产甲烷环境条件下的完全相同,但在发酵体系中增加了较高的离子强度和SO₄²⁻含量,以尽可能地抑制甲烷的生成。该实验条件下产甲烷作用明显受到抑制,仅检测到微量和少量甲烷,螺旋藻的甲烷产量相对较高,但也仅为0.53mL/g^[16]。

半咸水较有利产甲烷实验,采用了产甲烷活性相对较低的复合产甲烷菌群及无有机营养刺激因子(复合纤维素)的营养条件,该实验条件下,CH₄产率明显高于咸水不利产甲烷条件下的实验。该实验条

^{*} 本文受到国家重点基础研究发展规划项目“973”(编号:2002CB211701)和中国科学院院长奖获得者专项基金的资助。

作者简介:王万春,女,1962年生,副研究员,博士;现从事同位素地球化学与油气地球化学研究工作。地址:(730000)甘肃省兰州市东岗西路382号。电话:(0931)4960848。E-mail:lgas@lzb.ac.cn

件下螺旋藻的 CH₄ 产率最低,50 d 时产率为 2.6 mL/g,马尾藻的 CH₄ 产率最高,50 d 时产率为 7.6 mL/g^[16]。

模拟气样碳同位素分析所用仪器为 GC/IRMS 系统,包括 HP6890A 色谱仪及与其在线相连的 Delta Plus Xp 同位素质谱仪,分析数据为相对于 PDB 国际标准的千分比,分析精度为±0.1‰。

二、结果与讨论

1.不同环境条件下模拟气样中 CH₄ 和 CO₂ 的碳同位素组成特征

咸水不利产甲烷条件下,螺旋藻厌氧微生物产

甲烷的 δ³C 值在 50 d 以前相对偏重,为-55.5‰~-32.7‰,在 70 d 和 90 d 时相对偏轻,为-68.3‰~-59.5‰。马尾藻厌氧微生物产甲烷的 δ³C 值相对偏重,为-50.9‰~-27.2‰。松针厌氧微生物产甲烷的 δ³C 值除 10 d 时较重外(-38.5‰),其余相对偏轻,为-65.9‰~-58.8‰。螺旋藻、马尾藻和松针厌氧微生物产 CO₂ 的 δ³C 值分别为-14.4‰~-5.2‰,-16.9‰~-12.4‰和-13.4‰~-11.0‰,除螺旋藻在 10 d 的 CO₂ 的 δ³C 值偏重外,其余均轻于-10‰(表 1)。

咸水不利产甲烷条件下,除 50 d 的样品外,螺旋藻厌氧微生物产甲烷的 δ³C 值有随发酵时间增加

表 1 螺旋藻、马尾藻和松针厌氧微生物产 CH₄ 和 CO₂ 的碳同位素组成表 ‰(PDB)

样 品	10 d		35 d		50 d		70 d		90 d	
	CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂	CH ₄	CO ₂
BA1	-37.0	-5.2	-55.5	-11.3	-32.7	-14.4	-59.5	-13.3	-68.3	-10.2
BA2	-41.4	2.4	-62.7	3.6	-67.2	-6.1	-51.3	-3.4	n.d.	n.d.
MA1	-42.8	-12.4	-50.9	-16.9	-27.2	-14.8	-31.4	-16.6	n.d.	n.d.
MA2	-43.4	-0.3	-43.1	-9.1	-31.6	-11.4	-19.5	-11.4	n.d.	n.d.
PL1	-38.5	-12.5	-59.8	-12.8	-58.8	-13.2	-65.9	-13.4	-65.1	-11.0
PL2	-44.4	-10.2	-56.1	-13.6	-35.0	-12.2	-40.6	-14.5	n.d.	n.d.

注:BA 表示螺旋藻,MA 表示马尾藻,PL 表示松针;BA1、MA1、PL1 为咸水条件,BA2、MA2、PL2 为半咸水条件;n.d.表示未测出。

而变轻的趋势。马尾藻厌氧微生物产甲烷的 δ³C 值除 35 d 时较轻外(-50.9‰),其他随发酵时间增加有变重的趋势。松针厌氧微生物产 CH₄ 的 δ³C 值随发酵时间增加逐渐趋于变轻(图 1)。

半咸水较有利产甲烷条件下,螺旋藻厌氧微生物产 CH₄ 的 δ³C 值与咸水不利产甲烷条件下的有较大差异,在 35 d 和 50 d 时相对偏轻,为-62.7‰

~-67.2‰,在 10 d 和 70 d 时相对偏重,为-41.1‰~-51.3‰。与咸水环境条件不同的是,螺旋藻厌氧微生物产 CH₄ 的 δ³C 值呈现随发酵时间增加逐渐变轻又变重的趋势(图 1)。马尾藻厌氧微生物产 CH₄ 的 δ³C 值明显偏重,比马尾藻在咸水不利产甲烷条件下的更重,为-43.4‰~-19.5‰,并且随发酵时间增加 δ³C 值逐渐变重。松针厌氧微生物

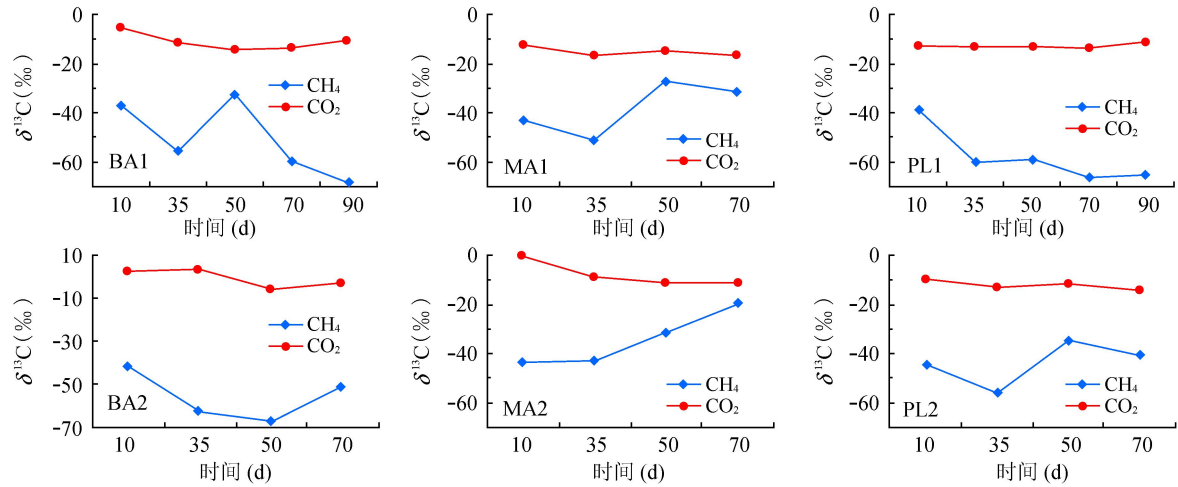


图 1 螺旋藻、马尾藻和松针生化产 CH₄ 和 CO₂ 的 δ³C 组成特征图

产 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值则比松针在咸水不利产甲烷条件下的也明显偏重,为 $-56.1\%\sim -35.0\%$,随发酵时间增加的变化趋势也与咸水环境条件下的不同,除 35 d 时较轻外,随发酵时间增加趋于变重(表 1、图 1)。

半咸水较有利产甲烷条件下,螺旋藻厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-6.1\%\sim 3.6\%$,为本次实验中 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值最重的一个系列。马尾藻和松针厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值分别为 $-11.4\%\sim -0.3\%$ 和 $-14.5\%\sim -10.2\%$ 。该实验条件下,螺旋藻和马尾藻厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均比相应发酵时间的咸水不利产甲烷条件下的偏重。

2. 模拟气样中 CH_4 和 CO_2 的碳同位素变化特征分析

在咸水和半咸水两种实验条件下,马尾藻厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对于螺旋藻和松针厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均偏重,这可能与这 3 种接种物的化学组成有关。研究表明,螺旋藻中粗蛋白含量为 $55\%\sim 65\%$,脂肪含量为 $2\%\sim 6\%$,糖类含量为 $10\%\sim 15\%$,粗纤维含量为 $1\%\sim 4\%$ ^[17]。马尾藻中蛋白质含量为 9.60% ,脂肪含量为 $0.67\%\sim 3.80\%$,淀粉含量为 $8.15\%\sim 10.72\%$,粗纤维含量为 $57.22\%\sim 65.16\%$ ^[18]。松针含有粗蛋白 $7.84\%\sim 16.12\%$,粗脂肪 $7.06\%\sim 13.31\%$,粗纤维 $24.35\%\sim 28.60\%$,无氮浸出物 $41.26\%\sim 42.02\%$ ^[19]。可以看出,螺旋藻以蛋白质含量为主,而马尾藻则以粗纤维含量为主,松针的蛋白质和粗纤维含量介于上述两者之间。粗纤维含量较高的马尾藻,厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对偏重。

咸水不利产甲烷环境条件下,松针厌氧微生物 CH_4 的产率最低^[16],甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对最轻,平均为 -57.6% ;半咸水较有利产甲烷环境条件下,螺旋藻厌氧微生物 CH_4 的产率最低^[16],甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值也很轻,平均为 -55.7% 。半咸水较有利产甲烷条件下 CH_4 产率最高的马尾藻,甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对最重,平均为 -34.4% 。70 d 时,3 种接种物在半咸水较有利产甲烷条件下,所产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对咸水不利产甲烷条件下所产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均偏重(表 1)。上述现象表明,厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与甲烷的产率之间有一定关系,即甲烷的产率越高,甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值越重。这可能是由于甲烷生成速率较高时,生化反应的充分程度较低,碳同位素动力分馏作用较弱,造成甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值偏重,或生化反应系统

中 ^{12}C 消耗快,致使甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值偏重。

由于厌氧微生物产甲烷模拟实验中接种物的量有限,故半咸水较有利产甲烷实验中, CH_4 产率最高的马尾藻,70 d 时甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值达到了 -19.5% ,已接近藻类的碳同位素组成($-10\%\sim -16\%$)^[20]。同样, CH_4 产率较高的松针,50 d 和 70 d 时,甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值分别为 -35% 和 -40.6% ,也显著偏重; CH_4 产率相对较低的螺旋藻,70 d 时甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -51.3% ,也重于 35 d 和 50 d 时所产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(表 1)。表明厌氧微生物产甲烷模拟实验中,厌氧微生物利用有机质的量,也影响甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小。在地质条件下,厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值一般偏轻(小于 -60%),是由于甲烷菌利用的有机质充足,且相对于厌氧模拟实验,地质条件下微生物代谢是一个较缓慢的过程。

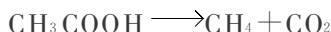
半咸水较有利产甲烷条件下,粗纤维含量较高的马尾藻的甲烷产率最高。研究表明,易于细菌分解并生成甲烷的有机质主要有纤维素、半纤维素、糖、淀粉和果胶等碳水化合物^[21],在草本植物中,碳水化合物的含量高。因此生物气的母质主要是半腐殖型和草本来源腐殖型有机质^[22]。在我国柴达木盆地,第四纪干燥寒冷的气候条件下,草本植物大量繁殖,草本植物中含有丰富的纤维素及淀粉等碳水化合物^[23-24]。在柴达木盆地第四系咸水—半咸水环境条件下,纤维素含量高的陆源草本植物,不仅为该第四系生物气气源岩提供了丰富的有机质^[23],也是纤维素分解菌、发酵菌和甲烷菌共同利用而生成生物甲烷的主要母质。

除半咸水较有利产甲烷条件下螺旋藻厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值很重($3.6\%\sim -6.1\%$),马尾藻厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值较重($-0.3\%\sim -11.4\%$)外,其余多偏轻($-10\%\sim -15\%$,表 1)。半咸水较有利产甲烷条件下,螺旋藻厌氧微生物产 CO_2 的产率最高,松针厌氧微生物产 CO_2 的产率最低^[16],而该实验条件下螺旋藻厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值很重,松针厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值较轻($-10.2\%\sim -14.5\%$),表明厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,可能与 CO_2 的产率有关, CO_2 的产率越高,其 $\delta^{13}\text{C}$ 值越重。半咸水较有利产甲烷条件下,螺旋藻厌氧微生物产 CO_2 的产率高,说明微生物对螺旋藻分解快,故 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值($3.6\%\sim -6.1\%$)接近藻类有机质来源乙酸中羧基碳的碳同位素组成($4.4\%\sim -14.4\%$)^[25],也反映了半咸水较有利产甲

烷条件下,螺旋藻厌氧微生物产 CH_4 的途径主要为乙酸发酵。

研究表明,藻类的碳同位素组成在 $-10\text{‰} \sim -16\text{‰}$,高等植物 (C_3 植物)的碳同位素组成在 $-23\text{‰} \sim -31\text{‰}$ [20]。在产甲烷的海相沉积中,碳同位素组成平均为 -19‰ 的海相有机质,所产乙酸的碳同位素组成为 $-2.8\text{‰} \sim -17.6\text{‰}$,乙酸中甲基碳的碳同位素组成为 $-8.3\text{‰} \sim -21.4\text{‰}$,羧基碳的碳同位素组成为 $4.4\text{‰} \sim -14.4\text{‰}$ [25];在发酵实验中碳同位素组成平均为 -26.5‰ 的大豆及稻草,所产乙酸的碳同位素组成为 $-22.2\text{‰} \sim -32.9\text{‰}$,乙酸中甲基碳的碳同位素组成为 $-30.1\text{‰} \sim -42.9\text{‰}$,羧基碳的碳同位素组成为 $-14.9\text{‰} \sim -24.4\text{‰}$ [12]。半咸水较有利产甲烷条件下螺旋藻与马尾藻厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值较重,松针厌氧微生物产 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 较轻,反映 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与接种物的碳同位素组成有关。

乙酸发酵途径同时产生 CH_4 和 CO_2 ,即



乙酸发酵产生的 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值接近乙酸中甲基碳的碳同位素组成,而 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值接近乙酸中羧基碳的碳同位素组成,而甲基碳和羧基碳的碳同位素组成,又与发酵菌和产氢产乙酸菌所分解的有机质的碳同位素组成有关,故乙酸发酵途径产生的 CH_4 和 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间一般不存在相关性。

在半咸水与咸水两个系列的实验中, CO_2 与 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间多不存在相关性(图2)。研究表明,地质样品中,主要以 CO_2 还原途径生成的 CH_4 与 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间具有相关关系 [26-28],以 H_2/CO_2 为反应物进行的生化产 CH_4 的模拟实验中, CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值变重而变重 [29]。本实验中所利用的甲烷菌为取自淤泥的复合产甲烷菌群,产出的 CO_2 与 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间多不存在相关性,反映模拟实验中甲烷菌生成 CH_4 的途径可能主要为乙酸发酵途径。

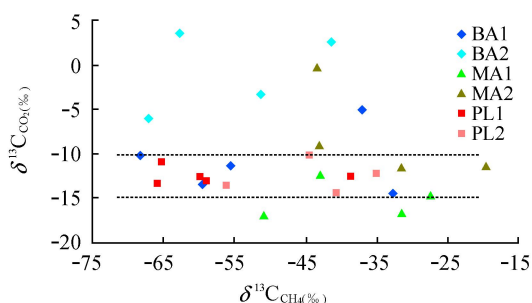


图2 生化产 CH_4 和 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 的关系图

三、结 论

(1)咸水不利产甲烷条件下, CH_4 和 CO_2 的产率低, $\delta^{13}\text{C}$ 值相对偏轻;半咸水较有利产甲烷条件下, CH_4 和 CO_2 的产率较高, $\delta^{13}\text{C}$ 值相对偏重,反映生化模拟实验中 CH_4 和 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与其产率有关。可能是由于 CH_4 和 CO_2 的产率较高时,生化反应的充分程度较低,碳同位素动力分馏作用较弱,或生化反应系统中 ^{12}C 被优先消耗的结果。

(2)在咸水和半咸水两种实验条件下,马尾藻厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对于螺旋藻和松针厌氧微生物产甲烷的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均偏重,可能与马尾藻中粗纤维含量高有关。

(3)在咸水和半咸水两种实验条件下,厌氧微生物产 CO_2 与 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间多不存在相关性;且 CH_4 和 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值分别与接种物分解产生的甲基碳和羧基碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值接近,反映模拟实验中甲烷菌生成 CH_4 的途径可能主要为乙酸发酵途径。

(4)生化模拟实验中 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化范围较宽,为 $-19.5\text{‰} \sim -68.3\text{‰}$,与地质样品中生物甲烷 $\delta^{13}\text{C}$ 值普遍低于 -60‰ 的特征不完全符合,表明生化模拟实验由于时间短,有机质的量有限,难以完全重现地质微生物作用过程,其结果仅可作为研究生理气的参考。

参 考 文 献

- [1] BOONE D R, WHITMAN W B, ROUVIERE P. Diversity and taxonomy of methanogens [M]// FERRY J G, ed. Methanogenesis: Ecology, physiology, biochemistry and Genetics, Chapman & Hall, 1993, 35-82.
- [2] CHIDTHAISONG A, CHIN K J, VALENTING D L, et al. A comparison of isotope fractionation of carbon and hydrogen from paddy field rice roots and soil bacterial enrichments during CO_2/H_2 methanogenesis [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2002, 66(6): 983-995.
- [3] HOMIBROOK E R C, LONGSTAFFE F J, FYFE W S. Evolution of stable carbon isotope compositions for methane and carbon dioxide in freshwater wetlands and other anaerobic environments [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2000, 64(6): 1013-1027.
- [4] AVERY G B JR, MARTENS C S. Controls on the stable isotopic composition of biogenic methane produced in a tidal freshwater estuarine sediment [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1999, 63(7-8): 1075-1082.
- [5] BLAIR N. The $\delta^{13}\text{C}$ of biogenic methane in marine sediments: the influence of corg deposition rate [J]. Chemi-

- cal Geology, 1998, 152: 139-150.
- [6] SUMMONS R E, FRANZMAMM P D, NICHOLS P D. Carbon isotopic fractionation associated with methylotrophic methanogenesis[J]. *Organic Geochemistry*, 1998, 28(7-8): 465-476.
- [7] LANSDOWN J M, QUAY P D, KING S L. CH_4 production via CO_2 reduction in a temperate bog: A source of $\delta^{13}\text{C}$ -depleted CH_4 [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1992, 56: 3493-3503.
- [8] WHITICAR M J, FABER E, SCHOELL M. Biogenic methane formation in marine and freshwater environments: CO_2 reduction vs acetate fermentation - isotope evidence[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1986, 50: 693-709.
- [9] GIGGENBACH W F. Carbon-13 exchange between CO_2 and CH_4 under geothermal conditions[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1982, 46: 159-165.
- [10] BOTZ R, POKOJSKI H-D, SCHMITT M, et al. Carbon isotope fractionation during bacterial methanogenesis by CO_2 reduction[J]. *Organic Geochemistry*, 1996, 25(3-4): 255-262.
- [11] SUGIMOTO A, WADA E. Hydrogen isotopic composition of bacterial methane: CO_2/H_2 reduction and acetate fermentation[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1995, 59(7): 1329-1337.
- [12] SUGIMOTO A, WADA E. Carbon isotopic compositions of bacterial methane in a soil incubation experiment: contributions of acetate and CO_2/H_2 [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1993, 57: 4015-4027.
- [13] 钱贻伯, 连莉文, 陈文正, 等. 生物气形成过程中 CH_4 碳同位素变化规律的研究[J]. *石油学报*, 1998, 19(1): 29-33.
- [14] 陈安定, 刘桂霞, 连莉文, 等. 生物甲烷形成试验与生物气聚集的有利地质条件探讨[J]. *石油学报*, 1991, 12(3): 7-17.
- [15] 李明宅, 张辉. 煤的厌氧降解产气作用[J]. *天然气工业*, 1998, 18(2): 10-12.
- [16] 宋一涛, 吴庆余, 周文. 未熟—低熟油的形成与成因机制[M]. 山东东营: 石油大学出版社, 2004: 50-70.
- [17] 张忠义. 螺旋藻的生物学评价[J]. *食品科技*, 1999(5): 52-54.
- [18] 李来好, 杨贤庆, 吴燕燕, 等. 马尾藻的营养成分分析和营养学评价[J]. *青岛海洋大学学报*, 1997, 27(3): 319-325.
- [19] 刘晓庚, 陈梅梅. 我国松针的利用研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2002(6): 21-22.
- [20] SACKETT W, BROOKS G, CONKRIGHT M, et al. Stable isotope compositions of sedimentary organic carbon in Tampa Bay, Florida, U.S.A.: implications for evaluating oil contamination[J]. *Applied Geochemistry*, 1986(1): 131-137.
- [21] ZEIKUS J G. Metabolism of one carbon compounds by chemotrophic anaerobes[J]. *Adv. Microbiol. Physiol.* 1983, 24: 215-299.
- [22] 关德师. 甲烷菌的生存条件与生物气[J]. *天然气工业*, 1990, 10(5): 13-19.
- [23] 党玉琪, 张道伟, 徐子远, 等. 柴达木盆地三湖地区第四系沉积相与生物气成藏[J]. *古地理学报*, 2004, 6(1): 110-118.
- [24] 管志强, 徐子远, 周瑞年, 等. 柴达木盆地第四系生物气的成藏条件及控制因素[J]. *天然气工业*, 2001, 21(6): 1-5.
- [25] BLAIR N E, CARTER W D J. The carbon isotope biogeochemistry of acetate from a methanogenic marine sediment[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1992, 56: 1247-1258.
- [26] BOROWSKI W S. A review of methane and gas hydrates in the dynamic, stratified system of the Blake Ridge region, offshore southeastern North America[J]. *Chemical Geology*, 2004, 205: 311-346.
- [27] GALIMOV E M, Kvenvolden K A. Concentrations and carbon isotopic compositions of CH_4 and CO_2 in gas from sediments of the Blake Outer Ridge, Deep Sea Drilling Project Leg 76[M]//SHERIDAN R E, GRADSTEIN F M, et al. Eds. Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project, 1983, 76: 403-407.
- [28] CLAYPOOL G E, THRELKELD C N. 1983. Anoxic diagenesis and methane generation in sediments of the Blake Outer Ridge, Deep Sea Drilling Project Site 533, Leg 76[M]//SHERIDAN R E, GRADSTEIN F M, et al. Eds. Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project, 1983, 76: 391-402.
- [29] BALABANE M, GALIMOV E, HENMANN M, et al. Hydrogen and carbon isotope fractionation during experimental production of bacterial methane[J]. *Organic Geochemistry*, 1987, 11(2): 115-119.

(修改回稿日期 2008-09-05 编辑 居维清)