



Collection of Measurement Methods for Biogas 沼气发酵实验方法汇编

Methods to determine parameters for analysis purposes and parameters that describe processes in the biogas sector

——用于规范实验分析及测定工艺参数



**Biomass
energy use**



**Biomass
energy use**

“生物质能源利用”项目

第七册

沼气发酵实验方法汇编

用于规范实验分析及测定工艺参数

由Jan Liebetrau, Diana Pfeiffer编辑

英文版首次出版于2016年

中文版首次出版于2019年

项目委托:



项目管理:



支持团队:



on the basis of a decision
by the German Bundestag

Authors

DBFZ Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH**[German Biomass Research Center]**

Martin Apelt, Rene Benndorf, Peter Fischer, Josephine Hofmann, Jan Liebetrau, Helge Lorenz, Jana Mühlenberg, Yong-Sung Kim, Jürgen Pröter, Torsten Reinelt, Britt Schumacher, Katrin Strach, Sören Weinrich, Tanja Westerkamp, Michael Dittrich-Zechendorf

Agraferm Technologies AG

Jürgen Kube

Fraunhofer-Institute for Ceramic Technologies and Systems (IKTS):

Karin Jobst, Marc Lincke, Annett Lomtscher, Björn Schwarz

Fraunhofer UMSICHT

Jorge Iván Salazar Gómez, Andrea Gerstner, Alisa Jović

gewitra – Ingenieurgesellschaft für Wissenstransfer mbH**[gewitra – engineering company for knowledge transfer]**

Carsten Cuhls

Helmholtz Centre Potsdam – Deutsches Geoforschungszentrum (GFZ)**[German Geo Research Centre] – Centre for CO₂ Storage – Microbial Geo-engineering**

Anne Kleyböcker, Tobias Lienen, Hilke Würdemann

Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Environmental and Biotechnology Centre (UBZ)

Lucie Moeller, Kati Görsch, Yvonne Köster, Andreas Zehnsdorf

ISF Schaumann Forschung mbH

Dietmar Ramhold

Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik e.V. Meinsberg (KSI)**[Institute for Measuring and Sensor Technology]**

Jens Zosel

TU Berlin – Chair of Bioprocess Engineering

Stefan Junne, Erich Kielhorn, Peter Neubauer

TU Berlin – Chair of Soil Science

Peter Dominik, Doreen Zirkler

TU Berlin – Chair of Chemical & Process Engineering

Matthias Kraume, Manuel Brehmer

TU Braunschweig – Leichtweiß-Institut – Department of Waste and Resource Management

Christof Heußner, Oliver Kugelstadt, Tobias Bahr, Klaus Fricke

University of Hohenheim – State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy

Hans Oechsner

University of Rostock, Faculty for Agricultural and Environmental Science – Institute for Environmental Engineering

Nils Engler

Editorial notes

Editors Jan Liebetrau, Diana Pfeiffer, DBFZ Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH Torgauer Straße 116 D-04347 Leipzig Tel.: +49 (0)341 2434-554 E-mail: diana.pfeiffer@dbfz.de www.energetische-biomassenutzung.de

Editorial Team Diana Pfeiffer, Jan Liebetrau, QIAN Mingyu, HOU Jingyue, QIAO Wei

Photos Title: DBFZ, DBFZ, DBFZ, Susanne Beeck/pixelio Back page: A. Gröber/DBFZ

Scientific coordination Jan Liebetrau DBFZ Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH Tel.: +49 (0)341 2434-716 E-mail: jan.liebetrau@dbfz.de

Typesetting Steffen Kronberg, Angela Gröber, Diana Pfeiffer

Chinese translation: HUANG Weihong, LU Yang, CHEN Dong

Chaoxinghui Printing Design co. LTD, Beijing Place of publication: Eschborn, Germany

ISSN: 2698-9190

ISBN: 978-3-946629-44-3

The English Version of the „Collection of Measurement Methods for Biogas“ was funded by the Federal Ministry of Economic Affairs and Energy in Germany (BMWi, Berlin) in the framework of the funding area „Biomass energy use“.

The Chinese Version of the „Collection of Measurement Methods for Biogas“ was funded by Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH.

The English version of this guideline shall be taken as authoritative.

No guarantee can be given with respect to the Chinese translation.

The presentation of the results with corresponding concepts, conclusions and expert recommendations is the sole responsibility of the authors. This also includes safeguarding any authors' third party rights. Therefore, any questions, complaints, legal claims, etc. may only be dealt with by the authors. The opinions, assessments or suggestions listed do not reflect the publisher's opinion.

All rights reserved. © DBFZ 2019

编者按

编者: Jan Liebetrau, Diana Pfeiffer, 德国生物质研究中心 (DBFZ), 地址: Torgauer Straße 116 D-04347 Leipzig, 电话: +49 (0)341 2434-554, 邮件: diana.pfeiffer@dbfz.de, 网址: www.energetische-biomassenutzung.de

编辑团队: Diana Pfeiffer, Jan Liebetrau, 钱名字, 侯靖岳, 乔玮

图片来源: DBFZ, DBFZ, DBFZ, Susanne Beeck/pixelio, 封底: A. Gröber/DBFZ

技术协调: Jan Liebetrau, 德国生物质研究中心(DBFZ), 电话: +49 (0)341 2434-716, 邮件: jan.liebetrau@dbfz.de

版面设计: Steffen Kronberg, Angela Gröber, Diana Pfeiffer

中文翻译: 黄卫红, 陆阳, 陈冬

打印: 北京潮星汇印刷设计有限公司

出版地: 埃施波恩, 德国

ISSN: 2698-9190

ISBN: 978-3-946629-44-3

英文版《沼气发酵实验方法汇编》受到了德国联邦经济和能源部 (BMWi) “生物质能源利用”领域的资助。

中文版《沼气发酵实验方法汇编》由德国国际合作机构资助完成。

一切表述请参照本指南的英文版本。对于中文版本我们不提供任何保证。

仅作者为书中研究结果和相应观点、结论以及专家意见负责, 这同样包括保障作者任何的第三方权利。因此任何问题、投诉、诉讼请求等仅由作者进行处理, 任何观点、评估结果和建议并不代表出版方的看法。

© DBFZ 2019 保留一切权利

目录

编者按	6
目录	7
缩略语与符号表	10
1 引言	16
2 定义	19
3 基本参数的测定方法	26
3.1 总固体含量（干物质含量）和挥发性固体含量（有机干物质含量）测定 （卡特琳·施特拉赫，德国生物质研究中心）	26
3.2 根据魏斯巴赫公式修正总固体含量 （布里特·舒马赫，德国生物质研究中心）	28
3.3 VOA（卡氏滴定法）和 VOA/TIC 值（FAL 方法）测定 （卡特琳·施特拉赫，德国生物质研究中心）	32
3.4 氨氮含量的测定（卡特琳·施特拉赫，德国生物质研究中心）	34
4 化学参数的测定方法	35
4.1 用顶空气相色谱（GC）法测定脂肪族、有机酸及苯甲醛组分的含量（马丁·伦瑟，德国生物质研究中心）	35
4.2 有机酸组分的测定 （露西·默勒，卡蒂·戈驰，莱比锡亥姆霍兹环境研究中心 - 环境与生物技术中心； 迪特马尔·拉姆霍德，ISF 绍曼研究中心； 埃里希·基尔霍恩，柏林工业大学）	40
4.3 醛、醇、酮、挥发性脂肪酸等组分含量的测定 （埃里希·基尔霍恩，彼得·纽鲍尔，斯特凡·郡奈，柏林工业大学）	43
4.4 用高效液相色谱技术测定固体（底物）与消化液样品中脂肪、芳香酸、醇及醛等组分的含量 （马丁·阿佩尔特，德国生物质研究中心）	46
4.5 糖分与葡萄糖降解产物的测定 （亚娜·米伦贝格，德国生物质研究中心）	51
4.6 基于气相色谱-质谱联用分析法测定糖类含量 （埃里希·基尔霍恩，彼得·纽鲍尔，斯特凡·郡奈，柏林工业大学）	54
4.7 总凯氏氮含量与粗蛋白含量的测定 （迈克尔·迪特里希-齐肯多夫，德国生物质研究中心）	59

4.8	蛋白质含量的测定 (露西·默勒, 卡蒂·戈驰, 莱比锡亥姆霍兹环境研究中心 - 环境与生物技术中心)	61
4.9	粗脂肪含量的测定 (迈克尔·迪特里希-齐肯多夫, 德国生物质研究中心)	63
4.10	粗纤维含量的测定 (迈克尔·迪特里希-齐肯多夫, 德国生物质研究中心)	66
4.11	测定酸性洗涤纤维 (ADF) 与酸性洗涤木质素 (ADL) 的工艺规范 (迈克尔·迪特里希-齐肯多夫, 德国生物质研究中心)	67
4.12	中性洗涤纤维 (NDF) 含量的测定 (迈克尔·迪特里希-齐肯多夫, 德国生物质研究中心)	70
4.13	痕量有机化合物含量的测定 (乔治·戈麦斯, 安德里亚·哥士纳, 阿利萨·约维奇, 弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所)	72
4.14	氢气含量的测定 (气态溶解氢) (延斯·措瑟尔, 测量与传感技术研究所)	78
4.15	生物废弃物处理工厂的排污检测 (卡斯滕·库尔斯, 吉维塔 - 知识转移工程有限公司; 托斯滕·赖内尔特, 简·利伯特劳, 德国生物质研究中心)	82
4.16	通过光学遥感法测定沼气工程的总排放量 (塔尼娅·韦斯特卡普, 德国生物质研究中心)	89
5	物理参数的测定方法	95
5.1	粒度分布 (马克·林克, 卡琳·乔布斯特, 德国弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所)	95
5.2	表面张力的测定 (露西·默勒, 卡蒂·戈驰, 莱比锡亥姆霍兹环境研究中心 - 环境与生物技术中心)	99
5.3	以气泡试验法测定发泡潜能 (露西·默勒, 卡蒂·戈驰, 莱比锡亥姆霍兹环境研究中心 - 环境与生物技术中心)	100
5.4	莱比锡泡沫特性测试仪——用于测定底物发泡趋势的测定装置 (露西·默勒, 伊冯娜·科斯特, 安德烈亚斯·泽恩斯多夫, 莱比锡亥姆霍兹环境研究中心 - 环境与生物技术中心)	102
5.5	粘度 (曼努埃尔·布雷默、马蒂亚斯·克劳默, 柏林工业大学; 卡琳·乔布斯特, 马克·林克, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所)	105
5.6	流量分析 (曼努埃尔·布雷默、马蒂亚斯·克劳默, 柏林工业大学; 阿内特·隆姆舍, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所)	124
5.7	借助示踪剂判定停留时间 (黑尔格·洛伦茨, 金荣晟, 勒内·本多夫, 彼得·菲舍尔, 德国生物质研究中心)	136
5.8	借助示踪剂研究成果判定停留时间 (安娜·克雷别克, 德国地球科学研究中心)	143
5.9	砂石测定的工艺技术规范 (卡特琳·施特拉赫, 德国生物质研究中心)	146

6	生物学参数的测定方法	150
6.1	奥伯豪森-罗斯托克-哥廷根活性测试 (ORGA 测试) 技术描述 (尼尔斯·恩格勒, 罗斯托克大学)	150
6.2	产气率测试 (批量试验) (马克·林克, 比约恩·施瓦茨, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所)	153
6.3	连续发酵测试 (一) (马克·林克, 比约恩·施瓦茨, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所)	158
6.4	连续发酵测试 (二) (卡特琳·施特拉赫, 德国生物质研究中心)	162
6.5	微生物测试 (托比亚斯·利宁, 希尔卡·伍德曼, 德国地球科学研究中心)	169
6.6	发酵残余物产气潜力/产甲烷潜力的测定 (汉斯·奥克斯纳, 霍恩海姆大学)	172
6.7	测定底物经氢氧化钠处理后的最大理论产气量 (比约恩·施瓦茨, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所)	176
7	计算和评估方法 (描述工艺流程的参数/元参数)	179
7.1	SWOT 分析法 (克里斯托弗·霍伊布纳, 奥利弗·库格斯塔特, 托拜厄斯·巴尔, 克劳斯·弗里克, 布伦瑞克工业大学)	179
7.2	设备/工艺流程指标计算 (各个工艺步骤的优化潜力) (克里斯托弗·霍伊布纳, 奥利弗·库格斯塔特, 托拜厄斯·巴尔, 克劳斯·弗里克, 布伦瑞克工业大学)	181
7.3	有机肥对土壤腐殖质供应影响的测定 (多琳·泽科勒, 彼得·多米尼克, 柏林工业大学)	185
7.4	沼气工程的质量平衡 (尤尔根·普罗特, 约瑟芬·霍夫曼, 德国生物质研究中心; 尤尔根·库比, Agraferm)	188
	图目录	199
	表目录	202
	参考文献目录	203

缩略语与符号表

无国际标准单位

缩略语/符号	解释	计量单位
3D	三维	
5-HMF	5-（羟甲基）糠醛	
AbfAblV	《德国居住区废物环境兼容性存储与生物废物处理设施条例》[简称《废物处置条例》]	
ADF	酸性洗涤纤维	[%TS]
ADL	酸性洗涤木质素	[%TS]
A _s	投影面积	[m ²]
bLS	反向拉格朗日随机扩散模型	
BMWi	德国联邦经济事务和能源部	
C	常量	
CA	粗灰分	[g/kg TS]
C _c	待测沼气样本化合物浓度，相对于特定条件	[mg/m ³ (STP)]
CCA	恒流型风速仪	
CCD	互相关开发相机	
c _{CH4}	甲烷浓度测量值	[m ³ /m ³]
c _{CO2}	二氧化碳浓度测量值	[m ³ /m ³]
CFD	计算流体动力学	
CFI	粗纤维	
CFU	菌落形成单位	
CH ₄ -C	甲烷碳	
CHP	热电联产发电厂	
C _L	端效应修正因子	
C _{lam}	所用搅拌器常数	
C _{MO}	Metzner-Otto 常数	
CO ₂ -eq.	二氧化碳当量	
COD	化学需氧量	[mgCOD/L]
C _{SR}	用于重新计算剪切速率下旋转频率的测量系统常数	[min/s]
C _{SS}	用于重新计算剪切应力下扭矩的测量系统常数	[Pa/Nm]
CTA	恒温型风速仪	
d	直径	[m]
DA	日平均值	
DAD	二极管阵列检测器	
DAS	数据采集系统	
DC	直流电	
DGGE	变性梯度凝胶电泳	
dist	已蒸馏	

缩略语/符号	解释	计量单位
DNS	二硝基水杨酸	
d_s	传感器直径	[m]
E(t)	停留时间与密度函数	
ECD	电子捕获检测器	
EEG	德国《可再生能源法》[Erneubare-Energien-Gesetz]	
EI	评价指标	
EMT	有效矿化时间	
ERT	电阻层析成像	
F	系统因子	
F(t)	停留时间与总和函数	
FAL	德国联邦农业研究院	
FET	场效应晶体管	
FID	火焰电离检测器	
FISH	荧光原位杂交	
F_{N_2}	气流速度	[mL/min]
FVS	可发酵的有机挥发性固体含量（亦称为可发酵的有机干物质含量）	[kg FVS/kg TS]
f_w	添加水的化学计量值	[kg water/kg FVS]
f_x	微生物生物量形成	[kg water/kg FVS]
GB 21	21 天气体产量	[L (STP)/kgVS]
GC	气相色谱仪	
GC-MS	气相色谱仪质谱联用仪	
GWP（数值）	全球变暖潜能值	
HAc	乙酸	
h_{foam}	所生成泡沫层的高度	[mm]
HHAV	半小时平均值	
H_{i,CH_4}	沼气（标况）的内部热值（亦称为低位热值）	[kWh/m ³ (STP)]
HPLC	高效液相色谱仪	
HRT	水力停留时间	[d]
IC	离子色谱仪	
ICP-OES	电感耦合等离子体发射光谱仪	
ID	内径	[mm]
ioTS	无机总固体含量（亦称为无机干物质含量）	[kg ioTS/kg TS]
IR	红外线	
ISO	国际标准化组织	
ISTD	内部标准	
K	奥斯瓦尔德因子	[Pa·s ⁿ]
k	一级反应速率常数	[1/d]
K^*	基于旋转频率的流量曲线的稠度系数	[mPa·s ^m]
k', k''	Metzner-Reed 流量系数	[Pa·s ⁿ]

缩略语/符号	解释	计量单位
$K_{1/s}$	一定范围内剪切速率的稠度因子（在剪切速率 $\dot{\gamma}=1\text{ s}^{-1}$ 时表观黏度的稠度因子）	[mPa·s ^m]
KrWG	《促进废弃物闭合轮转管理及确保环境相容的处置废物法》 [Kreislaufwirtschafts- und Abfallgesetz]	
K_{VP}	在相关剪切速率下重新计算搅拌器旋转频率的因子	
L	特征长度	[m]
L2F	双焦点激光测速技术	
LBP	线性反投影算法	
LDA	激光多普勒测速技术	
LEL	爆炸下限	[%]
L_0	奥布霍夫长度	[m]
LOD	检出限	
LOQ	定量限	
LTR	从左至右	
M	扭矩	[Nm]
MCF	氯甲酸乙酯	
mg _{COD/L}	毫克 COD/升（化学需氧量）	
MGRT	可保证的停留时间下限	
MID	磁流量计	
MS	质谱仪	
MYA	麦芽酵母琼脂	
N	旋转频率	[1/s]
n	流量指数	
n'	Metzner-Reed 指数	[-]
n''	Herschel-Bulkley 指数	[-]
n-N	非牛顿	
Nd:YAG	钕钇铝石榴石双脉冲激光	
NDF	中性洗涤纤维	[%TS]
Ne	牛顿数（电源指示灯）	
NGS	下一代测序技术	
NH ₄ -N	总氨氮（TAN）	
NM VOC	非甲烷[挥发性]有机化合物	
NO ₂ -N	亚硝酸盐氮	
NO ₃ -N	硝酸盐氮	
ORGA-Test	奥伯豪森-罗斯托克-哥廷格活性测试	
OLR	有机负荷	[kgvs/(m ³ -d)]
p	压力	[Pa]
P	功率输入（搅拌器功率）	[W]
p.a.	分析用（分析级）	

缩略语/符号	解释	计量单位
P_{el}	电热电联产的电力	[kW]
P_{RTI}	总额定输入功率	[kW]
PIV	粒子图像测速技术	
ppb	十亿分之一	
ppm	百万分之一	
ppm*m	百万分之一米	
ppmV	百万分之一体积	
PTB	德国联邦物理技术研究院 (Physikalisch-Technische Bundesanstalt)	
Q_0	数量分布	[%]
$q_0(x_{EQPC})$	共延伸圆直径的数密度分布 (数量类型“数量”0)	[1/ μm], [%/ μm]
$Q_0(x_{EQPC})$	共延伸圆直径的累积分布 (数量类型“数量”0)	[-], [%]
$q_3(x_{EQPV})$	共延伸圆直径的数密度分布 (数量类型“数量”3)	[1/ μm], [%/ μm]
$Q_3(x_{EQPV})$	共延伸球体直径的体积密度分布 (数量类型“数量”3)	[%]
qPCR	定量聚合酶链反应	
r	半径	[mm], [m]
R_1	电阻	[Ω]
R_2	电阻	[Ω]
R_{CR}	控制电阻	[Ω]
Re	雷诺数	
RenFe [NaWaRo]	可再生原料[Nachwachsende Rohstoffe]	[%] [mm]
RGP	残余产气潜能 (亦称为可发酵的有机干物质含量)	
r_i	内半径	
RID	折射率检测器	
r_o	外半径	[mm]
rRNA	核糖体核糖核酸	
R_s	传感器电阻	
STD	标准/标准化	
STP	干燥且在标准温度与标准压力下, 标况	
SWOT	S-优势, W-劣势, O-机会, T-威胁	
T	沼气样品的实际温度	[$^{\circ}\text{C}$]
TA Luft	《空气质量控制技术规范》[Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft]	
TAN	总氨氮 ($\text{NH}_4\text{-N}$)	
TC	总碳	
TD	热解吸	

缩略语/符号	解释	计量单位
TDLAS	可调谐二极管激光吸收光谱仪	
T_f	流体温度	[°C]
TGB	胰蛋白胨葡萄糖肉汤	
TIC	总无机碳酸盐缓冲溶液	
TN	总氮	
TOC	总有机碳	
TS	传感器温度	[°C]
TS	总固体含量（亦称为干物质含量）	[%]
TS _D	厌氧消化液的总固体含量	[kg TS/kg WW]
TS _{md}	总固体含量（经干燥与研磨后）	[%]
TS _S	基质混合物的总固体含量	[kg TS/kg WW]
TS _{KF}	总固体含量-卡尔-费休法	[g/kg], [g/L], [%]
U	加热器电压	[V]
u^*	摩擦率	[m/s]
U _B	桥电压	[V]
UEL	爆炸上限	[%]
V	样本容积	mL
v	速度	[m/s]
v _{avg}	平均速度	[m/s]
VDLUFA	德国农业分析研究机构协会 [Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten]	
V _{foam}	所生成泡沫的体积	[mL]
V _{GP}	反应器中气相的体积	[mL]
VOA	挥发性有机酸	[mg/L]
VOC	挥发性有机化合物	
VS	挥发性固体含量（亦称为有机干物质含量）	[% TS], [kg VS/kg TS]
VS _D	厌氧消化液中挥发性固体含量（亦称为有机干物质）	[kg VS/kg TS]
VS _S	基质混合物中挥发性固体含量（亦称为有机干物质）	[kg VS/kg TS]
V _{tot}	总容积	[mL]
W	壁	
WC	含水量	
WW	湿重	
x _{EQPC}	面积直径	[μm]
x _{EQPV}	体积球体直径	[μm]
x _{max}	纤维长度	[mm]

缩略语/符号	解释	计量单位
Y_{FVS}	可发酵的有机挥发性固体（标况）的沼气（产气）潜能	$[m^3 \text{ (STP)}/kg \text{ FVS}]$
Y_D	特定残余产气潜能（标况）	$[m^3 \text{ (STP)}/kg \text{ WW}]$
Z_0	粗糙长度	$[m]$
Z_{up}	上游长度	$[m]$

特殊符号	解释	计量单位
$\dot{\gamma}$	剪切率	$[1/s]$
$\dot{\gamma}^*$	根据制造商提供的说明书计算而得的剪切率	$[1/s]$
$\dot{\gamma}_{rep}$	代表性剪切速率	$[1/s]$
δ	半径比	
η	动态黏度	$[kg/ms]$
η	FVS 转换率	$[kg \text{ FVS}/kg \text{ FVS}]$
η_{eff}	有效黏度	$[kg/ms]$
η_{el}	热电联产的电效率	$[kW/kW]$
η_{n-N}	非牛顿流体的黏度	$[N/m^2], [Pa \cdot s]$
η_s	表观黏度	$[mPa \cdot s], [Pa \cdot s]$
\dot{m}	剪切应力	$[N/m^2], [Pa]$
\dot{m}_D	厌氧消化液的质量流量	$[kg/d]$
\dot{m}_S	基质混合物的质量流量	$[kg/d]$
ρ	密度（标况）	$[kg/m^3], [kg/m^3 \text{ (STP)}]$
ρ_B	沼气密度（标况）	$[kg/m^3 \text{ (STP)}]$
$\sigma_{p(x,y)}$	像素电导率	$[mS/cm]$
τ	剪切应力	$[N/m^2], [Pa \cdot s]$
τ_W	近壁剪切应力	$[N/m^2], [Pa \cdot s]$
\bar{t}	平均停留时间	$[s]$
\dot{V}_B	沼气（标况）的体积流量（速率）	$[m^3 \text{ (STP)}/d]$
ω	角速度	$[1/s]$

1 引言

本研究得到德国研究计划“生物质能源利用”的支持。自 2009 年 4 月起，多个旨在开发和优化环保节能技术的项目持续获得资助，以实现生物质能的高效利用。

在该计划中，在生物质能高效利用领域，厌氧消化（AD）沼气厂是非常成功和有光明前景的选择。多年来，德国的沼气厂数量不断增长。截至 2015 年，已达到 8,000 多个，说明沼气技术已经得到了广泛的应用。然而，现在的沼气工程在生物质的转换与利用方面还存在很大的优化空间。通过优化和提高各类生物质原料的发酵产气率，可再生能源在电力供应中的比例可以得到提高，同时还有助于生物质废弃物的资源利用。

有鉴于此，“生物质能源利用”计划中大约一半的项目（103 个）将研究重点放到了废弃物的有效利用这一主题，实现途径包括开发创新型工艺组合、对发酵工艺进行技术优化以及扩大沼气的利用途径等。特别值得一提的是，可持续发展理念（特别是温室气体减排）在本计划中发挥着重要作用。

除了各个项目的研究活动和目标外，各个项目还产生汇编各自所用方法的想法。这些项目是“生物质能源利用”资助计划下“沼气”工作组的组成部分。

尽管工程化规模的沼气工程和系统的数量已经很多，但其过程分析以及科学分析方法方面尚存在诸多挑战。这些挑战与底物的特殊特性和沼气制取过程的技术特点相关，需要我们逐一攻克。本研究采用的测定方法取自其他科学领域（例如废弃物管理）的应用实践，多数情况下已进行重大修改，从而确保能够满足实际应用需求。本汇编中介绍的一些方法基于标准化方法框架，经过多次修改后再加以运用。此外，在尚未实现标准化的领域，我们还开发出全新方法（例如挥发性有机酸与总无机碳酸盐之比值 [VOA/TIC]）。因此，针对无法有效比较结果的方法，我们通过修改开发出新方法。

为解决这一难题，有必要分析整理汇编出一套沼气发酵技术领域的分析方法，并开展评估。此外，还需从长远视角出发，与使用此类方法的机构进行沟通和讨论。基于这一思路，我们产生出编写《沼气发酵实验方法汇编》的想法。首先，我们将在此汇编中介绍德国“生物质能源利用”研究计划下沼气项目中使用的基本方法。之后，在该资助计划实施期间，我们还将讨论与评估这些方法，使之不断完善。此外，为使本汇编介绍的方法拥有更广泛的基础，我们还将与未参加“生物质能源利用”资助计划的机构机构广泛接洽，吸纳它们的意见和建议。

因此，本《沼气发酵实验方法汇编》首次综述了沼气发酵技术领域的不同分析方法，针对不同应用情景所采用的分析方法的适用性进行了比较分析。此外，本汇编的读者将有机会了解到研究上述方法的机构，与这些机构交流经验，进一步完善方法。

第一版《沼气发酵实验方法汇编》（英文版）汇编了本计划参与机构运用的方法。由于所涉项目内容存在巨大差异，导致涵盖沼气研究领域各个方面的方法有较大的差异，这也从一个侧面反映了沼气研究的多样性。

在少数情况下，我们在测定同一参数的过程中采用了不同方法，本汇编逐一介绍了这些法。

随着德国“生物质能源利用”研究计划的持续实施，将纳入新的项目和方法。这些项目和方法将为完善本汇编做出贡献，并且引发业界对本计划范围之外方法展开激烈讨论。

本汇编中介绍的方法应用于生物质-沼气转换与利用领域的技术工艺与过程，适用于垃圾处理工程以及农业沼气工程。

本汇编所给出的方法是一个已经被实现的复杂的过程，并在实践中也有很多的变化。

在不同的章节，分析方法中关于基本参数、化学参数、物理参数及生化参数都进行了介绍。这些方法描述初始底物的发酵原料特性、发酵罐内的物料特性和产物特性。这些方法还用于描述初始底物与最终产物的性质以及发酵过程中的进程状态。这些参数可以用于进一步调研的初始参数，例如过程评估、物料平衡及能量平衡。

此外，正在开展的排放评估也为此类高阶调查提供依据。为此，有必要进行排放物定性与定量分析具有客观必要性。

“计算和评估方法”的一章介绍了 SWOT（优势、劣势、机会及威胁）分析、物料平衡或工艺指标测定等方法。这些方法被用于评估整个工艺过程或单元过程的技术适用性或能效分析。

如果您想为《沼气发酵实验方法汇编》提供超出本资助计划范围的更多方法），或者对当前版本提出意见和/或建议，敬请联系：

Diana Pfeiffer

电话：+49 (0)341 2434
554

电邮：

diana.pfeiffer(at)dbfz.de

或

Jan Liebetrau

电话：+49 (0)341 2434
716

电邮：

jan.liebetrau(at)dbfz.de

2 定义

术语	解释
活性污水污泥（接种物）	用于启动或加速→发酵进程的微生物物质；根据 DIN 384148 标准的要求，→活性污水污泥通常是指消化污泥，如非如此如已偏离，则以其真实存在的形式进行精确记录。
沼气产气量	其单位可表示为升（标准状况，即温度与标准压力下，英文简写 STP） →以体积为单位的沼气产气量。 根据 DIN 1343（相对湿度为 0%，气体温度为 0 °C，环境压力为 1013.25 毫巴），沼气产气量是转化为标准状况下的粗沼气产气量。
厌氧生物降解性	→底物或→共底物的微生物转化程度，通常以→其降解程度表示。
厌氧消化工程（AD 工程）	→沼气生产的工厂
厌氧处理	在无需提供空气（氧气）的情况下进行的一种生物处理工艺，目的是在分解有机物的同时生产→沼气。
批次试验	非连续性试验，在试验过程中有机→底物或→共底物在规定的厌氧条件下进行→发酵，从而获得关于微生物发酵性能与→产气率的深入洞见。
沼气	→发酵过程的气体产物，主要是甲烷和二氧化碳，此外，沼气也可含有氨、硫化氢、蒸汽及其他气态组分或可蒸发组分，具体视底物种类的不同而异。
产沼潜力	其单位可表示为 L (STP)/kg _{vs} 可以从既定数量底物中生成的最大可能的→沼气产气量。
沼气甲烷含量	沼气中甲烷含量是一个单位体积的→沼气中所含甲烷的体积分数。
沼气制取设备（亦称厌氧消化制气设备）	用于利用所提供材料生产沼气的结构单元，至少包含一个或多个消化罐及其所需的管路与电缆。通常情况下，沼气制取设备还设有物料堆存设施和进料设施，用于发酵底物、气体净化、气体利用系统（例如热电联产发电厂，英文简称 CHP）及贮存用途。此外在偶然情况下，一些沼气制取设备还设有用于确保天然气品质的→消化物加工设施与→沼气加工设施，其目的在于将该制气设备生产的天然气馈入天然气网。此处需要对一段式和多段式沼气制取设备加以区分。（根据德国科学技术协会标准 VDI 3475 表 4）
沼气处理	沼气处理包含为清洁被异物污染的→沼气和富集甲烷而在技术上所必需的所有设施。→气体净化
沼气产气率	其单位可表示为 L (STP)/d →单位时间内产生的沼气的量。
单位沼气产气率 （沼气产气率）	单位为 L (STP)/(L · d) →沼气产气率与→消化罐有效容积之间的关系。

术语	解释
沼气产率	其单位可表示 L (STP)/kg _{VS} 或 L (STP)/kg _{WW} 既定量底物所产生的沼气产气量。 升 (STP) -1 升标准温度和压力下干燥沼气 WW - 湿重 VS - 挥发性固体
生物质	生物质是由植物生物量和动物生物量组成的活体有机物质。它还包括由植物生物量、动物生物量、残余物及废弃物产生的次级产品和副产品，其能量组分来源于植物生物量和动物生物量。
生物废弃物	用于加工的动物性来源或植物性来源废弃物，其可被微生物、土传生物或酶分解；此类废弃物包括附录 1 第 1 条中所列的废弃物；不含大份额生物废弃物的土壤原料不被视作生物废弃物； 在造林用地或农业用地上产生并滞留在此类用地上的植物残余物不属于生物废弃物 (BIOABFV 1998 [2007])。
空白试验 (零测试)	在不添加→底物的前提下只添加接种污泥的发酵试验。
化学	单位为 mg _{COD} /L
需氧量 (COD)	用以表示底物中可氧化化合物含量的指标。
共发酵	(此处系指) 一种厌氧工艺，作为主要原料的底物与其他一种或多种原料 (共底物) 共同被生物降解完成发酵的工艺过程。
共底物	加入到发酵罐中的原料，但并不是所有进料原料中占份额最高的。
接收罐	系指用于接收固体和液体发酵原料以及发酵助剂的存储用的容器或装置。
复合样本	通过组合和混合来自→一个基本量的多个→独立样本而形成的样本。
挥发性固体含量 (VS)	单位为 g _{VS} /kg _{WW} 和/或 g _{VS} /L _{WW} 在预先烘干情况下，在 500°C 的温度下烘至恒重时，相对于未经处理原始样本 (→湿重) 的样本重量损失 (挥发性固体灼烧减重) 或灰化后灰分的初始体积。重量损失主要系由有机物组分引起，但有机物组分并非重量损失的唯一影响因子。采用此方法不能捕获在 105°C 温度下烘干过程中逸出的挥发性有机物质，此类物质必须另行测定。
累积样本	请参阅→复合样本。
日负荷	其单位可表示 kg _{VS} /d 或 kg _{TS} /d 或 kg _{COD} /d 每天馈入发酵系统中的→底物的量。
降解率，以百分率 (%) 表示	由于厌氧降解而导致的相对于→底物初始量的有机物质质量损失。
脱硫率	脱硫程度旨在描述借助生物、化学或物理脱硫工艺而实现的→沼气中含硫化合物的消除程度。
消化液 (亦称为发酵罐残余物)	从发酵罐排出来的残余物，通常可用作接种物。
消化液处理	用于处理→消化液的设施和厂房组成部分。

术语	解释
消化液存储单元	储存消化液的容器或装置。在被进一步利用和加工处理之前→消化液以不加热方式贮存在此类存储单元中。消化液存储单元接收发酵罐的出料。消化液存储单元的主要作用并不是产生甲烷。在此类单元中，液位在一年之中的不同时段会出现大幅波动。
消化污泥	消化污水污泥（请参阅→活化污水污泥）。
消化罐（亦称为发酵罐）	用于借助微生物的作用实现物料发酵的容器。用于沼气生产的发酵罐的特征在于发酵罐被连续加热、物料连续搅拌和输送、发酵过程能够被有效的控制，以及沼气被有效收集并加以利用。通常情况下，发酵罐可分为预发酵罐、主发酵罐和后发酵罐。
消化罐容积（亦称为发酵罐容积）	发酵罐总容积的一部分，发酵在这里发生。
消化（亦称为发酵）	厌氧过程，在该过程中通过微生物或微生物酶的作用将基质转化而生成沼气。 →发酵同义（该术语通常用于废水处理）。
出料浓度	其单位可表示为 $\text{kg}_{\text{VS}}/\text{m}^3$ 或 $\text{kg}_{\text{TS}}/\text{m}^3$ 。出料中某种物质的浓度（例如，以 $\text{kg}_{\text{VS}}/\text{m}^3$ 为单位的挥发性固体含量）。 VS – 挥发性固体； TS – 固体总量。
出料负荷	其单位可表示为 $\text{kg}_{\text{VS}}/\text{d}$ 或 $\text{kg}_{\text{TS}}/\text{d}$ 单位时间内从发酵罐中排出的出料质量。
两相甲烷发酵	在空间上将水解和产酸发酵与产甲烷发酵分离的工艺。
能源作物	以为生产能源提供原料为唯一目的所种植的农作物。
进料	将底物加入发酵罐称为进料。
源自可再生资源的原料（RenFe）	出于利用能量和/或材料之目的而种植的作物。
发酵	经过生化过程生产产品的过程→消化
发酵助剂	被加入到发酵罐的材料和/或工作介质，用于促进微生物的分解过程。发酵助剂本身不具有任何→沼气（产气）潜力和/或此潜力极小，可忽略不计。发酵助剂可以是有机成分，亦可以是无机成分（例如藻类制剂、用于供应微生物的微量元素和用于水解的酶）。
发酵混合物（消化器/发酵罐内容物）	发酵罐中的混合物，包括加入的基质、发酵助剂和微生物。
发酵产物	指通过发酵产生的固体、液体和气体形式的产物：→沼气和→消化器残余物。
发酵罐	→消化器

术语	解释
发酵罐容积	→消化器容积
浮泥层（浮渣层）	在→发酵混合物中漂浮在上方且可形成层状物或覆盖物的组分。
泡沫	聚集在发酵混合物表层的气泡，由液体薄层相互隔开，其结构可通过介质组分（例如蛋白质）而自行稳定。产生泡沫的原因可包括→底物中的组分、特定中间代谢物；在因胞外酶释放而导致的厌氧生物群落应激情况下（过载、底物变化时的种群动态、缺乏症状）亦可产生泡沫。
气体生成（GB 21）	其单位可表示为 L (STP)/kgVS（21 天内） 在有限的既定时间段之后在特定→批次测试中产生的→产气量（例如 21 天后的产气量 GB 21；请参阅《德国人类居住区废物环境兼容性存储与生物废物处理设施条例》[简称《废物处置条例》[AbfAbIV]）。
气体净化	从沼气中去除不可用组分或在使用中或可引发问题的组分的处理设施。大多数情况下，气体净化仅指沼气用于热电联产脱硫和除湿工艺。→沼气处理
产气量	请参阅→沼气产气量。
同质性/异质性	在一定数量的材料中特征值/材料的均匀/不均匀分布的程度；一种材料可以在某一类分析或某一项特征方面呈同质性，但在另一类分析或另一项特征方面呈异质性。
水力停留时间（HRT）	其单位可表示为天。 →底物在→消化器中的平均保留时间（常用的工作体积除以每日加入底物体积所得的商仅可用于假设该反应为恒容反应的情形）。 $HRT = \frac{V_{\text{反应器}}}{\dot{V}}$
水解气体	在甲烷化之前即已实现单独水解阶段的情况下，因生化水解底物分解而形成的→发酵产物。从组成上看，它主要由二氧化碳和氢气组成，并含有极低比例的甲烷、硫化氢及其他挥发性有机化合物组分。
杂质	干扰工艺、技术或产品质量的物质（例如塑料、玻璃或金属制颗粒与沙石）。
抑制物	破坏微生物或酶的效率（活性）来阻碍发酵。
进料浓度	其单位可表示为 kgVS/m ³ 或 kgTS/m ³ 进料中的物质浓度。
无机固体总量（ioTS）	无机固体总量（亦称为无机干物质）；包括灰分与煅烧残渣等；根据 VDLUFA 的规定，无机固体总量系在 550°C 温度下从→总固体（亦称干物质）（TS）中产生；表示→底物样本中的惰性组分百分含量。
进料	加入系统（系统边界）。

术语	解释
物料平衡	在选择了一定的时间范围 Δt_0 内，通过计量流入和流出系统边界的物质量而得到的质量平衡。
甲烷产量	甲烷产量是 \rightarrow 沼气产气量和 \rightarrow 沼气中甲烷含量的乘积。
消化液产甲烷潜力（残余物产气潜力）	消化液的甲烷产气潜力是在既定条件下实验室测试中确定的。此外，与甲烷产量相同的是，在为测试所选温度与持续时间等技术规格下，它与消化液的 \rightarrow 湿重或 \rightarrow 有机干物质（挥发性固体）有关。
容积产气率	单位为 $L (STP) CH_4/(L \cdot d)$ 单位时间内所产生甲烷的量与 \rightarrow 消化罐工作容积之间的关系。
多段式沼气工程	多段式沼气的特征在于相同阶段都发生在以串联方式相连接的 \rightarrow 发酵罐中。例如，多段式沼气制取设备可包括以串联方式相连接的一台 \rightarrow 预消化罐、配一台 \rightarrow 主发酵罐和一台 \rightarrow 后发酵罐。
有机负荷率（OLR）	单位为 $kgvs/(m^3 \cdot d)$ \rightarrow 日负荷与消化罐容积之间的关系。 $OLR = \frac{in \cdot c}{V \cdot 100}$
排料	从一个物料平衡的系统排出物料。
相	相系指微生物生化工艺。应有效区分单相甲烷发酵与两相甲烷发酵。
污染物	抑制发酵过程（ \rightarrow 抑制）的物质或对 \rightarrow 发酵产物可用性产生负面影响的物质。
工艺温度	在使用多个测量位点的情况下，工艺温度系指 \rightarrow 发酵罐中的平均温度。
再循环	\rightarrow 发酵混合物或 \rightarrow 消化液，在排出 \rightarrow 发酵罐之后，部分（例如仅回流分离后的液相）返回加入到发酵罐中。
标准参考底物/标准参考样本	具有已知沼气产气潜力的 \rightarrow 底物（例如微晶纤维素）。
代表性样本	其特征在很大程度上与整批产品的平均特征相对应的样本。
样本制备	通过分离、粉碎及分类等方式构建代表性样本/发酵过程所需的样本特征的过程。
采样	提取和制备部分 \rightarrow 底物或部分消化罐内容物的过程，其目的在于获得有关全部底物或全部内容物的化学或生物参数的代表性相关信息。
沉淀	固体物质在 \rightarrow 消化罐和储存容器/器皿中发生沉积。
单相甲烷发酵	在一个空间内完成物料的水解、酸性发酵和甲烷发酵的工艺。

术语	解释
单个样本	在单个采样过程中提取的样本量；就时间和位置而言，它仅限于单个提取位点。
一段式沼气工程	一段式沼气的特征在于发酵过程的各阶段均在一个或多个以并联方式相连接的→发酵罐中进行。
污泥负荷	单位为 $\text{kg}_{\text{VS}}/(\text{kg}_{\text{VS}} \cdot \text{d})$ →日负荷 ($\text{kg}_{\text{VS}}/\text{d}$) 与→消化罐中挥发性固体之间的关系。
比搅拌机功率	比搅拌机功率是用于混合发酵罐中物料的搅拌器系统的平均功率需求，具体数值根据电气有效功率确定，也决定于发酵罐的容积。
样本储存	在化学分析或生物测试中在→采样、→样本制备和样本利用的不同阶段之间衔接时间的过程。
底物	用于→发酵（此处系指→消化）的原料。
总氮含量（TAN）（ $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量）	总氮含量（TAN）是每个工艺阶段以 NH_4^+ 离子和未离解 NH_3 形式存在的氮化合物的总和。
总氮含量（凯氏氮，TKN）	总氮含量是→进料中无机和有机氮化合物中含氮量的总和（参见 DIN EN 25663）。
总固体总量（TS）	单位为 g/kg ，在含水量高的情况下单位为 g/L ，或以总量（湿重）的百分数表示（% _{ww} ）。 在以加热方式去除水分之后残余物质的量（在 105°C 的温度下烘烤 24 小时和/或烘至恒重的情况下）。除水分外，在适用情况下，该过程还可去除其他挥发性组分（例如挥发性有机酸）。
固体总量 - 卡尔 - 费休法（ TS_{KF} ）	单位为 g/kg ，在含水量高的情况下单位为 g/L ，或以总量（湿重）的百分数表示（% _{ww} ）。 具体数值根据卡尔-费休法或通过共沸蒸馏（二甲苯或甲苯法）法确定。在本书中确定为纯水含量（WC）。
研磨后固体总量（ TS_{md} ）	与→总碳含量不同的是，研磨后固体总量（ TS_{md} ）是指经过干燥、研磨和再次干燥后的样本，因为样本在研磨过程中会吸收水分。
痕量气体浓度	痕量气体浓度系指在沼气中气态伴生物的比例（例如硫化氢、氨及硅氧烷等）。
碳水化合物范式分析法	碳水化合物范式分析法将骨架碳水化合物纤维素、半纤维素和木质素中的细胞壁组分分离开来。相比→温氏（WEENDER）饲料分析法，范氏法能够更精准描述碳水化合物的发酵特性。

术语	解释
挥发性有机酸与总无机碳酸盐之比（VOA/TIC 值）	<p>VOA/TIC 值是→挥发性有机酸（VOA）含量（采用 0.1 当量浓度硫酸滴定法测定，表示为 mg/L 乙酸[HAc]）除以同一滴定过程中酸消耗量（最高可达 pH=5）（TIC，表示为 mg CaCO₃/L）所得的商。</p> <p>VOA/TIC 值系建立在纯经验的基础上，是用于评估过程稳定性的早期预警参数。对于稳定化运行的系统，极限值<0.3 被视作具有足够安全性。在原料全部来源于可再生资源的情况下，VOA/TIC 值在 0.4 至 0.6 之间时系统仍可实现稳定运行。</p> $\frac{((B \text{ 物质消耗量} \cdot 166) - 0,15) \cdot 500 \text{ [mg/L HAc]}}{A \text{ 物质消耗量} \cdot 500 \text{ [mg/L CaCO}_3\text{]}}$
挥发性有机酸（VOA）	挥发性有机酸系指蒸汽挥发性脂肪酸（C ₁ 至 C ₅ ）。挥发性有机酸的总百分数的计算以每个工艺阶段的乙酸当量表示。
废弃物	可以被去除且已被列入《促进废弃物闭合轮转管理及确保环境相容的处置废物法》（KrWG）附录 1 中的可去除项。
温氏饲料分析法	温氏饲料分析法旨在测定发酵底物的粗灰分、粗纤维、粗蛋白、粗脂肪和无氮提取物的含量。根据已测定的营养组分除以相应消化率（从进料/饲料数值表中查得）而得的商，并结合考虑可消化组分的单位甲烷产量（即碳水化合物、粗蛋白和粗脂肪），我们可计算得出设备→底物的近似甲烷产量。
湿重（WW）	具有天然含水量且呈原始状态的物质或→底物的质量。
沃泊指数	沃泊指数是用以评估气体燃烧特性的指标。高位沃布指数是高位发热量除以气体相对密度的平方根所得的商。低位沃泊指数下限是低位发热量除以其他相对密度的平方根所得的商。它通常与标准条件有关。

3 基本参数的测定方法

3.1 总固体含量（干物质含量）和挥发性固体含量（有机干物质含量）测定

卡特琳·施特拉赫（Katrin Strach），德国生物质研究中心

现状	目前常规应用。
标准	总固体含量和挥发性固体含量测定参照 DIN 12880 和/或 DIN 12879（德国标准 2001a）、（德国标准 2001b）进行
适用领域	适用于原料和消化液中挥发性组分含量较低的情况。
缺点	除水分外，挥发性组分（例如挥发性有机酸）在烘干过程的损失导致测试误差。

设备与化学制剂

- 马弗炉
- 干燥柜
- 精密天平
- 干燥器

执行方法

测定消化液等液体样品总固体含量时，应首先记录空坩埚重量。然后向坩埚中加入大约 5 克样品，并再次记录加入样品后的坩埚重量。将加入样品的坩埚置于 105°C 干燥箱中进行干燥，直至达到恒重。记录坩埚和干燥样品的恒重。随后在马弗炉中将样品先于 220 °C 下煅烧 30 分钟，再于 550 °C 下煅烧 2 小时。煅烧后将热坩埚在干燥器中冷却。坩埚冷却后再次称重。

计算总固体含量

$$TS = 100 \cdot \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \quad (1)$$

TS	总固体含量（亦称为干物质含量）	(%)
m ₁	空坩埚的质量	(g)
m ₂	加入样品后坩埚的质量	(g)
m ₃	105°C 烘干并干燥后坩埚的质量	(g)

计算挥发性固体含量

$$VS = 100 \cdot \frac{m_3 - m_4}{m_2 - m_1} \quad (2)$$

VS	挥发性固体含量:	(% TS)
m ₁	空坩埚的质量	(g)
m ₂	加入样品后坩埚的质量	(g)
m ₃	干燥后坩埚的质量	(g)
m ₄	煅烧后坩埚的质量	(g)

测定不均匀物质（如青贮饲料、草类或粪便）中的总固体时，测试样品的质量应介于 200 至 250 克，并置于浅盘中。根据上述方法将样品进行干燥并记录质量。测定挥发性固体含量时，应将干燥样品研磨至≤1 毫米。随后取一份代表性样品。再根据前述步骤，对该样品进行总固体/挥发性固体含量测定。

3.2 根据魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特 (Strubelt) 公式修正总固体含量 布里特·舒马赫 (Britt Schumacher), 德国生物质研究中心

现状

魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特 (2008a, 2008b, 2008c) 根据早期在饲料评价领域的研究试验 (魏斯巴赫与库拉 [Kuhla] 合著, 1995 年) 以及目前沼气领域的研究提出了用挥发性有机酸和醇修正青贮饲料总固体含量的方法。(姆肯格尔 [MUKENGELE] 与厄克斯纳 [OECHSNER], 2007) 的研究性试验表明, 如不对挥发性物质进行修正, 玉米青贮饲料的产甲烷潜能可能被高估 10%。

正在修订中的 VDI-4630 指南 (2006) 当前适用版本建议对挥发性酸进行修正 (根据 [DIN 38414-19 1999] 测定), 其中 10,000 mg/L 乙酸当量浓度相当于挥发性固体含量相对湿质量增加 1% 绝对值。此处还未考虑醇类物质。

可通过 GC (气相色谱法) 以及乳酸分析或 HPLC (高效液相色谱法) 测定修正所需的挥发性组分浓度 (参见第 4.1 和 4.2 章)。必须调整绿色作物青贮饲料的测试方法中的物质浓度, 该浓度大大高于消化器和/消化液内含量。需要对碳链长度为 C₂ 至 C₆ 的低级脂肪酸 (包括异构酸)、碳链长度为 C₁ 至 C₄ 的醇 (包括 1, 2-丙二醇和 2, 3-丁二醇) 以及乳酸进行测定 (魏斯巴赫, 2011)。由于发酵酸和醇类的规律与青贮条件紧密相关, 因此必须对所有干固体含量校正进行浓度测定 (巴纳曼 [BAHNEMANN], 2012)。

相关标准

无已知。

适用领域

第 3.1 章节“总固体含量和有机干物质含量的测定”中介绍的方法不考虑青贮饲料中含量不显著的有机酸和醇类等挥发性物质。该做法可能导致低估总固体含量, 从而高估沼气产量和/或沼气 (产气) 潜力 (VDI-4630 指南 2006), 并增加底物间比较难度。因此, 魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特在《Landtechnik》(农业技术) 杂志发表了一篇关于玉米青贮饲料 (魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特, 2008b)、牧草青贮饲料 (魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特, 2008a) 和甜菜青贮饲料 (魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特, 2008c) 总固体含量修正的文章。

作者伯格 (BERG) 与魏斯巴赫 (1976) 研究了玉米、牧草和甜菜青贮饲料的代表性样品集合中潜在挥发性物质的浓度, 以及在完成总固体含量测定后由此产生的干燥残留物中潜在挥发性物质的浓度。通过比较新鲜和干燥样品中测得的浓度, 作者得出关于相应化合物挥发速率的结论。该方法唯一不适用物质为乳酸, 因为乳酸盐在干燥过程中发生缩合反应 (生成内酯)。研究结合运用了前期检测中通过干馏青贮饲料样品测定的乳酸蒸气蒸发速率 (伯格与魏斯巴赫, 1976)。

测试采用水提取物, 比例均为每 200 毫升水 50 克新鲜青贮饲料。提取物中的低级脂肪酸和醇类均通过利用气相色谱/火焰离子检测器

(Shimadzu[岛津])以及毛细管柱,标准物为酸类(异己酸)和醇类(戊醇)。向提取物中添加甲酸,释放并测定低级脂肪酸含量。测定醇类之前,用氢氧化钠中和提取物中的发酵酸。

在采用气相色谱法的同时,测量提取物中的pH值和乳酸含量。乳酸测定采用对苯基酚,根据巴克(BARKER)与萨莫森(SUMMERSON)(1941)的比色法参照哈克(HAACKER)、布洛克(BLOCK)与魏斯巴赫(1983)描述的版本进行。上述所有方法均为Blgg Deutschland有限公司“农业和环境分析实验室”(AnalytiklaborsfürLandwirtschaftund Umwelt)(LübzerChaussee12, D-19370 Parchim)的内部方法,且符合该领域认证实验室标准(斯特鲁贝尔特,2013)。

表1概述了作者进行测试并用于推导挥发因子的青贮饲料中总固体含量以及总体潜在挥发性物质(低级脂肪酸、乳酸和醇类总和)比例的范围。该信息表明,青贮饲料中一部分总固体和/或挥发性固体含有常规总固体和挥发性固体含量测定中未检测到的潜在的挥发性发酵产物(第3.1章)。根据具体作物类型、品种、地区、气候和青贮操作情况不同,这些发酵产品的比例可能有很大差异,进而对TS测试结果产生较大的影响。各物质的挥发程度也各不相同。因此,需要通过修正总固体含量对其进行测定并将其纳入底物发酵等评估环节。

研究的必要性

魏斯巴赫和斯特鲁贝尔特提出的酸和醇的系数可以理解为在105℃下干燥时的挥发因子。挥发度取决于物质的温度和蒸汽压力。鉴于出版文献资料中没有针对挥发性的系统研究,因此应对所提出因子进行验证,特别是对于不同的干燥温度和持续时间以及由此产生的不同干燥特性(巴纳曼[BANEMANN],2012)。

除青贮饲料外,食品生产或其他工业部门的废弃物也可能含有挥发性物质,因此也有必要对这些对象的总固体含量分析方法进行修正,并根据魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特描述的方法选取代表性样品对每种物料进行分别的修正研究。

而对于水含量低、挥发性物质比例高的底物,可采用卡尔费休(Karl Fischer)法测定底物水含量,从而确定其包含挥发性组分的总固体含量,再减去灰分含量,得到修正后的挥发性固体含量。(魏斯巴赫,2011)认为,卡尔费休法可得出总固体含量值,由于含水量相对高,造成不准确。

表 1: 未校正总固体含量以及潜在挥发性发酵酸和醇总和范围(魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特, 2008a、2008b、2008c)

底物	未修正总固体含量(单位: $\text{g kg}^{-1}_{\text{ww}}$)			挥发酸和醇类(单位: $\text{g kg}^{-1}_{\text{ww}}$)		
	最低值	最高值	平均值	最低值	最高值	平均值
青贮玉米	224	492	337	12	49	33

青贮牧草	179	597	428	7	61	30
青贮甜菜	88	207	154	6	124	94

制备方法说明

魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特根据对总固体含量（亦称为干物质含量）、低级脂肪酸（第3.1和3.2章）、乳酸（第3.2章）、醇类以及部分pH值的测定提出了改进后的修正方程式。与第3.1章不同之处在于，总固体含量测定采用了魏斯巴赫方法。与标准饲料检测相同，首先在60至65℃条件下进行预干燥，随后在105℃下进行至少3小时的干燥，以测定总固体含量（TS含量）。

（魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特，2008b）建议对玉米青贮饲料的总固体含量做如下修正，所有数据单位为克每千克湿重：

$$TS_c = TS_n + 0.95 \text{ LFA} + 0.08 \text{ LA} + 0.77 \text{ PD} + 1.00 \text{ OA} [\text{g kg}^{-1}_{\text{ww}}] \quad (3)$$

- TS_c 修正后玉米青贮饲料总固体含量
 TS_n 玉米青贮饲料总固体含量
 LFA 低级脂肪酸总含量（C₂-C₆）
 LA 乳酸含量
 PD 1, 2-丙二醇含量
 OA 其他醇类总含量（C₂-C₄，包括2, 3-丁二醇）

所有与TS_n相关的信息（如灰分含量）必须在TS_c计算完成后通过乘以TS_n/TS_c所得商数进行修正。挥发性固体含量（VS）为修正后总固体含量和修正后灰分含量的差值。玉米的修正公式也可近似用于高粱和谷物青贮饲料（魏斯巴赫，2011）。

（魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特，2008a）根据二人进行的测试确定了用于修正**牧草青贮饲料**总固体含量的公式如下：

$$TS_c = TS_n + (1.05 - 0.059 \text{ pH}) \text{ LFA} + 0.08 \text{ LA} + 0.77 \text{ PD} + 0.87 \text{ BD} + 1.00 \text{ OA} [\text{g kg}^{-1}_{\text{ww}}] \quad (4)$$

- TS_c 修正后牧草青贮饲料总固体含量
 TS_n 牧草青贮饲料总固体含量
 pH pH值
 LFA 低级脂肪酸总含量（C₂-C₆）
 LA 乳酸含量
 PD 1, 2-丙二醇含量
 BD 2, 3-丁二醇含量
 OA 其他醇类总含量（C₂-C₄）

牧草青贮饲料修正方程还可用于三叶草、禾本科干草、苜蓿以及绿禾青贮饲料（魏斯巴赫，2011）。**甜菜青贮饲料**采用另一修正方程计算（魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特，2008c）：

$$TS_c = TS_n + 0.95 \text{ LFA} + 0.08 \text{ LA} + 1.00 \text{ AL} [\text{g kg}^{-1}_{\text{ww}}] \quad (5)$$

- TS_c 修正后甜菜青贮饲料总固体含量
TS_n 甜菜青贮饲料总固体含量
LFA 低级脂肪酸总含量 (C₂-C₆)
LA 乳酸含量
AL 所有醇类总含量 (C₁-C₄, 包括二醇)

此处的挥发率非测量值，系根据其他青贮饲料结果的估算值，因为可溶性果胶物质含量较高，无法进行干燥残留物中的气相色谱法测量。根据（魏斯巴赫，2011），对总固体含量高于魏斯巴赫所测试样品的甜菜青贮饲料也可使用该修正方程；该方程同样适用于青贮流出液。对于牧草和甜菜青贮饲料，灰分含量和挥发性固体含量的修正方法与玉米青贮饲料类似（魏斯巴赫与斯特鲁贝尔特，2008A、2008B、2008C）。

3.3 VOA 挥发性有机酸（卡氏滴定法）和 VOA/TIC 值（FAL 方法）测定

卡特琳·施特拉赫，迈克尔·迪特里希·泽亨多夫（Michael-Dittrich Zechendorf），德国生物质研究中心

现状	目前常规应用。
标准	卡氏滴定法测定 VOA（布邵尔，1998） FAL 方法测定 VOA/TIC（布尔夏德等人，2001）
适用领域	可用于液相能够通过离心分离的消化液和液体底物。前提条件为 pH 值 > 5。
缺点	无法分析 pH 值低于 5 的物质。固形物对 pH 值测定具有破坏性影响。
优势	与比色皿检测相比，该方法成本效益更好。
研究的必要性	例如，为实现对水解罐的消化液进行测量，还必须实现对 pH 值低于 5 的样品的测定。需研究是否可以在滴定之前调高 pH 值，例如蒸汽蒸馏等方法是否可行。

从技术角度看，卡氏滴定法测定 VOC 以及 FAL 方法测定 VOA/TIC 属于两种不同的方法，但能够在—个联合工作步骤中实现。两种方法根本上均为将离心样品的澄清液相用硫酸分阶段滴定至特定 pH 值。两个流程都在一个工作步骤中完成，并且对所有各阶段进行滴定；随后根据采用的具体计算硫酸使用量。

卡氏滴定法中，挥发性有机酸（VOA）浓度通过滴定进行测定。使用梅特勒-托利多（Mettler Toledo）Rondo 60/T90 型号自动滴定仪以及当量浓度 0.2N 硫酸，将样品分离后的澄清液相分阶段滴定至 pH 值 5、4.3 和 4.0。得出酸消耗量后，可计算 VOA 值（布邵尔，1998）。

设备与化学制剂

- 带 pH 计的滴定仪或滴定管
- 离心机
- 烧杯
- 移液器

根据以下方程式计算酸浓度：

$$VOA = 131\,340 \cdot (V_{pH4.00} - V_{pH5.00}) \cdot \frac{N_{H_2SO_4}}{V_{sample}} - 3.08 \cdot V_{pH4.30} \cdot \frac{K_{s4.3} [\text{mmol/L}] \cdot N_{H_2SO_4} \cdot 1000}{V_{sample}} - 10.9 \quad (6)$$

VOA	卡氏滴定法测得挥发性有机酸浓度	(mg/L)
$V_{pH4.00}$	pH = 4.00 时滴加酸的体积 (毫升)	(毫升)
$V_{pH4.30}$	pH = 4.30 时滴加酸的体积 (毫升)	(毫升)
$V_{pH5.00}$	pH = 5.00 时滴加酸的体积 (毫升)	(毫升)
V_{sample}	用于滴定的离心后的样品体积 (毫升)	(毫升)
$N_{H_2SO_4}$	酸的当量 (酸的水合氢离子的摩尔浓度) (mol/L)	(mol/L)
$K_{S4.3}$	碱度 4.3 [mmol/L] (DIN 38409-7 2005)	(mmol/L)

有效性领域

0 至 70mmol/L 的酸类 (0 至 4,203 mg_{HAc}/L)

氨氮在 400 至 10,000 mg/L 之间

采用 FAL 方法测定 VOA/TIC 需对样品澄清相滴定至 pH 值 5.0 和 4.4。之后通过以下方程进行评估:

$$VOA/TIC = \frac{\left((V_{pH4.4} - V_{pH5.0}) \cdot \frac{20}{V_{sample}} \cdot \frac{N_{acid}}{0.1} \cdot 1.66 - 0.5 \right) \cdot 500 \cdot V_{sample}}{0.5 \cdot N_{acid} \cdot V_{pH5.0} \cdot M_{CaCO_3} \cdot 1000} \quad (7)$$

VOA/TIC	挥发性有机酸与反应器中碳酸钙缓冲能力的关系	(g _{VOA} /g _{CaCO₃})
$V_{pH4.4}$	pH = 4.40 时滴加酸的体积	(毫升)
$V_{pH5.0}$	pH = 5.00 时滴加酸的体积	(毫升)
V_{sample}	提交的离心后样品体积	(毫升)
N_{acid}	酸的当量 (酸的水合氢离子的摩尔浓度)	(mol/L)
M_{CaCO_3}	碳酸钙摩尔质量, 100 g/mol	

执行方法

将样品在 10,000 × g 离心力和 10°C 条件下离心 10 分钟。分析时将离心产生的澄清液相提取后, 使用样品烧杯转移至自动滴定仪。根据预期的结果, 必须设定好所需 0.2N 硫酸的液滴大小, 以使滴定过程中不超出预设的 pH 值。开始滴定, 先后滴定至 pH 值 5.0、4.4、4.3 和 4.0, 记录相应的酸消耗量。根据上述方法计算相应的卡氏滴定法 VOA 值和/或 FAL 方法 VOA/TIC 值。

备注: FAL 方法的 VOA/TIC 测定与卡氏滴定法 VOA 测定之间无直接关联。由于 VOA 方法不同, 无法通过卡氏滴定法 VOA 测定计算 VOA/TIC。

3.4 氨氮含量的测定

卡特琳·施特拉赫 (Katrin Strach), 德国生物质研究中心

现状	目前常规应用。
标准	哈希 (HACH), DR 2000 分光光度计手册
适用领域	可用于能够通过离心得到液相的消化液和液态发酵原料。
缺点	固有颜色较明显的样品无法保证每次均能实现光度测定。pH 值 < 6 的样品必须将 pH 值提高至 6-7。产生的废弃物必须单独处理。必须使用哈希朗格有限公司 (Hach Lange GmbH) 的试剂。
优势	快速、简单。

总氨氮含量 (TAN) 测定根据纳氏原理进行, 使用碱性碘化汞钾 (II) $K_2[HgI_4]$ 纳氏试剂。试剂与氨产生红褐色的络合物 $[Hg_2N]I$, 即米隆碱的阳离子碘化物。借助该络合物可对氨氮进行光度测定。

设备与化学制剂

- 哈希 DR 2000 或哈希 DR 3900 光度计
- 样品离心后澄清相 (离心机)
- 矿物稳定剂 (哈希朗格有限公司)
- 聚乙烯醇 (哈希朗格有限公司)
- 纳氏试剂 (哈希朗格有限公司)

执行方法

在样品测定之前, 必须在 $10^{\circ}C$ 与 $10,000 \times g$ 离心力条件下对样品离心 10 分钟。离心后的上清液稀释到光度计测量范围 (各系统不同 [最常见为 1:1,000 或 1:2,000])。随后将 25 毫升稀释液置于比色皿中。在制备样品同时制备参比溶液 (25 毫升蒸馏水)。加入三滴矿物稳定剂, 三滴聚乙烯醇。测量即将开始前加入 1 毫升纳氏试剂。小心旋动样品进行混, 反应一分钟后测量样品。加入纳氏试剂后, 须在 5 分钟内对样品进行测量。

4 化学参数的测定方法

4.1 用全自动顶空进样气相色谱 (GC) 测定脂肪族、有机酸及苯甲醛组分的含量

马丁·阿佩尔特 (Martin Apelt), 德国生物质研究中心 (DBFZ)

本章节讨论的测定方法主要用于检测有机酸的含量, 其中包括乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、己酸及苯甲醛组分含量的检测。

本章节讨论的顶空气相色谱法适合用于测定复杂样品中挥发性组分的含量, 尤其适用于样品基质复杂的情况。为消除不同基质成分对分析结果的干扰, 顶空气相色谱法在样品溶液中加入适量 2-乙基丁酸, 作为内标物。由于在样品中添加有磷酸, 因此待测有机酸组分主要以未离解的分子形式存在, 并具有较高的挥发性。这就使得使用气相色谱测定上述几种酸的含量成为了可能。

借助气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS), 我们能够准确测定出各类样品中是否含有苯甲醛组分。因此气相色谱-质谱联用分析方法可满足常规检测苯甲醛的需要。

状态	这是尚未经过验证且仅在德国生物质研究中心内部使用的方法。当样品中基质成分种类或浓度发生变化时, 需要相应调整该测定法中的温度梯度。
相关标准	(王[WANG]等人, 2009); (哥特[GÖRTZ]与梅塞尔[MEISSAUER], 2003); (克鲁维[CRUWAYS]等人, 2002); 气相色谱法申请 ID 号: 15883 菲罗门 (Phenomenex)
该方法的应用领域	顶空气相色谱法可用于许多种样品基质的分析。德国生物质研究中心采用顶空气相色谱法测定样品中挥发性有机酸 (C ₂ 至 C ₆) 组分的含量, 其目的在于监控沼气研究领域中的各类发酵工艺或监测运行中的沼气工程。
底物/材料	检测来自沼气研究领域的消化液
该测定方法的局限性	顶空气相色谱仪通过在既定浓度范围内制备不同的校准溶液来完成仪器校准 (参见表 2)。 由于校准与检测范围宽广, 使用该测定方法可以在不对样品进行稀释的情况下分析几乎所有样品。有鉴于该测定方法在整个校准范围内不具有线性特征, 因此顶空气相色谱仪针对不同的浓度范围特设了两项不同的校准功能。这两项功能所适用的浓度范围存在相互交叠的现象。通过采取上述手段, 该测定方法能够在其所宣称的校准范围内实现特定样品组分的精准测定 (如表 2 所示)。当样本接近最低检出限时, 由于样品的不均匀性和基质效应, 检测结果可能会出现较大波动。
优势	由于样品制备与分析测量简单易行, 顶空气相色谱技术是一种可有效应用于过程中控制的高通量样品分析技术。由于在样本制备过程中较少使

用其他化学制品,因此该测定方法具有价廉物美的特点。顶空气相色谱技术中对样本进行分析所需的操作时间较短,能够满足试验研究中密集测试的需要,在不同的地区都具有实用性。

研究的必要性

为及早识别沼气工程和发酵试验中发生的故障,未来我们还有必要对消化液中的其他组分进行定性与定量测定。尽管顶空气相色谱技术通过测定挥发性有机酸(C₂至C₆)组分的含量来检测发酵进程的重要指标,扩大分析的检测范围将有助开发提高沼气产量的措施,帮助操作人员及早发现问题。

值得一提的是,得益于顶空气相色谱技术的近期发展,发现色谱图中反复出现的一种未知峰,即苯甲醛的色谱峰。因此截至目前,除常见酸谱之外,顶空气相色谱技术还可用于常规检测苯甲醛的含量。苯甲醛对不同发酵工艺的影响还有待进一步研究。

试剂

- 内标物(ISTD): 184 mg/L
- 磷酸(H₃PO₄, 经过 1:4 比例稀释)

设备与辅助设备

- 20 毫升顶空样品瓶
- 瓶盖
- (电动)压接工具
- 5 毫升移液管
- 1 毫升移液管

样本制备

气相色谱分析法需对每个样品溶液重复测定三次。因此,需为每个样品准备 3 个顶空样品瓶。在样品测定之前,必须在 10°C 温度与 10,000 转/分钟(rpm)转速的条件下对样品离心处理 10 分钟。

必要时,在离心后,还可使用筛孔尺寸约为 1 毫米的筛网滤过样品,进一步去除颗粒组分。

尽管原则上可对样品进行稀释,但操作人员需时刻留意并确保待测分析物的浓度始终维持在本测定方法的校准范围之内。

对于经上述步骤所得的样品溶液,用移液管分别量取 5 毫升的样品溶液,转移至三个顶空样品瓶中(确保每个顶空样品瓶中均有 5 毫升样品溶液)。此后,在顶空样品瓶中滴加 1 毫升内标物和 1 毫升磷酸(经 1:4 比例稀释的)。在样品中滴加磷酸后,必须立即用合适的瓶盖对样品瓶进行加盖,然后用电动压盖器对样品瓶进行封盖。

校准

仪器的校准需要多种校准溶液,并参照下列浓度范围:

表 2: 校准液

分析指标	校准范围 [mg/L]	保留时间 [min]	最低检出限 [LOD] [mg/L]	最低定量限 [LOQ] [mg/L]
乙酸	5.223–15669.000	6.0	2.819	8.405
丙酸	1.980–5940.000	7.2	1.07	3.189
异丁酸	0.948–2844.000	7.7	0.372	1.176
丁酸	1.920–5760.000	9.0	0.845	2.489
异戊酸	0.930–2790.000	10.1	0.389	1.218
戊酸	0.940–2820.000	12.6	0.626	2.018
己酸	0.465–1395.000	15.5	0.205	0.62
2-乙基丁酸（内标物）	–	13.5	–	–

分析

为计算检测的实际浓度，对每一个指标需一个标准曲线，用于对照和分析内标物。

设备参数

表 3: 气相色谱仪的技术规格（气相色谱仪主机为安捷伦[Agilent] 7980A）

进样系统	-	分流/不分流进样口		
检测器	-	FID 氢火焰检测器		
载气	-	氮气		
色谱柱	-	ZB-FFAP（菲罗门[Phenomenex]）或等效产品		
色谱柱长度	米	30		
色谱柱直径	毫米	0.32		
覆膜厚度	[微米]	0.25		
流量 恒定流量	mL/min	总流量：8.5 隔垫吹扫流量：3 分流：0.5		
色谱柱温控程序		升温速度 [°C/min]	目标温度[°C]	保留时间[分钟]
		启动	40	0
		10	100	8
		30	150	1
120	240	2		
测量时间	分钟	19.417		
分流比	-	0.1:1		
进样口温度	°C	220 °C		

检测器设置	加热	260 °C
	氢气流量	45 mL/min
	空气流量	400 mL/min
	尾吹气流	25 mL/min
	信号	10Hz/0.02min

表 4: 顶空进样系统的技术规格 (主机为美国铂金埃尔默 Turbo Matrix 110)

温度[°C]	进样针	95
	移液管	110
	加热炉	85
压力[磅/平方英寸, psi]	载气流量	32.0
	样品瓶	32.0
时间[分钟]	压力积聚时间	4.0
	进样时间	0.10
	保留时间	0.5
	恒温时间	32.0
	循环时间	22.0
	两次进样之间的间隔时间	24.0
其他设置	高压进样	开
	样品瓶通风口	开
	振动筛	开
	进料方法	时间
	操作方法	恒定
	进样个数	1
输送管	-	停用 内径: 0.32 毫米

离子流色谱图

FID1 A, FID1A, Front Signal (2013\01_JAN\21_JAN_KALIBRIERUNG 2013-01-21 08-59-23\21 JAN0000057.D)

FID1 A, FID1A, Front Signal (2013\01_JAN\21_JAN_KALIBRIERUNGBENZALDEHYD 2013-01-23 13-19-57\23JAN0000048.D)

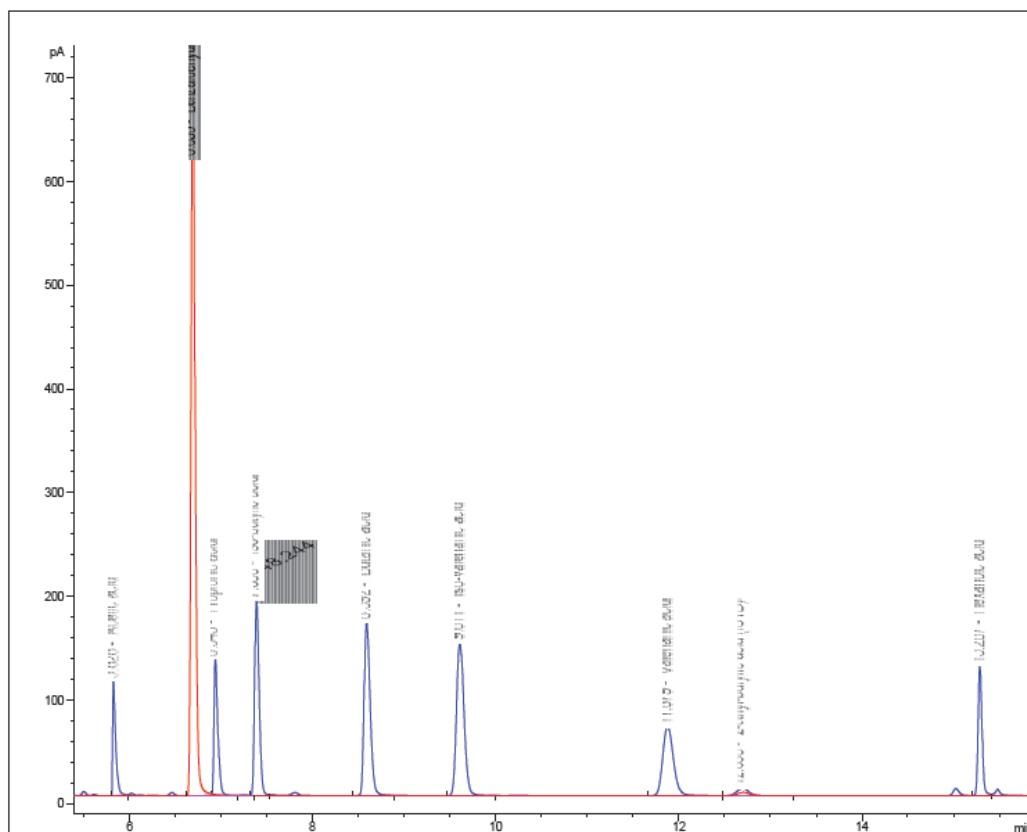


图 1: 标准溶液混合物 (C₂ 至 C₆) 与单标苯甲醛的样品色谱图

4.2 有机酸组分的测定

露西·默勒 (Lucie Moeller), 卡蒂·戈驰 (Kati Görsch), 莱比锡亥姆霍兹环境研究中心 (UFZ); 迪特马尔·拉姆霍德 (Dietmar Ramhold), ISF 绍曼研究中心 (ISF Schaumann Forschung mbH); 埃里希·基尔霍恩 (Erich Kielhorn), 柏林工业大学 (TU Berlin)

状态	使用离子色谱法与高效液相色谱法测定有机酸组分的含量是通用的标准标准。
相关标准	气相色谱法
该方法的应用领域	底物/材料: 不受限制
检测范围	1–1,000 mg/L
缺点与不足	使用此种色谱技术检测样品组分与含量时, 必须对样品进行预处理, 以确保样品中不含悬浮物或腐殖质。此外, 在样品预处理过程中也有可能需要借助卡瑞 (Carrez) 试剂澄清法处理样本。
研究的必要性	成熟方法, 无需开展开发研究。

一个值得思考的问题是: 我们是否能够通过测定挥发性有机酸 (乙酸、丙酸、丁酸、戊酸等) 组分的含量来判定沼气发酵罐中生物群落被破坏的程度? 有机物在分解后会产生前述挥发性有机酸。这类有机酸可作为中间产物, 在甲烷生产过程中发挥作用。它们可以在产甲烷作用未受干扰的作业环境中立即被转化为甲烷。因此, 挥发性有机酸在发酵液中的富集意味着有机物分解反应链的中断 (罗斯 [ROSS] 与埃利斯 [ELLIS], 1992)。在沼气生产过程中, 通常采用气相色谱技术来检测样品中是否存在挥发性有机酸。此外, 也可同时使用离子色谱 (IC) 法和高效液相色谱 (HPLC) 来检测样品中挥发性有机酸的存在。

样品的处理

将样品溶液转移至 50 毫升离心管内, 然后在 20 °C 温度与 5,300 rpm 转速条件下离心 20 分钟 (设备: 美国贝克曼 [Beckman] 公司生产的 Avanti 30 离心机)。离心后, 首先使用筛孔尺寸为 0.75 毫米的筛网滤过上清液, 然后再用压力过滤装置 (设备: 赛多利斯 [Sartorius] 公司 SM 16249 过滤器) 进一步滤过所得溶液, 以完全去除溶液中的干扰性纤维和蛋白质。该过滤装置配有一个筛板、一个带孔金属板和一个尼龙膜过滤器 (孔径为 0.45 微米, 直径为 47 毫米, 沃特曼 [Whatman] 公司或颇尔 [Pall] 公司产品), 并用硅胶密封圈进行防水密封。在完成该过滤装置的闭锁和密封后, 对该装置施以 5bar 的压力, 并在其下方放置一个接液瓶, 用以接收滤液。通常每滤过 7–8 毫升的离心上清液, 就能够在接液瓶中获得约 5 毫升的澄清滤液。之后, 再参照预期的和/或假设的酸浓度, 用重蒸水稀释所得滤液, 并运用高效液相色谱 (HPLC) 技术和/或离子色谱 (IC) 技术进行定性与定量分析。

替代方案:

为避免出现因色谱柱污染所致的异常现象或故障, 可采用卡瑞 (Carrez) 试剂对样品做净化澄清处理。为此, 需将 1 毫升离心液与 200 微升卡瑞溶液 I 混合并剧烈振摇 (使用涡旋混合器)。卡瑞溶液 I 通过将 15 克六氰基铁酸钾 $K_4(Fe(CN)_6) \times 3 H_2O$ 溶解在 100 毫升蒸馏水中而制得。经 2 至 5 分钟振摇后, 滴加 200 微升卡瑞溶液 II 并再次以剧烈振摇方式进行混合。卡瑞溶液 II 通过将 23 克氯化锌溶解在

100 毫升蒸馏水中而制得（提示：可采用 70°C 水浴加热法加速其溶解速度）。之后，将振摇后混合物在 10,000×g 转速条件下离心 10 分钟。然后使用孔径为 0.2 微米的过滤器滤过所得离心液。该离心液需在开展下一步分析操作之前进行相应倍数的稀释。

上述步骤中使用的卡瑞溶液 II 亦可用硫酸锌溶液代替。但考虑到硫酸锌的反应活性低于氯化锌，因此完成样品净化澄清处理所需溶液的量更大。

分析过程

离子色谱-抑制型电导检测法

戴安公司（Dionex）的 DX600 离子色谱仪由 GP502 四元梯度泵、EG40 淋洗液发生器、AS50 自动进样器（用于 1.5 毫升样品瓶）、CD25a 电导检测器（带自动再生抑制器）及 IonPac® AS11-HC 分析柱（带 AG 11-HC 保护柱，两柱直径均为 4 毫米）组成。该离子色谱仪安装有 Chromeleon6.5 色谱软件。在确定系统操作参数时，可参考戴安公司关于氧代羧酸（及甄选阴离子）分离与测定的建议（参见表 5）。样品色谱图样图如图 2 所示。

表 5：离子色谱法中分离参数的设定

色谱柱	IonPac® AS 11-HC 色谱柱	
流速	1.5 mL/min	
温度	30°C	
进样量	10 微升	
洗脱液	氢氧化钠	
	0-8 分钟：	等度洗脱 1mM
	8-28 分钟：	呈线性关系至 30mM
	28-38 分钟：	呈线性关系至 60nM
	38-39 分钟：	等度洗脱 60mM
	39-40 分钟：	呈线性关系至 1mM

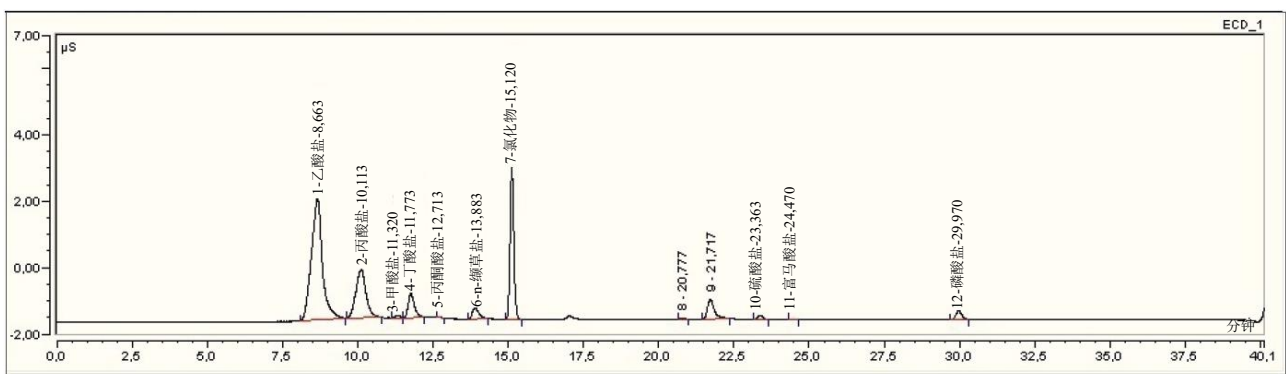


图 2：使用离子色谱技术测定挥发性有机酸组分的色谱图

高效液相色谱（HPLC）

岛津（Shimadzu）高效液相色谱仪由 DGU14A 脱气机、LC10AT 泵、SIL10A 自动注射器、CTO10AC

柱箱及 RID10A 检测器组成，通过 CBM10A 通信模块实现对各个组件的控制。在柱箱中将 VA 300/7.8 Nucleogel Ion-300 OA 色谱柱（德国 MN 公司[Macherey-Nagel]，规格为 4×250 毫米；保护柱为 REF 719537）加热至 70 °C。作为流动相的溶剂（0.01N 的硫酸）以 400 μL/min 的速率运载已注入样品（10 微升）流经整个系统。系统通过测量折射率进行检测（设备：岛津公司 RID10A 示差折光监测器）。该高效液相色谱仪安装有 CLASS-LC10 软件。

该高效液相色谱仪的外标物采用浓度为 28.5 至 285 mg/L 的相应盐溶液。同时根据表 6 中列示的参数完成酸的分离。样品色谱图样图如图 3 所示。

表 6：高效液相色谱（HPLC）中的分离参数

色谱柱	VA 300/7.8 Nucleogel Ion 300 OA 液相色谱柱
流速	400 μL/min
进样量	10 微升
洗脱液	0.01N 的硫酸（等度洗脱）

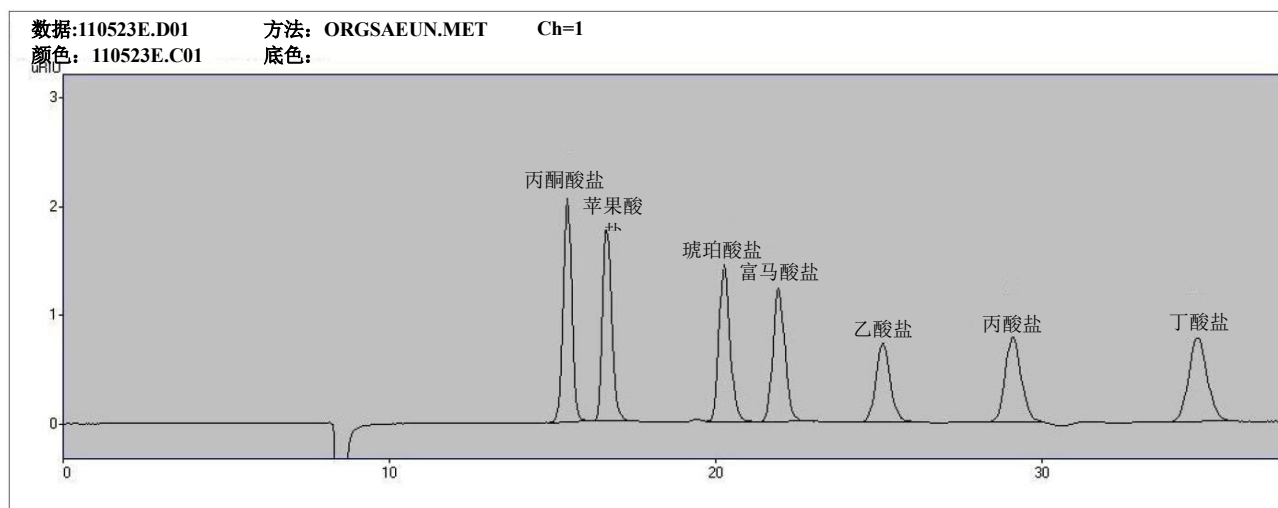


图 3：使用高效液相色谱技术测定挥发性有机酸组分的色谱图（资料来源：UFZ）

4.3 醛、醇、酮、挥发性脂肪酸等组分含量的测定

埃里希·基尔霍恩, 彼得·纽鲍尔 (Peter Neubauer), 斯特凡·郡奈 (Stefan Junne), 柏林工业大学

状态	该方法主要涉及对沼气厌氧发酵样品的处理与气相色谱分析技术。
该方法的应用领域	使用不含固体的液体样品, 即通常使用样品的离心液或滤液, 因为用此种测定方法旨在测定细胞外代谢物的浓度, 即溶解在液体中部分。
优势	使用此方法时, 胞外代谢物浓度的最低定量限可达约 1 mg/L。 此方法在制备与分析阶段无需大量人力物力投入。同时, 在制备过程还可确保样品能达一定纯净度, 因而可有效减少色谱柱的性能损失。该测定方法的一项主要优势在于其高灵敏度和高分离效率, 因此即使对于代谢物组分含量极低的样品也可进行重复定量测定。
研究的必要性	此方法无法明确识别用色谱技术分离的所有物质或代谢物。 因此, 需要另行研究方能够确定这些物质是否可用于过程状态的描述。

样本制备

为获得适用于气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 分析法的无水样品, 需采用氯仿法从发酵液中抽提代谢物, 经氯甲酸甲酯 (MCF) 衍生后, 再将所得代谢物转移至溶剂相。为更好实现各相间的分离, 还需在样品中加入甲醇和碳酸氢钠溶液 (NaHCO_3)。此测定方法的内标物可使用 1-丙醇溶液。

首先, 在 4°C 温度与 $9,500 \times \text{g}$ 转速条件下将样品离心 10 分钟。然后将 200 微升上清液转移至一支艾本德 (Eppendorf) 离心管中, 并与 10 微升的 1-丙醇溶液混合 (此 1-丙醇溶液作为内标物使用, 且已用蒸馏水进行稀释, 稀释比例为 1:50)。然后, 再在其中滴加 167 微升甲醇和 34 毫升吡啶。之后, 再滴加 20 微升氯甲酸甲酯, 以启动衍生化进程。将混合物以剧烈振摇方式混合 30 秒 (使用涡旋混合器)。此后, 再次向混合物中滴加 20 微升氯甲酸甲酯并再次混合 30 秒。

向上步所得混合物中加入 400 微升氯仿, 以便从试剂混合物中抽提出代谢物及其衍生物。然后将乳液剧烈振摇混合 10 秒。为更好实现各相间的分离, 向乳液中滴加 400 微升 50 毫摩尔的碳酸氢钠溶液, 然后混合 10 秒钟。

将所得氯仿相 (管底液相) 用巴斯德吸管小心转移至微量离心管 (1.5 毫升) 中。使用放置在管中的分子筛珠, 去除样本中残留的水分。

等待 1 分钟后, 将样品转移至气相色谱样品瓶中。在测量之前, 将样品放置在 -20°C 的温度下贮存。

材料与设备

样品制备用材料与设备

- 1-丙醇 $\geq 99.7\%$ (西格玛-奥德里奇 [Sigma-Aldrich] 公司) # 279544
- 甲醇 $\geq 99.9\%$ (卡尔-罗斯 [Carl Roth] 公司) # AE01.1
- 吡啶 $\geq 99\%$ (卡尔-罗斯有限公司) # CP07.1
- 氯甲酸甲酯 (MCF, 奥德里奇公司) # M35304
- 氯仿 (奥德里奇公司) # 528730
- 碳酸氢钠 $\geq 99.5\%$ (NaHCO_3 , 卡尔-罗斯有限公司) # 6885.1

- 分子筛 5Å (卡尔-罗斯公司) # 8475.1
- 1.5mL 的棕色螺纹气相色谱样品瓶 (费舍尔[Fischer]公司) # 1072-8684
- 50 微升进样针, 用于 1.5 毫升螺纹瓶 (费舍尔公司), # 1024-4612
- 微量内插管用弹簧 (费舍尔公司) # 320 55 76
- 8 毫米硅胶涂层橡胶隔膜 (费舍尔公司) # 3146116
- 螺纹瓶用螺旋盖, (卡尔-罗斯公司) # 161.1
- 巴斯德吸管 (卡尔-罗斯有限公司) # 4518

分析用材料与设备

气相色谱-质谱仪 (安捷伦科技有限公司, 位于德国瓦尔德布龙[参见图 4]), 由以下部分组成:

- GC 7890A 气相色谱仪
- MSD 5975G 质谱仪

分析用分离柱: FactorFour VF-624ms (安捷伦科技有限公司, 位于德国瓦尔德布龙) #CP9104

- 涂层: 6%氰丙基/苯基, 94%二甲基聚硅氧烷
- 长度: 30 米, 内径: 0.32 毫米
- 覆膜: 1.8 微米
- 温度限值: -40 °C 至 300 °C

载气: 氦气



图 4: 气相色谱-质谱仪 (安捷伦科技有限公司, 位于德国瓦尔德布龙)

执行方法

进样室温度为 150 °C; 检测室温度为 280 °C。分析开始时, 色谱柱温度为 40 °C。注入样品后, 温度以每分钟 4 °C 的增幅不断升高, 直至最终达到 150 °C, 然后在此温度下保持 15 分钟。随后, 以 5 °C/min 的增幅升温, 直至最终温度达 180 °C 并在该温度下继续保持 5 分钟。然后以 1:20 的分流比例注射 1 微升样品进样 (最终样品体积为 0.05 微升)。

研究结果:

借助质谱数据库 (例如“美国国家标准与技术研究所[NIST]谱库”) 完成物质的鉴定; 同时根据先前绘制的校准曲线完成定量测定。通过计算色谱图上得到的峰面积, 可以测定出相关组分的含量 (参见图 5)。

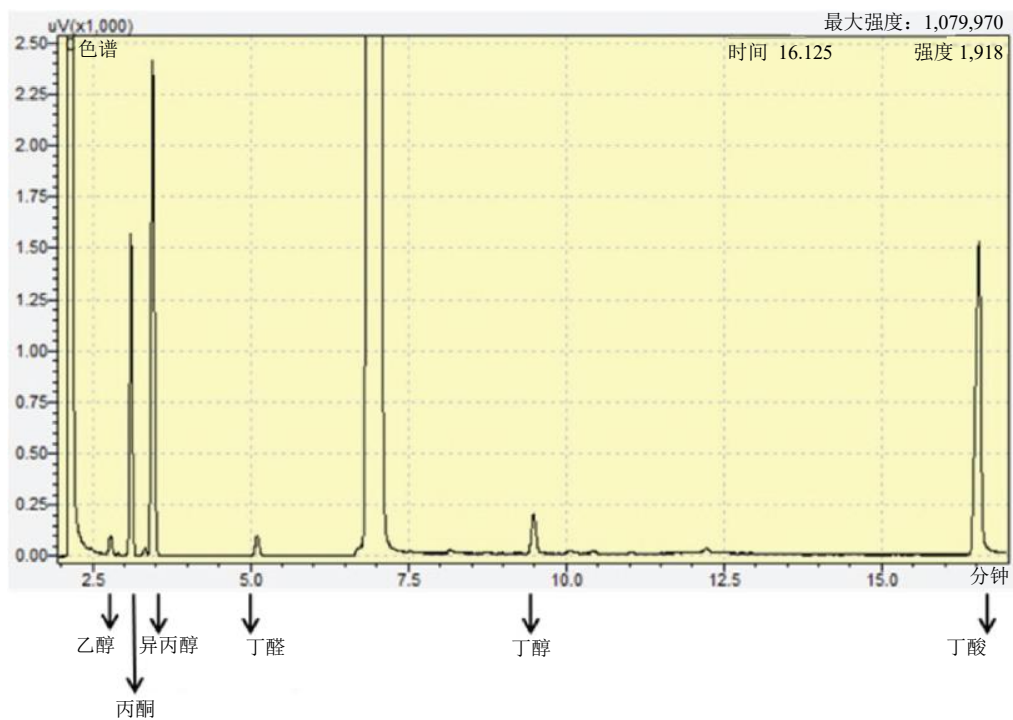


图 5: 样品色谱图, 醛、醇、酮及挥发性脂肪酸等组分含量的测定

4.4 用高效液相色谱技术测定固体（底物）与消化液样品中脂肪、芳香酸、醇及醛等组分的含量

马丁·阿佩尔特（Martin Apelt），德国生物质研究中心（DBFZ）

借助本章节中描述的方法，可以测定单个样品中各种分析物的含量，如表7所示：

表7：组分清单

脂肪酸	芳香酸	醇类	醛类
乳酸 乙酸 丙酸 异丁酸 丁酸 异戊酸 戊酸	苯乙酸 苯甲酸	乙醇 1-丙醇 1,2-丙二醇	糠醛 5-（羟甲基）糠醛 （5-HMF）

状态：	这是尚未经过验证且仅在德国生物质研究中心内部使用的方法。
相关标准	（赫克特[HECHT]，2010）；高效液相色谱申请 ID 号：安捷伦 SI-01153； （德国农业调查与研究部署协会[VDLUFA]，1988）
该方法的应用领域	由于大量基质成分的干扰不会对分析结果产生影响，该测定方法可用于检测各类基质。德国生物质研究中心采用该色谱技术测定上述组分的目的在于实现沼气研究领域各类发酵工艺的过程控制，或监测业已投入运行的沼气工程。此外，还可使用该测定方法检测发酵工艺中不同类型的底物。
底物/材料	检测来自沼气研究领域的消化液。针对不同的工艺使用不同的固体样品（底物）。
该测定方法的局限性	<p>由于所用仪器的校准范围各不相同，因此该测定方法具有一定局限性（参见表8）。表8：由于校准与检测范围宽广，因此使用该测定方法可以在不对样品进行稀释的情况下分析几乎所有样品。</p> <p>除了苯乙酸与苯甲酸之外，该测定方法在整个校准范围内为非线性，因此针对其他浓度范围重叠的分析物特别设置了两项浓度范围内的校准功能。通过采取上述手段，该测定方法能够在上述校准范围内实现特定样品组分的精准测定。</p> <p>在对苯乙酸组分含量的测定中，由于会存在苯乙酸与己酸两个组分的共洗脱现象，因此还需使用顶空气相色谱技术对样品另外开展分析。如果顶空气相色谱仪处的己酸浓度低于高效液相色谱仪的最低检出限（LOD），则相应峰形为苯乙酸。然而，如果在顶空气相色谱仪中检测出高于高效液相色谱仪最低检出限的己酸浓度，则需对样品进行稀释，且须选择恰当的</p>

优势	稀释度，以确保稀释后的己酸浓度低于高效液相色谱仪的最低出限。 该测定方法的特点在于样品制备与分析测量简单易行，可有效应用于具有高通量样品的过程控制。该方法的特别优势是可测定乳酸、芳香酸、低级醇及醛含量。由于在样本制备过程中较少使用其他化学制品，因此该测定方法具有较好的成本效益。
研究的必要性	为及早识别沼气工程和发酵过程中的故障，未来还有必要对消化液中的其他组分进行定性与定量测定。尽管通过上述测定方法可以检测发酵进程的重要指标，扩大分析物范围将有助提高沼气产量，同时及早发现问题。经进一步优化后，此测定方法将有可能实现对各种糖及其分解产物的测定和对己酸和苯乙酸的分离。

试剂

- 5mM 硫酸
- 蒸馏水

设备与辅助设备

- 1.5 毫升高效液相色谱样品瓶，配有螺帽与 0.5 毫升微量内插管
- 1.5 毫升塑料离心管
- 1.5 毫升塑料离心管，配有 0.2 微米滤芯
- 高效液相色谱仪，配有示差折光检测器（RID）和二极阵列检测器（DAD）
- 振动筛
- 超声波浴

样本制备

使用此测定方法时需对每个样品至少重复测定两次。在对底物进行测定时，必须为每种底物制备至少两份完整洗脱液。

a) 固体样品（底物）组分与含量的测定：

需首先称量 5 克底物，在振动筛上用 50 毫升蒸馏水洗脱 24 小时。然后将洗脱液经筛网滤过后转移至带有螺帽的小号塑料管中。

b) 消化液样品（例如发酵罐样品）组分与含量的测定：

在样品测定之前，可能需要在 10°C 温度与 10,000 转/分钟转速的条件下对样品离心处理 10 分钟。必要时，在离心后，可使用筛孔尺寸约为 1 毫米的筛网滤过样品溶液，以去除溶液中的粗基质组分。

作为双重测定，将 500 μ L 上述步骤 a) 或 b) 中的滤液吸移到一个装有 0.20 μ m 滤膜的艾本德(Eppendorf) 离心管中，并在 10°C 和 15,000 rpm 条件下离心 10 分钟。然后用移液管将滤液从上述离心管中转移至 1.5 毫升的高效液相色谱样品瓶中并妥善密封。如无法完成上述操作，则必须使用高效液相色谱样品瓶专用的进样针。

校准

必须为每组物质准备单独的校准溶液。通过此种做法，在测定脂族酸含量时，有可能将己酸组分的含量错误地计入苯乙酸含量的测定结果。对于乳酸含量的校准，在称量并加入乳酸钠后，可采用公式完成向乳酸的转化计算。各个分析物的校准范围可参考后文：

分析

此测定方法采用外标物校准溶液来完成对各个分析物的定量测定。对于所有酸类与醇类含量的测定，均对照示差折光检测器（RID）所提供的色谱图开展分析。

此外，根据样品浓度的不同，还必须在检测器波长为 280 纳米处用示差折光检测器（RID）或二极管阵列检测器（DAD）分析醛的含量。示差折光检测器可测量极高浓度的醛，但其检测灵敏度较差。因此，对于浓度较低的醛类，应使用二极管阵列检测器开展测定。在使用二极管阵列检测器时需注意的是，此检测仪会在醛类浓度较高情况下发生超载现象。示差折光检测器与二极管阵列检测器的相关限值查阅表 8。

表 8：仪器校准方法

图 6 中标 识号	分析物	检测系 统	校准范围 [mg/L]	保留时间 [min]	最低检 出限 ¹ [mg/mL]	最低定量 限 ² [mg/mL]
1	乳酸	示差折 光检测 器	2.35–7064.44	15.9	0.47	1.55
2	乙酸	示差折 光检测 器	5.22–15669.00	18.4	1.46	4.72
3	1,2-丙二醇	示差折 光检测 器	5.18–1554.00	20.7	1.80	6.19
4	丙酸	示差折 光检测 器	1.98–5940.00	21.8	0.64	2.04
5	异丁酸	示差折 光检测 器	0.95–2844.00	25.1	0.41	1.28
6	乙醇	示差折 光检测 器	1.97–5920.50	25.9	1.11	3.37
7	丁酸	示差折 光检测 器	1.92–5760.00	26.9	0.39	1.28
8	异戊酸	示差折 光检测 器	1.86–2790.00	31.6	1.12	2.84

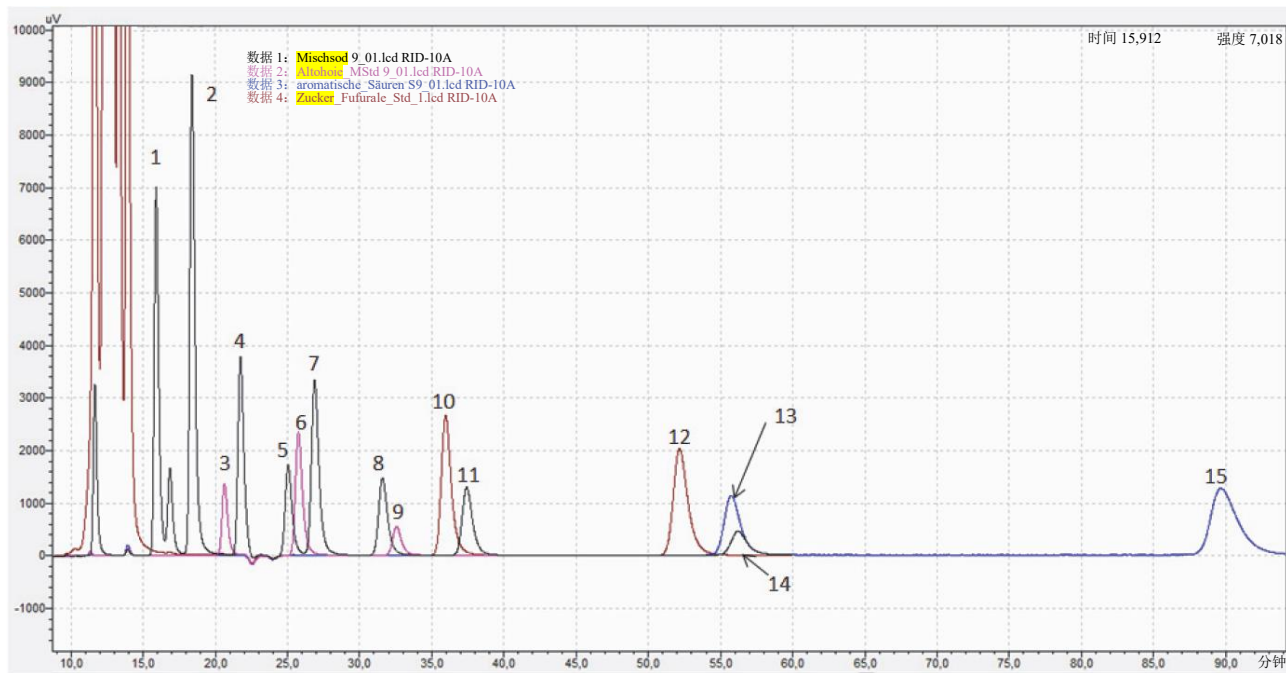
9	1-丙醇	示差折光检测器	4.02–1205.25	32.7	2.65	9.15
	5-羟甲基糠醛	二极管阵列检测器 280 纳米	2.20–220.00	35.7	1.48	5.19
10	5-羟甲基糠醛	示差折光检测器	11.00–2200.00	36.0	9.76	34.41
11	戊酸	示差折光检测器	1.88–2820.00	37.5	0.73	2.02
	糠醛	二极管阵列检测器 280 纳米	2.75–275.00	52.0	2.71	10.90
12	糠醛	示差折光检测器	13.75–2750.00	52.2	10.81	37.72
13	苯乙酸	示差折光检测器	14.24–1424.00	55.8	0.11	0.36
14	己酸	示差折光检测器	仅用于鉴别	56.3	2.78	9.65
15	苯甲酸	示差折光检测器	25.04–2504.00	89.9	4.08	14.24

¹最低检出限²最低定量限

设备参数

表 9：高效液相色谱仪的设置（岛津公司）

洗脱液	使用 5 毫摩尔硫酸进行等度洗脱	气象色谱柱	Hiplex H
检测系统	示差折光检测器 二极管阵列检测器（适用于在检测器波长为 280 纳米处 5-羟甲基糠醛与糠醛的检测）	色谱柱规格	300×7.7 毫米 8 微米
流量	0.6 mL/min	保护柱	50 × 7.7 毫米
柱温	60 °C	测量时间	95 分钟
自动进样系统	4 °C	进样量	20 微升



1. 乳酸	4. 丙酸	7. 丁酸	10. 5-羟甲基糠醛	13. 苯乙酸
2. 乙酸	5. 异丁酸	8. 异缬草酸	11. 戊酸	14. 己酸
3. 1,2-丙二醇	6. 乙醇	9. 1-丙醇	12. 糠醛	15. 苯甲酸

图 6: 在示差折光检测器上使用的所有标准混合溶液样品色谱图

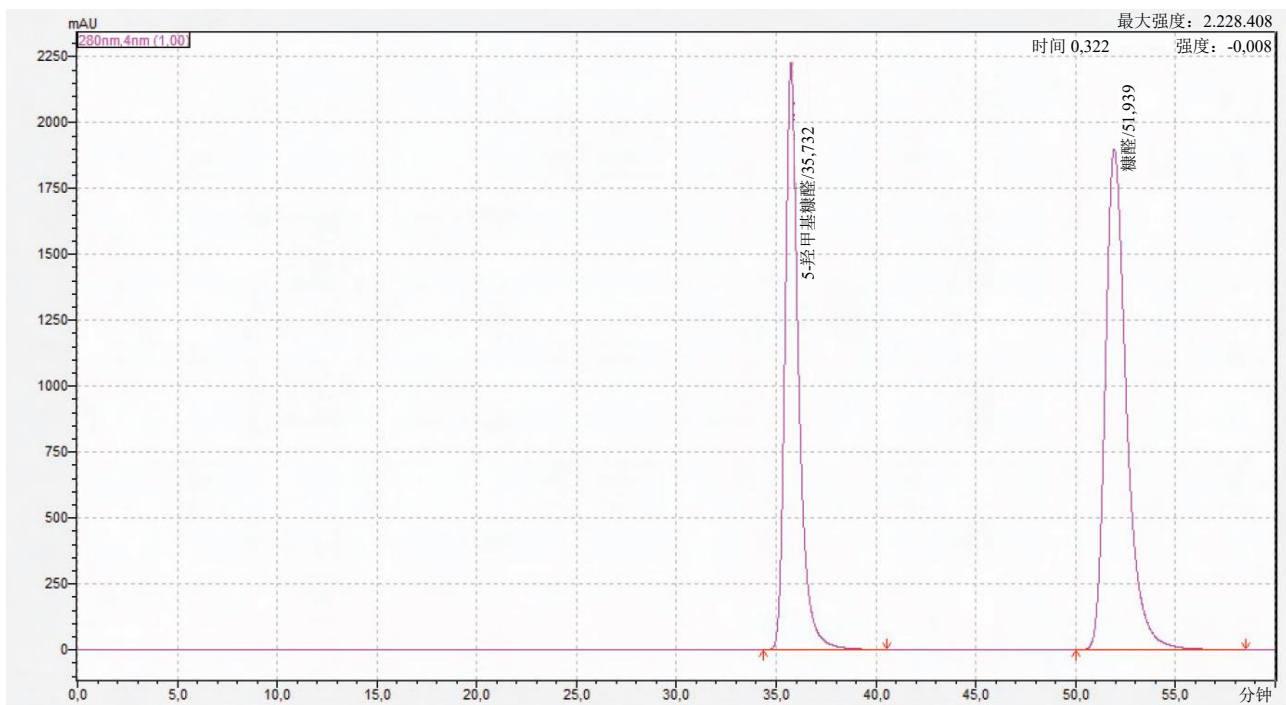


图 7: 在检测器波长为 280 纳米处 5-羟甲基糠醛与糠醛的样品色谱图

4.5 糖分与葡萄糖降解产物的测定

亚娜·米伦贝格 (Jana Mühlenberg), 德国生物质研究中心

除其他参数之外, 糖分含量也可用作底物发酵能力的一项特征参数。在一些样品的检测过程中, 常使用二硝基水杨酸 (DNA) 比色法测定还原糖的含量。但是该比色法测得的样品总糖含量往往偏高, 甚至远远高于采用高效液相色谱 (HPLC) 技术测定的所有单个糖分含量的总和。导致这一现象产生的原因是二硝基水杨酸会与所有具有还原性官能团的分子 (例如各种醛类) 发生非特异性反应。有鉴于此, 本章节将重点阐述可用于测定各类单糖、二糖、糖醇及其潜在分解产物的方法, 这些单糖包括 D-(+)-葡萄糖、D-(+)-木糖、L-(-)-半乳糖、L-(+)-阿拉伯糖、甘露糖及 D-(-)-果糖; 二糖包括蔗糖; 糖醇包括甘油、木糖醇及 D-(-)-山梨糖醇。即便样品不含糖, 这些潜在分解产物也会在二硝基水杨酸比色法测定过程中导致阳性结果。

状态	此方法至今尚未通过最终验证。使用此测定方法时, 基质变化会对分析结果产生干扰。因此, 该测定方法现仍处于进一步调整完善阶段。
相关标准	德国农业调查与研究部署协会《方法手册》第三卷-样品制备; 安捷伦公司高效液相色谱技术的应用; 关于高效液相色谱仪参数的补充文献: (JOURDIER et al., 2012; KORAKLI et al., 2000)
该方法的应用领域	此测定方法适用于各类底物中单糖、二糖及糖醇含量的测定。同样可用于检测沼气发酵罐中内容物的组分与含量。
底物/材料	该测定方法既可检测来自沼气研究领域的底物, 又可分析来自其他生物质利用过程的样品 (例如生物质的水热液化过程)。
该测定方法的局限性	该测定方法所用色谱仪可能会出现不同物质色谱峰重叠的情况, 具体视样品基质成分与含量的不同而异。由于检测所用的高效液相色谱柱只能用水作洗脱液, 且柱温被限制在 80 °C 以下, 此测定方法的应用缺少灵活性。此外, 甘露糖组分与果糖组分也未能实现基线分离, 但仍可开展分析。
优势	此测定方法能够在一次分析实验中同时检测糖与分解产物。样品制备仅限于稀释与过滤, 是一项快速简便的分析技术。此外相比其他洗脱液, 使用水作为洗脱液不仅有利于环保, 而且经济性好。
研究的必要性	在未来开发中, 可考虑将此方法纳入与沼气工艺相关的其他分解产物的含量测定, 以便分析人员能够从单次测定中获得更多有用信息。此测定方法的检测时间为 90 分钟, 相对较长。但随着色谱柱材料的不断发展, 未来仍存在缩短分析周期的可能。不仅如此, 通过样品预处理来减少分析过程中基质效应的干扰, 也可能有助于此测定方法的改进。此外还应努力建立行之有效的内标物体系。

试剂

微孔水

设备与辅助设备

- 1.5 毫升高效液相色谱样品瓶，配有螺帽与 0.5 毫升微量内插管
- 1.5 毫升塑料离心管，配有 0.2 微米滤芯
- 1.5 毫升塑料离心管

设备参数

此测定方法使用安捷伦公司的高效液相色谱仪开展分析。安捷伦 1200 系列高效液相色谱仪配有脱气机 (G1379B)、二元泵 (G1312A)、自动进样器 (G1329A)、自动进样器恒温器 (G1330B)、柱温箱 (G1316A)、二极管阵列检测器 (DAD) (G1315D) 及示差折光检测器 (RID) (G1362A)。详细参数见表 10。

表 10: 高效液相色谱仪参数列表

洗脱液	超纯水，等度洗脱	测量时间	90 分钟
检测系统	示差折光检测器 二极管阵列检测器（适用于在检测器波长为 280 纳米处 5-羟甲基糠醛与糠醛的检测）	自动进样系统	80 °C
流量	0.35 mL/min	自动进样系统	15 °C
色谱柱	MetaCarb 87P 300×7.8 毫米 MetaCarb 87P（预色谱柱） 50 × 4.6 毫米	进样量	10 微升

样本制备

每个样品溶液需至少重复测定两次。在对底物进行测定时，必须为每种底物制备至少两份完整洗脱液。

a) 固体样品（底物）组分与含量的测定：

需首先称量 5 克底物，在振动筛上用 50 毫升蒸馏水洗脱 24 小时。然后将洗脱液经筛网滤过后转移至带有螺帽的小号塑料管中。

b) 消化液样品（例如反应釜样品）组分与含量的测定：

在样品测定之前，可能需要在 10°C 温度与 10,000 转/分钟 (rpm) 转速条件下将样品离心 10 分钟。需要时，在离心后，可使用筛孔尺寸约为 1 毫米的筛网滤过样品溶液，以去除溶液中的粗基质组分。作为双重测定，将 500 μ L 上述步骤 a) 或 b) 中的滤液吸移到一个装有 0.20 μ m 滤膜的艾本德 (Eppendorf) 离心管中，并在 10°C 和 15,000 rpm 条件下离心 10 分钟。然后用移液管将滤液从上述配有过滤器附件的艾本德离心管中，转移至 1.5 毫升的高效液相色谱样品瓶中并妥善密封。如果得到的过滤液较少，则必须使用高效液相色谱样品瓶专用的微量内插管。

校准

此测定方法需称取多个单糖组分并配制单糖校准溶液（甘露糖除外）。由于会出现甘露糖与果糖色谱峰重叠的情况，因此需对甘露糖另行校准。与此类似的是，此测定方法也需为分解产物另行配置标准物质。这些分解产物包括乙醛、羟基丙酮、5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 及糠醛。保留时间、校准范围，所用检测器以及最低检出限和最低定量限的详情见表 11。

表 11: 分析物参数表 (包括保留时间、校准范围、检出限、最低定量限及检测器)

分析物	检测系统 ^{a)}	校准范围 [mg/L]	保留时间 [min]	最低检出 限 [mg/L]	最低定 量限 [mg/L]
蔗糖	示差折光 检测器	2.48–990.00	19.38	3.77	13.32
D-(+)-葡萄糖	示差折光 检测器	1.00–1000.00	23.27	6.47	12.58
D-(+)-木糖	示差折光 检测器	5.04–1008.00	25.13	12.25	42.93
L-(-)-半乳糖	示差折光 检测器	4.03–806.00	27.74	8.53	30.94
L-(+)-阿拉伯糖	示差折光 检测器	2.45–980.00	30.42	15.32	53.25
L-(-)-甘露糖	示差折光 检测器	1.10–1096.50	32.22	4.00	15.55
D-(-)-果糖	示差折光 检测器	2.57–1336.00	33.83	6.04	21.30
甘油	示差折光 检测器	2.59–1035.00	36.29	6.51	22.94
木糖醇	示差折光 检测器	4.97–993.00	70.11	9.15	32.14
D-(-)-山梨糖醇	示差折光 检测器	2.45–978.00	79.54	6.39	22.89
乙醛	示差折光 检测器	1.85–370.00	29.20	3.20	12.66
羟基丙酮	示差折光 检测器	2.30–460.00	45.04	4.98	21.95
5-羟甲基糠醛	二极管阵 列检测器 280 纳米	3.50–87.50	62.65	6.15	22.12
	示差折光 检测器	87.50–1750.00	63.04		
糠醛	二极管阵 列检测器 280 纳米	4.16–104.05	81.75	8.52	30.49
	示差折光 检测器	104.05–2081.00	82.23		

^{a)}RID—示差折光检测器；DAD—二极管阵列检测器

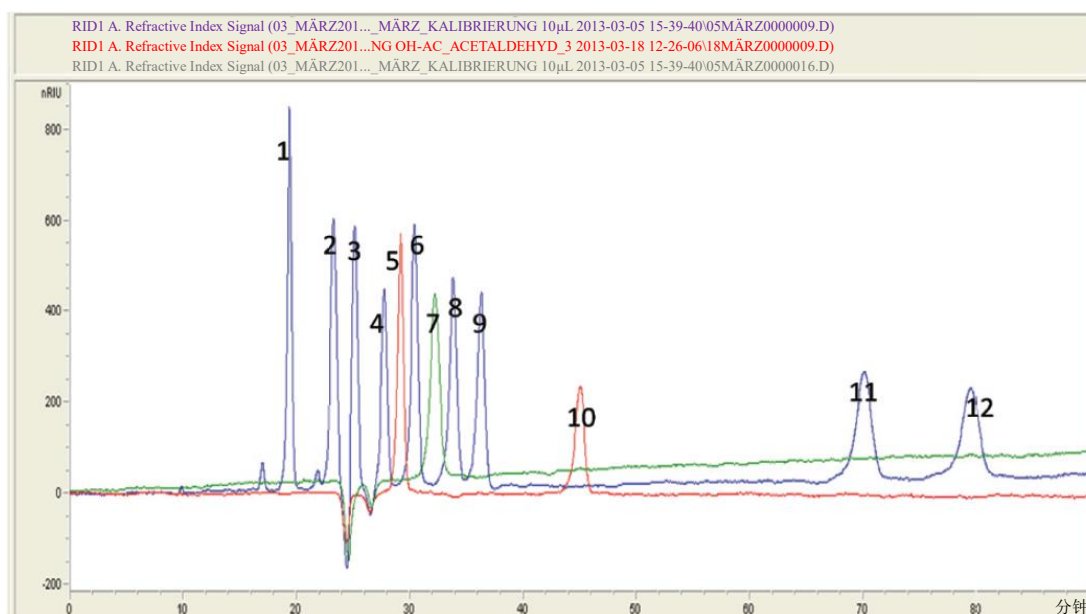
分析

此检测技术在开展定量测定时使用外标法进行校准。此外，还使用示差折光检测器（RID）分析糖与糖醇的含量，并在检测器波长为 280 纳米处用二极管阵列检测器（DAD）测定位于较低校准范围内的糠醛与 5-羟甲基糠醛含量。据此还可确定糠醛与 5-羟甲基糠醛含量的检出限和最低定量限。浓度高于 100 mg/L 的样品必须使用示差折光检测器进行分析。如果样品中同时存在 D-(-)-山梨糖醇和糠醛，则示差折光检测器中会出现少量相互重叠的色谱峰。但只有当糠醛浓度大于等于约 60 mg/L 时才会出现色谱峰重叠情况。通过反算法发现在完成糠醛分析后，有可能能够通过扣除糠醛色谱峰的面积来计算出 D-(-)-山梨糖醇的含量。如果样品中 D-(-)-山梨糖醇的含量远高于糠醛含量，则还可以通过稀释样品来获得“不含糠醛”的 D-(-)-山梨糖醇示差折光检测器信号。

样品色谱图

使用上述参数，最后得到如图 8 所示的色谱图。

a)



b)

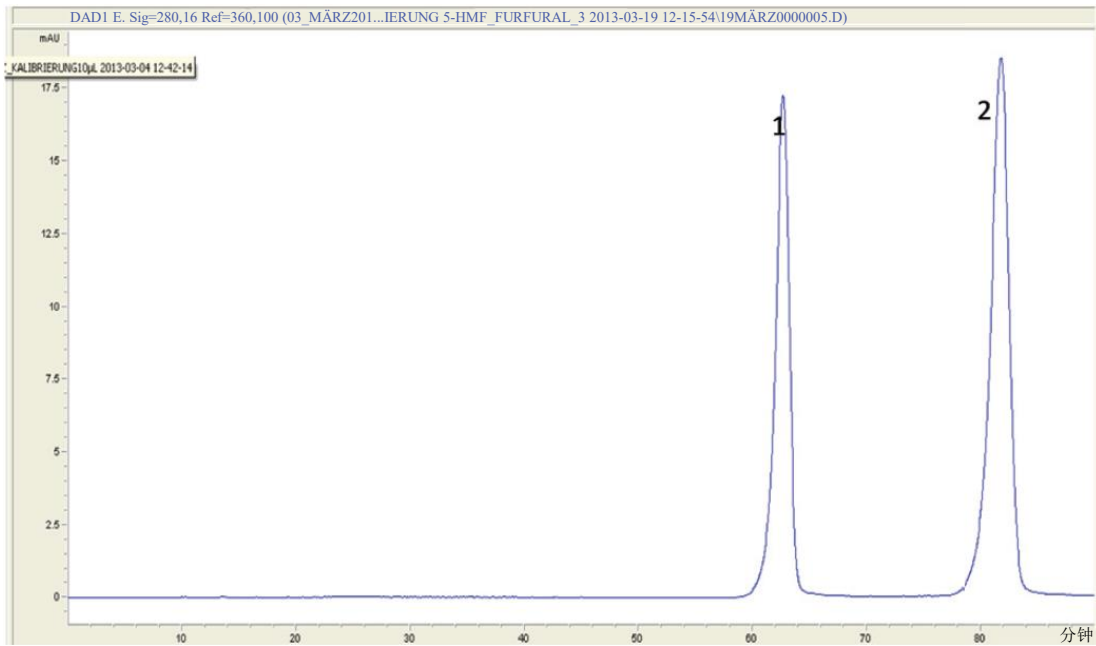


图8: 物质间关系图; (a) 示差折光探测器: 1) 蔗糖; 2) D-(+)-葡萄糖; 3) D-(+)-木糖; 4) L-(-)-半乳糖; 5) 乙醛; 6) 阿拉伯糖; 7) 甘露糖; 8) D-(+)-果糖; 9) 甘油; 10) 羟基丙酮; 11) 木糖醇; 12) D-(-)-山梨糖醇; (b) 二极管阵列检测器 (280 纳米: 1) 5-羟甲基糠醛 (5-HMF); 2) 糠醛

4.6 基于气相色谱-质谱联用分析法测定糖类含量

埃里希·基尔霍恩, 彼得·纽鲍尔, 斯特凡·郡奈, 柏林工业大学

状态	本章节中所述方法的依据是 1986 年关于糖分析的出版物。在该出版物中, 作者分析了纯单糖标准物的混合物。2011 年底, 该测定方法经调整后被用于分析来自沼气工程液体样品中的糖。截至目前, 此分析技术的主要原理已发表在相关刊物上 (LI & ANDREWS, 1986)。
相关标准	根据凯氏定氮法 (Kjeldahl) 测定含氮量
底物	此测定方法中用作底物的是不含固体的液体样品, 通常情况下是样品的离心液或滤液。可用此测定方法测定胞外糖类 (即溶解在液体中的糖类) 的含量。
该测定方法的局限性	此方法的最低检出浓度约为 1 mg/L。 此方法的一项劣势在于: 为抑制任何进一步的代谢活动, 必须在现场直接灭活样品。目前, 通过滴加氢氧化钾 (滴加 2 体积分数 [Vol%] 的浓度为 30% 的氢氧化钾溶液) 来完成样品灭活。此外, 最好还应在现场立即冷却样品, 简单易行 由于样品干燥过程持续数小时之久, 通常需要两天的时间进行分析。
优势	除上述特点之外, 此测定方法在样品制备与分析环节投入相对较少的人力。主要优势在于其高灵敏度和高分离效率, 因此即使对于含量极低的糖类组分也具有可观的定量重复性。
研究的必要性	尽管此测定方法主要分析样品的离心液, 经干燥后的样品残留物仍然不能用溶剂溶解。有鉴于此, 分析人员仍需确定所含的糖类是否已完全或仅部分转移至溶剂中。此外, 还不能清晰无误地判别所有分裂物质。因此, 需要另行研究以确定这些分裂物质是否是可以提供有关过程状态的代谢物。

配置样品与准备数据

由于糖类属于低挥发性化合物, 需要对糖进行两步衍生化。在第一步中, 糖的醛基被羟胺转化为脎。在第二步中, 使用六甲基二硅氮烷完成甲硅的烷基化。在此过程中使用苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷作为内标物。

首先, 在 4°C 温度与 9,500 \times g 转速条件下将样品离心 10 分钟。然后将 1 毫升上清液转移至一个气相色谱仪玻璃瓶中, 并在真空和室温状态下置于旋转蒸发器中干燥至少 8 小时。缓慢蒸发样品的目的是去除干扰分析测试的水分。待水分完全蒸发后, 将剩余的总固体与 0.5 毫升吡啶溶液混合 (吡啶溶液需提前制备 - 将提前配制好的用于脎形成的 25 mg/mL 羟胺盐酸盐和作为内标物的 1 mg/mL 苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷溶于吡啶中制成吡啶溶液) 制成悬浊液。将悬浊液密封后在 75°C 水浴中温育 30 分钟。待其冷却后, 再加入 0.5 毫升六甲基二硅氮烷和 15 微升三氟乙酸。在室温和 9,500 \times g 转速条件下离心 10 分钟, 以分离上一步骤中形成的沉淀物。之后将上清液转移至气相色谱瓶中。在分析之前,

需将样品放置在-20°C 的温度下贮存。

材料与设备

样品制备用材料与设备

- 吡啶原液，由以下组分构成：
吡啶≥99%（卡尔-罗斯有限公司）#CP07.1
羟胺盐酸盐≥98%（西格玛-奥德里奇公司）#255580
苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷（弗卢卡[Fluka]公司）#78554
- 六甲基二硅氮烷≥98%（卡尔-罗斯有限公司）#3840.1
- 三氟乙酸≥99%（卡尔-罗斯有限公司）#PO88.1
- 2 毫升微量离心管（卡尔-罗斯有限公司）#CK06.1
- 2 毫升透明状气相色谱样品玻璃瓶（卡尔-罗斯有限公司）#159.1
- 100 微升玻璃内插管，用于 2 毫升玻璃瓶（卡尔-罗斯有限公司），#C516.1
- 8 毫米硅胶涂层橡胶隔膜（卡尔-罗斯有限公司）#164.1
- 玻璃瓶用螺帽（卡尔-罗斯有限公司）#161.1
- CT15RE®离心机（Himac 实验室用离心机）
- 真空离心机/“Speedvac”（巴克福[Bachofer]公司）
- 涡旋混合器（纽蓝[neoLab]®）和水浴（GFL 公司）

分析用材料与设备

- 气相色谱-质谱仪（安捷伦科技有限公司，位于德国瓦尔德布龙）由以下构件组成：
自动进样器 AS G26 14A | 注射器 76 83B | 气相色谱仪 GC 7890A | 质谱仪探测器 MSD 5975G | 软件 G 1701 EA
- 分析用分离柱：安捷伦 J&W DB-5MS（安捷伦科技有限公司，位于德国瓦尔德布龙）#122-5523
涂层：苯基-亚芳基聚合物，与 5%-苯基甲基聚硅氧烷相当
长度：30 米，内径：0.25 毫米，覆膜：0.25 微米，温度限值：-60 至 325/350 °C
- 载气：氦气
- 异丙醇

执行方法

此测定方法使用附带质谱仪的气相色谱仪 GC 7890A（安捷伦）进行糖类测定。同时使用石英玻璃柱（涂层含 5%苯基和 95%二甲基亚乙基硅氧烷，作为载气的氦气在其中流动）进行糖类分离。样品添加量对应于 0.2 微升。然后以 1:10 分流比注射 2 微升样品（最终样品体积为 0.2 微升）。进样室温度为 155 °C；检测室温度为 300 °C。分析开始时，色谱柱的温度为 155 °C。注入样品后，温度以每分钟 4.5 °C 增幅不断升高，直至最终达到 280 °C，然后在此温度下保持 10 分钟。

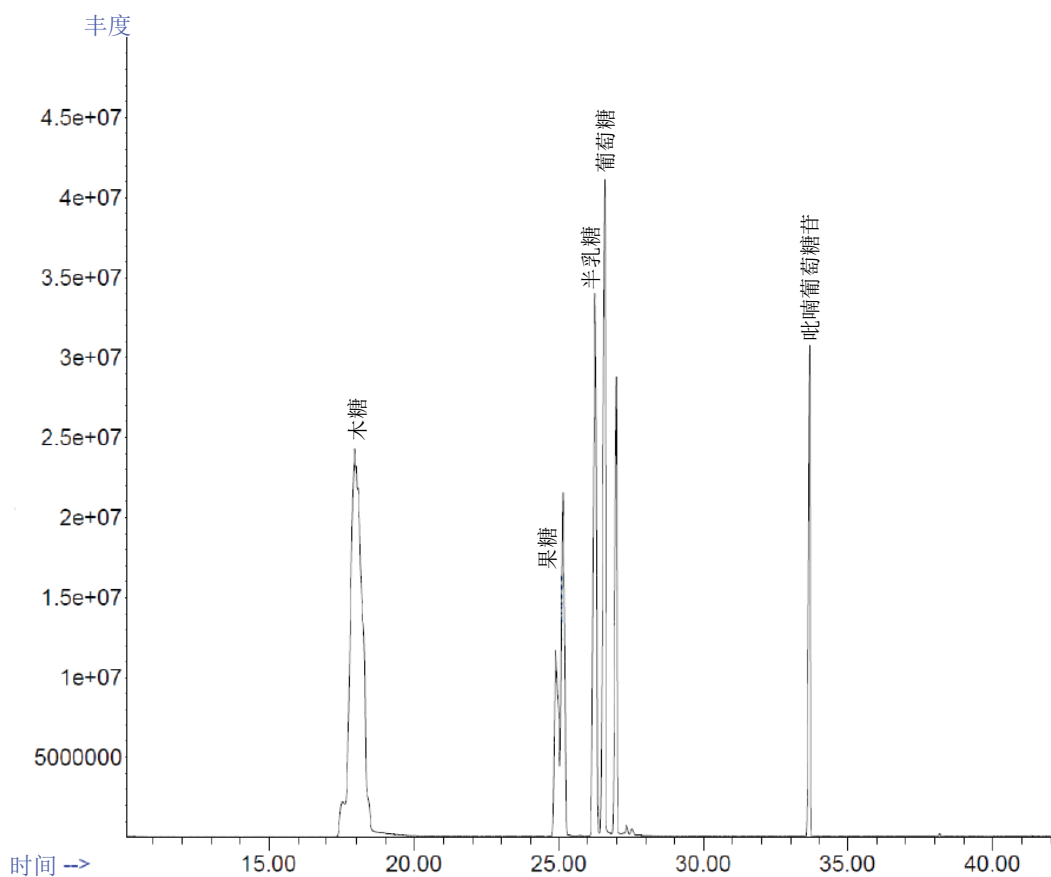


图9：样品色谱图：糖标准物分析

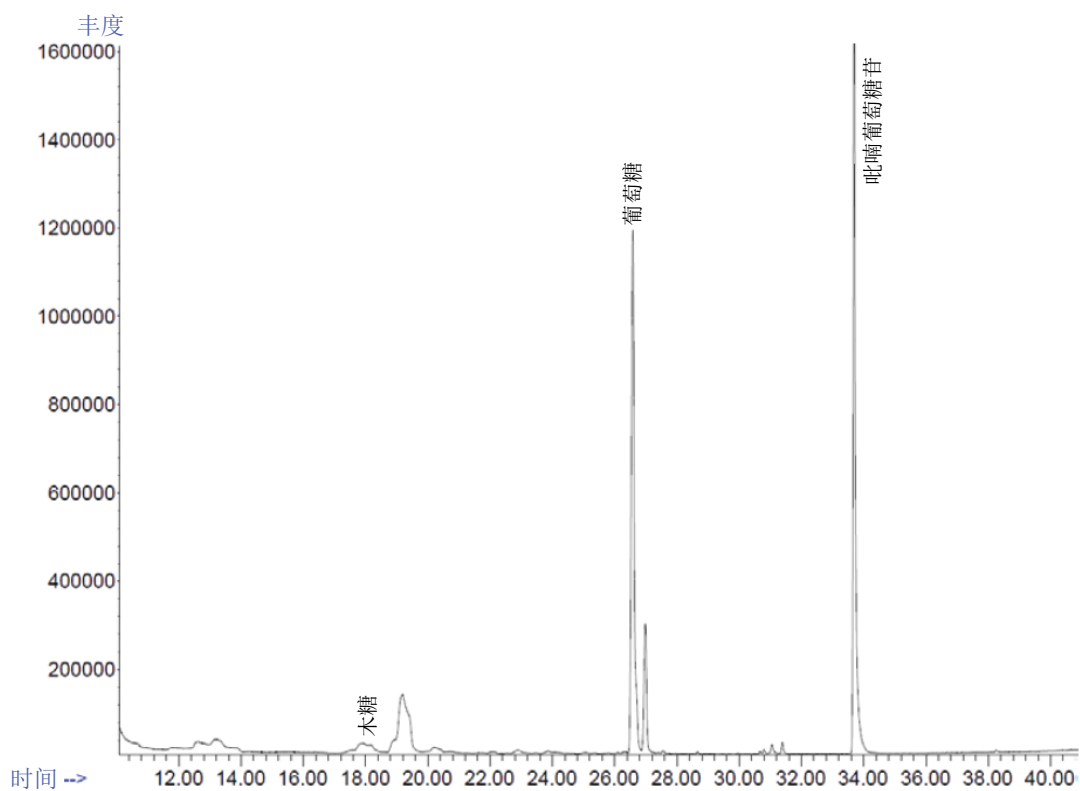


图10：来自沼气工程水解槽的液体样品色谱图

分析

此测定方法使用“气相色谱质谱联用 (GCMSD) 数据分析”软件程序开展数据分析。有可能同时实现未知物质的定性和定量测定。根据质谱仪测得的物质的质量分数, 可通过预先安装的质谱谱库 (“NIST 08”) 检索并鉴别未知分子。完成鉴别后, 首先分析具有已知浓度的标准物质, 然后绘制出校准曲线, 最后根据标准曲线可推演出待测物质的含量。通过计算色谱图上得到的峰面积, 可以测定出相关组分的含量。

4.7 总凯氏氮含量与粗蛋白含量的测定

迈克尔·迪特里希-齐肯多夫 (Michael Dittrich-Zechendorf), 德国生物质研究中心

状态	该测定方法是内部使用的一种分析技术, 其根据德国农业调查与研究部署协会编制的《方法手册》第三卷—饲料测试之粗蛋白的测定: 官方测定法, 汉堡, 1988 (VDLUF, 1988) 中规定的方法进行建模。
相关标准	根据凯氏定氮法 (Kjeldahl) 测定含氮量
该方法的应用领域	根据已测得的氮含量测定饲料中粗蛋白含量 (根据凯氏定氮法)
缺点与不足	检测过程冗长。 可能由于三聚氰胺 (或其他氮源) (非特定方法) 等因素, 存在伪造结果的可能性。 必要时, 必须根据样品调整固定因子。
优势	硝基、亚硝基和偶氮化合物组分不会干扰检测结果。
研究的必要性	无需针对该方法开展研究。

借助催化剂参与下的酸性热分解反应, 蛋白质及其他含氮化合物可以分解为氨。经碱性水蒸气蒸馏后, 氨被释放出来, 并被捕获在硼酸中。之后, 使用硫酸滴定法完成氨的定量测定。分析人员能够根据由此测定而得的含氮量, 计算出蛋白质中结合性氮的含量。通常情况下, 我们将含氮量乘以一个系数 6.25 就可得出样品中粗蛋白的含量。因此, 此测定方法根据凯氏定氮法来测定物质中蛋白质的含量。

设备与化学制剂

- 设备: 涤气系统 (Turbosog)、特博森 (Turbotherm), 凯氏消化系统 (Kjeldatherm), 凯氏定氮仪 (Vapodest 50sc)
- 分解容器与配件
- 1.5 升烧杯
- 250 毫升宽颈锥形瓶
- 干燥柜
- 精密天平
- 坩埚
- 干燥器

- 硼酸 2 %
- 硫酸（不含氮） 0.025 mol/L（当量为 0.05 mol/L）
- 苏打碱液（不含氮） 32 %
- 硫酸铵 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 至少 99.5%（高纯度分析试剂）
- 催化剂片（五水硫酸铜 $[\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}]$ 、硫酸钠 $[\text{Na}_2\text{SO}_4]$ 、硒 $[\text{Se}]$ ）
- 蒸馏水

分析准备

此测定方法主要对样品湿重进行分析，既可分析液体样本，又可测定固体样品。需对每个样品溶液至少重复测定两次。

分析执行

热分解

开展分析前，称量约 0.3 克总固体 (m_1)，测量精度应达 0.1 毫克。

将蒸馏水用于空白读数，将硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 作为标准物质。在每个分解容器中放入两片催化剂片，以 20 毫升 98%硫酸浸覆，再将容器置于加热块上的玻璃中。然后将抽吸设备悬置于容器上方。先将样品在 230°C 温度下分解 55 分钟，随后在 390°C 温度下分解 1 小时 15 分钟，此时溶液应呈澄清绿色。分解结束后，让溶液冷却约 20 分钟。随后，大约 90 毫升沸水（蒸馏水）将其在下方分层，沿玻璃壁向下流动。

为防止出现硫酸盐结晶，需再次将样品放置在尚存余温的加热块上。

碱性水蒸气蒸馏

将分解容器置于蒸馏装置中，然后加入 66 毫升苏打碱液，在 100%蒸汽输出量下蒸馏 5 分钟。在此过程中，将馏出物转移至盛有 60 毫升硼酸的容器中。然后用 0.1 当量硫酸滴定硼酸直至混合液 pH 值等于 5。

计算总凯氏氮含量

$$\text{TKN} = \frac{(V_1 - V_0) \cdot c \cdot f \cdot 0.014}{m \cdot 100} \quad (8)$$

TKN	总凯氏氮含量	(%ww)
V_1	滴定样品时硫酸的消耗量	(mL)
V_0	滴定空白读数时硫酸的消耗量	(mL)
c	酸的当量	(mol/L)
f	酸的系数	
m	样品的质量	(g)

计算蛋白质含量

$$CP = TKN - \left(NH_4^+-N \cdot \left(\frac{100 - TS}{1000} \right) \right) \cdot 6.25 \quad (9)$$

CP	蛋白质含量	(%ww)
TKN	总凯氏氮含量	(%ww)
NH ₄ ⁺ -N	TAN (总氨氮含量)	(g/L)
TS	样品的总固体含量	(%)

为了能够将测定结果与总固体含量关联起来，测定所有样品时都必须测定干物质含量。此外为计算蛋白质含量，还必须测量总氨氮含量 (TAN)。

4.8 蛋白质含量的测定

露西·默勒 (Lucie Moeller)、卡蒂·戈驰 (Kati Görsch), UFZ

状态	此测定方法系根据用于测定粗蛋白含量的杜马斯定氮法 (Dumas) 开发而得。
相关标准	根据杜马斯定氮法测定粗蛋白含量。
底物/材料	此测定方法适用于测定总固体含量不超过约 7% 的样品。
检测范围	0.1–100 mg/L 总氮 (TN)
缺点与不足	为确定含氮量，需使用总有机碳/总氮 (TOC/TN) 分析仪。
优势	该方法快速省时且简单易行。
研究的必要性	无需针对该方法开展研究。

为准确描述沼气发酵过程中所产泡沫的性质，需要开展蛋白质测定。有鉴于来自沼气工程样品的特殊属性，利用分光光度法测定蛋白质 (例如考马斯亮蓝法 [Bradford]、劳里法 [Lowry] 等) 不仅难度较高，且易导致测量结果不准确。因此，用于测定 N-蛋白质含量 (杜马斯定氮法 [DUMAS], 1831) 的分析法应运而生。

样品的总蛋白含量系基于以下公式计算而得：

$$\text{Total protein} = 6.25 \cdot (\{TN\} - \{NH_4N\} - \{NO_3N\} - \{NO_2N\}) \quad (10)$$

{TN}	均质样品中的总氮含量	(mg/L)
{NH ₄ -N}	滤液中的总氨氮 (TAN) 含量	(mg/L)
{NO ₃ -N}	滤液中的硝化氮含量	(mg/L)
{NO ₂ -N}	滤液中的亚硝酸盐氮含量	(mg/L)

为测定总氮、铵、硝酸盐及亚硝酸盐氮含量，需完成数项子步骤。然而，相比需使用强烈着色样品的其他样品测定方法（例如凯氏定氮法），本方法执行起来相对快捷。将本方法的检测结果和根据凯氏定氮法衍生而得但相对费力的传统方法（DIN EN 25 663）进行比较后，偏差仅为5%。

测定均质化样品中的总氮含量

样品的处理

使用常规浸入式混合器完成样品均质化。为此，取两个量筒，分别向每个量筒中加入5毫升的样品溶液（如果液体样品的固体含量低于5%，则可使用5毫升移液器转移样品）。然后将均质化的样品转移至50毫升容量瓶中，并往容量瓶中加入蒸馏水定容。从这两瓶稀释比例为1:10的稀释液中分别取5毫升稀释液转移至另外两个容量瓶中，并添加蒸馏水至50毫升定容，从而得到四个样品（最终每个样品的稀释比例均为1:100）。随后使用孔径为250微米的筛网滤过这些样品溶液，以去除溶液中可干扰分析结果的纤维组分。

最后使用总有机碳分析仪测定样品的总氮含量。

测定过程

为测定总氮含量，使用配有总氮单元的总有机碳-VCSH/CSN装置（岛津公司）。该装置所用测量原理的依据是样品在720°C温度下燃烧时，样品中含有的氮会被转化为一氧化氮，而一氧化氮可通过化学发光法进行检测。

由于测定5毫升均质化样品的难度较大，因此应考虑在测定结果中 $\pm 15\%$ 的相对误差。

滤液中氨氮含量的测定

样品的处理

将样品在20°C温度与5,300rpm转速条件下在50毫升离心管中离心20分钟（设备：美国贝克曼公司的Avanti 30离心机）。离心后，首先使用孔径为720微米的筛网滤过上清液，然后再用配有尼龙膜过滤器（孔径为0.45微米，沃特曼公司或颇尔公司）的压力过滤装置（设备：赛多利斯公司的SM 16249过滤器）进一步滤过所得溶液。第4.2章《有机酸的测定》中提供了该装置参数的确切描述。之后用蒸馏水稀释滤液，具体稀释倍数视预期氨氮浓度的不同而异（根据经验，稀释比例应至少达1:1,000）。

测定过程

为测定氨氮（TAN）含量，使用默克（Merck）公司的光度测试仪（Spectroquant系列，符合DIN 38406 E5标准，测量范围为0.01至3 mg/L的氨氮含量 $[\text{NH}_4\text{-N}]$ ）。使用Multilab P5实验室多参数分析仪（德国WTW公司）在石英比色皿（边长为10毫米）中进行光度测量。

测定滤液中铵态氮与亚硝酸盐氮含量

测定硝酸盐中氮含量时，按照默克公司Spectroquant硝酸盐测试仪（符合DIN 38405 D9标准，测量范围为1.0至25.0 mg/L的硝酸盐氮含量 $[\text{NO}_3\text{-N}]$ ）的规定处理样品。此外，此测定方法使用德国兰格博士公司（Dr. Lange）的Cadas 200设备在边长10毫米的一次性比色皿中，以空白作参比进行光度测量。此测定过程中可使用试纸（默克公司的Merckoquant亚硝酸盐试纸，测量范围为0.5至10 mg/L）。

检查样品中是否存在亚硝酸盐。

4.9 粗脂肪含量的测定

迈克尔·迪特里希-齐肯多夫 (Michael Dittrich-Zechendorf), 德国生物质研究中心

状态	该测定方法是内部使用的一种分析技术，其根据德国农业调查与研究部 署协会编制的《方法手册》第三卷第 5.1.1.节—饲料测试之粗脂肪的测定： 官方测定法，汉堡，1988 (VDLUF, 1988) 中规定的方法进行建模。
相关标准	粗脂肪含量的测定：官方测定法
该方法的应用领域	测定饲料中的粗脂肪含量。不适用于油籽中粗脂肪含量的测定。

将样品与盐酸共同加热，以打开蛋白质分子链（分解蛋白质）并释放出样品中的结合性脂质。分解溶液经过滤和干燥后，用己烷萃取残留在过滤器中的脂肪。以蒸馏法去除溶剂后，称量已干燥残余物。最后根据处理前后的重量差异，计算出脂肪含量。

设备与化学制剂

- 索氏 (Soxtherm) 萃取装置及 Makro 与 Multistat 设备
- 精密天平
- Hydrotherm 自动水解机
- 折叠式过滤器，平均孔径约为 5 微米
- 干燥柜
- 干燥器
- 称重纸，不含油脂
- 坩埚
- pH 试纸
- 填料，化学纯且已脱脂
- 萃取烧杯
- 萃取套筒
- 套筒架
 - 压缩机， 压力至少 4.5bar
 - 供水器， 压力至少 0.5bar
 - 盐酸 3 mol/L
- 己烷
- 蒸馏水
- 具备条件下，液氮 N₂
- 具备条件下，干冰

分析准备

在分析之前，将新鲜样品研磨成粒径不大于 1 毫米的粉状；在适用情况下，使用液氮和固体二氧化碳

(干冰)使粉状样品脆化。使用此测定方法时需对每个样品溶液至少重复测定两次。为了能够将分析结果与总固体含量关联起来,测定所有样品时都必须测定已烘干样品中干物质的含量。

分析执行

水解

将约 2.5 克新鲜样品(测量精度应达 0.1 毫克)放在称重纸上,然后将称重纸对折,连同样品一起放入水解烧杯中,以防在加热时位于烧杯底部的样品因烘烤而硬化。加入 100 毫升浓度为 3mol/L 的盐酸后,整个装置将自动加热至沸腾状态,并在温和沸腾状态下保持 1 小时。事实已证明,继续煨制直至底物完全分解有助于提高检测精密度。如果适用,用少许盐酸溶液冲洗出现在玻璃杯中的固态边界并继续煨制过程。在水解完成之后,将分解混合物转移至预先准备好的折叠式过滤器中,并用热蒸馏水加以冲洗。将折叠式过滤器冲洗 16 次,每次均用 40 毫升蒸馏水冲洗。折叠式过滤器应该呈 pH 中性(使用 Unitest 试纸检测 pH 值)。然后将过滤器放在表面皿上,并在干燥箱中 50 °C 条件下干燥过夜。用三块沸石将萃取烧杯在干燥箱中 105 °C 条件下干燥至少 1 小时,或者最好在干燥箱中 50°C 条件下干燥过夜,具体视样品数量的不同而定。

表 12: 萃取装置的程序

程序步骤	程序参数	备注
温度类别	135 = < 200–300 °C	
电热板温度	150 °C	
较小间隔	4 分钟	
较小脉冲	3 秒	
沸腾阶段	30 分钟	
通过蒸馏去除(步骤 A)	4 个间隔	在 A 步骤之后,溶剂液位应低于套管下方至少 10 毫米
萃取时间	1 小时	
通过蒸馏去除(步骤 B)	4 个间隔	在 B 步骤之后,溶剂液位应低于套管下方至少 10 毫米
通过蒸馏去除(步骤 C)	2 分钟	

萃取在干燥器中冷却后,将萃取烧杯准确称重(测量精度应达 0.1 毫克)并记录其质量(a)。在干燥器中冷却后,将干燥的过滤器转移到萃取套筒中并用无脂填料覆盖。将预先准备好的套筒放入合适的套筒架中,然后再放入萃取玻璃杯中。将圆嘴钳放入该玻璃杯中,并向其中加入 140 毫升新鲜己烷,之后立即将玻璃杯放入已准备就绪的萃取装置中。萃取过程根据表 12 中描述的程序进行。

在萃取程序完成之后,将萃取烧杯从萃取装置取出。之后移除带有套筒架的萃取套筒并将其丢弃(和/或重复使用)。将萃取烧杯在干燥箱中 50 °C 条件下水平放置并干燥 2 小时。之后放在干燥器中冷却至室温后,将其准确称重(测量精度应达 0.1 毫克)并记录质量读数(b)。干燥与称重步骤之间不应有任何停留或耽搁。

计算脂肪含量

$$CF = \frac{b - a}{(0.01 \cdot TS_{md} \cdot m) \cdot 100} \quad (11)$$

CF	粗脂肪含量	(% _{TS})
a	空萃取容器的质量	(g)
b	萃取后萃取容器的质量	(g)
TS _{md}	经干燥和研磨后样品的总固体含量	(%)
m	经干燥和研磨后样品的质量	(g)

4.10 粗纤维含量的测定

迈克尔·迪特里希-齐肯多夫 (Michael Dittrich-Zechendorf), 德国生物质研究中心

状态	此测定方法是内部使用的一种分析技术，其根据德国农业调查与研究部署协会编写的《方法手册》第三卷补充册第二版，汉堡，1988 (VDLUFA, 1988) 中规定的方法进行建模。
相关标准	粗纤维含量的测定，官方测定法
该方法的应用领域	此方法用于测定饲料中既不溶于酸又不溶于碱且不含脂肪的有机物含量。
缺点与不足	非特异性方法，缺乏关于单个纤维组分的指示。
研究的必要性	无需针对该方法开展研究。

此测定方法以在硫酸与氢氧化钾溶液中煮沸的方式来处理已烘干样品。待样品干燥并变为灰分后称量未溶解的残余物的重量。灰分含量和未溶解残余物之间的重量差异即是粗纤维含量。这些架构性物质主要包括：纤维素、半纤维素、戊聚糖、木质素、角质及果胶。

设备与化学制剂

- Fibretherm FT 12 设备
- 纤维袋与配件
- 干燥柜
- 马弗炉
- 精密天平
- 坩埚与干燥器
- 浓度为 0.13 mol/L 的硫酸
- 浓度为 0.23 mol/L 的钾碱液
- 己烷
- 蒸馏水
- 沸石

分析准备

必须将样品在干燥箱中 105°C 条件下干燥约 24 小时，然后研磨成粒径不大于 1 毫米的粉状。此外需要用到的坩埚都必须提前在 500°C 条件下空煅烧 2 小时。使用此测定方法时需对每个样品溶液至少重复测定两次。另外，纤维袋的数量必须与样品数量相适配，且纤维袋必须在干燥箱中 105 °C 条件下干燥 1 小时。

分析执行

空纤维袋干燥之后，测定其重量。之后称量约 1 克已烘干样品，测量精度应达 0.1 毫克。将一块玻璃垫片小心插入纤维袋中，并将两者一起放入样品转盘中。用装有己烷的喷雾瓶彻底冲洗所有纤维袋，可将脂肪从样品中洗脱出来。样品转盘应在干燥箱中 105°C 条件下干燥约 5 分钟，然后放入沸腾容器中。

表 13: 粗纤维含量的测定方法

1	剂量	H ₂ SO ₄	1 升
2	加热	45 %	0 小时 30 分钟
3	吸除		2 分/30 秒
4	洗涤周期 1/2		
5	洗涤周期 2/2		
6	剂量	氢氧化钾	1 升
7	加热	40 %	0 小时 30 分钟
8	冷却	91 > 85 °C	
9	吸除		2 分/30 秒
10	洗涤周期 1/2		
11	洗涤周期 2/2		
12	剂量	水洗	1 升
13	加热	50 %	0 小时 5 分钟
14	冷却	90 > 60 °C	
15	完成测定		

为测定纤维袋干燥状态下的质量，首先应测定在 500 °C 条件下完成煅烧的空坩埚的重量。在移除玻璃垫片后，将纤维袋叠成卷后放入坩埚中。将坩埚在 105 °C 条件下干燥约 24 小时，然后在干燥器中冷却并称重。在 500 °C 条件下对纤维袋连续灰化至少 2 小时。冷却后，称量样品质量。此外，为了能够将测定结果与总固体含量关联起来，还必须测定分析样品中干物质的含量。

结果计算

$$\text{CFC} = \frac{(m_4 - m_1) - (m_5 - (m_6 - m_3))}{((m_2 - m_1) \cdot \text{TSmd}) \cdot 100 \cdot 100} \quad (12)$$

CFC	粗纤维含量	(%TS)
m ₁	干燥空纤维袋的质量	(克)
m ₂	盛有样品的干燥纤维袋的质量	(克)
m ₃	空白读数的空坩埚的质量	(克)
m ₄	干燥后坩埚与纤维袋及样品的质量	(克)
m ₅	煅烧后坩埚与纤维袋及样品的质量	(克)
m ₆	空白组煅烧后, 坩埚与纤维袋的质量	(克)
TS _{md}	经干燥和研磨后样品的总固体含量	(%)

4.11 测定酸性洗涤纤维 (ADF) 与酸性洗涤木质素 (ADL) 的工艺规范

迈克尔·迪特里希-齐肯多夫 (Michael Dittrich-Zechendorf), 德国生物质研究中心

状态	此测定方法是内部使用的一种分析技术, 其根据德国农业调查与研究部署协会编写的《方法手册》第三卷补充册第二版, 汉堡, 1988 (VDLUFA, 1988) 中规定的方法进行建模。
相关标准	酸性洗涤纤维与酸性洗涤木质素含量的测定, 官方测定方法
该方法的应用领域	此方法适用于测定样品中不溶于酸组分和粗木质素组分的含量
研究的必要性	无需针对该方法开展研究。

在酸性洗涤纤维溶液中煮沸已烘干样品, 纤维素、木质素及木质素-N-化合物不会从饲料中洗脱出来。干燥后称量未溶解的残余物。对于在测定酸性洗涤纤维时残留在过滤坩埚中的残余物, 在室温下用 72% 硫酸处理 3 小时。随后用热水冲洗至中性点, 然后干燥并称重。在有机物质灰化后再次称重; 两次称重之间的煅烧损失即对应于“粗木质素”的含量。

设备与化学制剂

- Fibretherm FT 12 设备、纤维袋 (酸性洗涤纤维) 及配件
- 干燥柜与马弗炉
- 精密天平
- 5 升烧杯
- 坩埚与干燥器
- 酸性洗涤纤维溶液
- 己烷
- 浓度为 72% 的硫酸溶液
- 蒸馏水

分析准备

样品必须在干燥箱中 105 °C 条件下干燥约 24 小时。此外, 针对每个样品, 坩埚都必须在 500 °C 条件下空煅烧 2 小时。将已烘干样品用研磨机研磨成粒径 ≤ 1 毫米的粉状。使用此测定方法时需对每个样

品溶液至少重复测定两次。纤维袋必须在干燥箱中 105 °C 条件下干燥 1 小时。

配制用于酸性洗涤纤维测定的洗涤剂

设备与化学制剂

- 5 升容量瓶
- 250 升烧杯
- 50 升球形移液器
- 活塞式移液器
- 大量程天平
- 小号称重碗
- 玻璃漏斗
- 蒸馏水
- 浓度为 98% 的硫酸溶液 (H_2SO_4)
- N-十六烷基-N, N, N-三甲基溴化铵

配制酸性洗涤纤维溶液

在 5 升容量瓶中注入约 2 升蒸馏水，然后用移液管移取 136 毫升浓硫酸并添加至容量瓶中。另外再将 100 克 N-十六烷基-N, N, N-三甲基溴化铵转移至容量瓶中。在上述溶液混合均匀与并冷却之后，向容量瓶中加入蒸馏水定容至校准标记处。在 18-20 °C 条件下将溶液存放在避光处。

执行酸性洗涤纤维分析

将空纤维袋在 105 °C 条件下烘干后，测定并记录质量 (m_1)。然后称量约 1 克已烘干样品，测量精度应达 0.1 毫克。之后需称重并记录盛有样品的纤维袋的质量 (m_2)。将一块玻璃垫片小心插入纤维袋中，并将两者一起放入样品转盘中。用己烷彻底冲洗所有纤维袋，可将多余脂肪从样品中洗脱出来。可在表 14 中查阅 Fibretherm FT 12 设备工艺步骤的持续时间与顺序。在采用此方法完成上述测定后，纤维袋必须在干燥箱中 105 °C 条件下干燥整夜，之后记录其质量 (m_4)。

如需测定酸性洗涤木质素（粗制木质素），则必须在此步骤后完成“酸性洗涤木质素分析测定”。如果无需测定木质素，可在马弗炉中 500 °C 条件下连续灰化至少 2 小时。当样品在干燥器中冷却之后，称重样品并记录其质量 (m_5)。在大多数情况下，采用此种测定方法测得的灰分都与采用总固体-挥发性固体测定法测得的灰分数值相同（第 3.1 章）。

执行酸性洗涤木质素的分析

在准备过程中，将坩埚与纤维袋在 105 °C 条件下连续烘干 24 小时。

对于酸性洗涤木质素的测定，还需将用于测定酸性洗涤木质素（在灰化之前！）称重后的纤维袋悬挂在样品转盘中并固定。随后，将挂有纤维袋的样品转盘置于 5 升烧杯中并在室温下用 72% 的硫酸覆盖。每小时需搅拌硫酸溶液一次。此外，在此期间将其在 20-23 °C 温度下存放 3 小时。之后，用热水冲洗至中性点，并在 105 °C 条件下干燥 24 小时 (m_7)。

在马弗炉中 500 °C 条件下对纤维袋连续灰化至少 2 小时。在干燥器中冷却后，称量样品并记录质量 (m_5)。

此外，为了能够将测定结果与总固体含量关联起来，还必须测定分析样品中干物质的含量。

表 14: 酸性洗涤纤维含量的测定方法

1	剂量	酸性洗涤纤维溶液	1.3 升
2	加热	34% (具有设备相关性特征)	1 小时
3	吸除		2 分/30 秒
4	洗涤周期 1/2		
5	洗涤周期 2/2		
6	剂量	水洗	1.3 升
7	加热	50% (具有设备相关性特征)	0 小时 5 分钟
8	冷却	90 > 60 °C	
9	吸除		2.5 升
10	剂量	水洗	1.3 升
13	加热	55% (具有设备相关性特征)	0 小时 2 分钟
14	冷却	90 > 60 °C	
15	完成测定		

结果计算

$$ADF = \frac{(m_4 - m_1) - (m_5 - (m_6 - m_3))}{((m_2 - m_1) \cdot TS_{md}) \cdot 100 \cdot 100} \quad (13)$$

酸性洗涤纤维	酸性洗涤纤维的含量	(% _{TS})
m ₁	干燥空纤维袋的质量	(克)
m ₂	盛有样品的干燥纤维袋的质量	(克)
m ₃	空白读数的空坩埚的质量	(克)
m ₄	干燥后坩埚与纤维袋及样品的质量	(克)
m ₅	煅烧后坩埚与纤维袋及样品的质量	(克)
m ₆	空白组煅烧后, 坩埚与纤维袋的质量	(克)
TS _{md}	经干燥和研磨后样品的总固体含量	(%)

$$ADL = \frac{(m_7 - m_1) - (m_5 - (m_6 - m_3))}{((m_2 - m_1) \cdot TS_{md}) \cdot 100 \cdot 100} \quad (14)$$

酸性洗涤木质素	酸性洗涤木质素的含量	(% _{TS})
m ₇	干燥后酸性洗涤木质素-坩埚及纤维袋的质量	(克)

4.12 中性洗涤纤维（NDF）含量的测定

迈克尔·迪特里希-齐肯多夫（Michael Dittrich-Zechendorf），德国生物质研究中心

状态	此测定方法是内部使用的一种分析技术，其根据德国农业调查与研究部署协会编写的《方法手册》第三卷补充册第二版，汉堡，1988（VDLUFA，1988）中规定的方法进行建模。
相关标准	中性洗涤纤维（NDF）含量的测定
该方法的应用领域	此测定方法适用于测定中性洗涤液中不可溶组分的含量

在中性洗涤纤维溶液中煮沸已烘干样品，半纤维素、纤维素，木质素及木质素-N-化合物不会从饲料中洗脱出来。待样品干燥并变为灰分后称量未溶解的残余物的重量。灰分含量与未溶解残余物之间的重量差异即是中性洗涤剂纤维（NDF）含量。在此测定过程中必须特别留意，时刻确保溶液 pH 值位于规定的范围内。

设备与化学制剂

- Fibretherm FT 12 设备、纤维袋（中性洗涤纤维）及配件
- 干燥柜与马弗炉
- 精密天平、坩埚及干燥器
- 中性洗涤纤维溶液
- 己烷
- 蒸馏水

分析准备

必须将样品研磨成粒径不大于 1 毫米的粉状，并在干燥箱中 105°C 条件下干燥约 24 小时。此外针对每个样品，坩埚都必须在 500°C 条件下空煅烧 2 小时。使用此测定方法时需对每个样品溶液至少重复测定两次。另外，纤维袋的数量必须与样品数量相适应，且纤维袋必须在干燥箱中 105 °C 条件下干燥 1 小时。

制备用于中性洗涤纤维测定的洗涤剂

设备与化学制剂

- 5 升容量瓶
- 5 升烧杯与 1.5 升烧杯
- 玻璃漏斗
- 50 毫升球形移液器
- 大量程天平与小号称重碗
- 配备磁力搅拌棒的磁力搅拌器
- 蒸馏水
- EDTA 二钠盐（EDTA 二钠盐二水合物亦可），分析级
- 四硼酸二钠十水合物，分析级

- 十二烷基硫酸钠盐，分析级
- 三甘醇，分析级
- 磷酸二氢钠，分析级
- 苏打碱液/硫酸，分析级
- 消泡剂（TANAFOAM 1573）

制备中性洗涤纤维溶液

将约 2 升蒸馏水与一根磁力搅拌转子置于 5 升烧杯中。然后将 93 克（103 克 EDTA 二钠盐二水合物）和 34 克四硼酸二钠十水合物转移到 5 升烧杯中，将溶液在搅拌盘上搅拌直至所有固体溶解。随后，在连续搅拌状态下以相同方式将 150 克十二烷基硫酸钠盐加入烧杯中，并用移液管移取 50 毫升三甘醇至烧杯中。

将约 1 升蒸馏水倒入 1.5 升烧杯中，然后将 22.8 克磷酸二氢钠加入烧杯中并连续搅拌至完全溶解：此后，往上述盛有磷酸盐溶液的 5 升烧杯中加入蒸馏水，直至混合液总体积约为 4.5 升，然后再加入 2 毫升消泡剂。测量 pH 值并用苏打碱液/硫酸调节至 pH 值在 6.9 至 7.1 之间。借助玻璃漏斗将溶液转移至 5 升容量瓶中，并往容量瓶中添加蒸馏水定容。该溶液的保质期为四周。

分析执行

在烘干后测定并记录空纤维袋的质量（ m_1 ）。然后称量约 1 克已烘干样品放入纤维袋，测量精度应达 0.1 毫克。称重并记录盛有样品的纤维袋的质量（ m_2 ）。将一块玻璃垫片小心插入纤维袋中，并将两者一起放入样品转盘中。用己烷彻底冲洗所有纤维袋，可将多余脂肪从样品中洗脱出来。在抽风罩中干燥约 2 分钟后，以表 15 中列示的设置启动 Fibretherm 设备。

完成测定后，从每个纤维袋中取出玻璃垫片。在此过程中必须小心谨慎，确保不会带出样品。将纤维袋叠成卷后放入坩埚中，并在 105 °C 条件下干燥约 24 小时。干燥后，让坩埚在干燥器中冷却，然后测定质量。在 500 °C 条件下对纤维袋连续灰化至少 2 小时。在干燥器中冷却后，称量样品质量。此外，为了能够将测定结果与总固体含量关联起来，还必须测定分析样品中干物质的含量。

结果计算

$$\text{NDF} = \frac{(m_4 - m_1) - (m_5 - (m_6 - m_3))}{((m_2 - m_1) \cdot \text{TS}_{\text{md}}) \cdot 100 \cdot 100} \quad (15)$$

中性洗涤纤维	中性洗涤纤维的含量	(% _{TS})
m_1	干燥空纤维袋的质量	(克)
m_2	盛有样品的干燥纤维袋的质量	(克)
m_3	空白读数的空坩埚的质量	(克)
m_4	干燥后坩埚与纤维袋及样品的质量	(克)
m_5	煅烧后坩埚与纤维袋及样品的质量	(克)
m_6	空白组煅烧后，坩埚与纤维袋的质量	(克)
TS_{md}	经干燥和研磨后样品的总固体含量	(%)

表 15: 中性洗涤纤维含量的测定方法

1	剂量	中性洗涤纤维溶液	1.3 升
2	加热	35 %	1 小时
3	吸除		2 分/30 秒
4	洗涤周期 1/2		
5	洗涤周期 2/2		
6	剂量	水洗	1.3 升
7	加热	55 %	5 分钟
8	冷却	91 > 60 °C	
9	剂量	水洗	1.3 升
10	加热	55 %	0 小时 2 分钟
11	冷却	90 > 60 °C	
12	完成测定		

4.13 痕量有机化合物含量的测定

乔治·戈麦斯(Jorge Iván Salazar Gómez), 安德里亚·哥士纳(Andrea Gerstner), 阿利萨·约维奇(Alisa Jovic), 弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所 (Fraunhofer UMSICHT)

状态	此测定方法经过测试并已取得良好效果, 但仍有待进一步进行验证。
相关标准	挥发性有机化合物的采样及随后含量测定是根据 DIN EN ISO 16017 1 (“使用吸附管、热解吸、毛细管气相色谱法对挥发性有机化合物进行采样和分析-第 1 部分”)中规定的方法进行建模。
底物/材料	适用于气态挥发性痕量有机化合物含量的测定 (沼气采样过程一般在室温下进行)。
该测定方法的局限性	尚未确定明确的测量范围 (仍有待验证)。此外, 热解吸管亦存在过载可能性 (需以串联方式连接)、采样前与采样后二床与三床热解吸管的调节耗时耗力问题仍有待改善, 且水蒸气含量过高可能会对吸附过程产生干扰 (需冷凝水捕集)。
优势	样品的可储存时间更长 (如果冷藏, 样品保质期可长达数周)。具有实用性高、可操作性强、采样过程方便快捷且简单易行等优点。此外还避免了溶剂消耗的问题。不仅如此, 当沼气中存在挥发性物质或沼气中物质浓度偏低时, 此方法也具有优秀的适用性。金属表面的特殊处理涂层还可防止样品中具有反应活性的化合物的吸附。此外, 得益于热解吸单元中热解吸管 (TD 管) 的卓越加热效率, 色谱图中可产生许多便于分析的尖锐峰形。
研究的必要性	此测定方法仍有待验证。

除甲烷和二氧化碳两大主要成分之外，沼气还含有一系列挥发性有机化合物（VOC）。其中包括含硫化合物，例如甲硫醇、有机硅物质（硅氧烷）或萜烯（例如柠檬烯与蒎烯等）。VOC的定量分析可以提供发酵罐中过程中的重要信息，并在必要时帮助概念化必要的气体净化过程。有鉴于沼气中单个挥发性有机化合物的浓度通常仅为数个百万分比浓度（ppm）。为有效提高设备的最低检出限和最低定量限，此检测法利用热解吸装置（热解析管）大量富集挥发性有机化合物，使得其浓度能够达到传感器的测量范围。然后再采用气相色谱-质谱联用技术（GC-MS）来测定样品中挥发性有机化合物的含量。测定过程中质谱仪的使用有效提升了该分析方法的灵活度。此外，此方法还有助于快速地定性识别复杂气体混合物中的未知物质。

采样

采样过程中使用经 Silcosteel®涂层处理过的不锈钢制热解吸管。Silcosteel®处理涂层不仅可有效防止样品中具有反应活性的化合物吸附在不锈钢管件上，而且还可防止具有反应活性的化合物在解吸过程的高温环境下发生热分解，因而能有效提高分析结果的准确性。热解吸管中主要含有质量仅为数毫克的一种或多种吸附剂。当含有多种吸附剂时，由于吸附强度不断增大，材料会呈一层叠一层的分布方式（“呈夹层板状”）。这可确保化合物滞留在热解吸管的最终吸附层中，即使挥发性极强的化合物也不会逃逸。

挥发性有机化合物的采样及随后的含量测定都根据 DIN EN ISO 16017-1 中规定的方法进行建模¹。在采样之前必须对热解吸管进行预处理。为此，需要在实验室中在比实际解析温度高出 20 至 30°C 的温度范围内对热解吸管进行加热，以去除任何潜在的可吸附的化合物。此外，该系统还选用 Tygon®软管，以气密性连接方式将经上述预处理后的热解吸管与沼气制气装置或制气系统处的采样点和采样泵连接起来。Tygon®软管的惰性内腔可抑制流体吸附或粘附，因此不会干扰采样过程。另外，为避免水蒸气干扰吸附过程，还可在采样点和热解吸管之间安装冷凝物捕集器，以便去除沼气中所含的水蒸气。此外还必须认识到的一点是，冷凝水也可以从样品中分离出极性化合物（例如醇类）等组分。在将热解吸管连接至采样点之前，为确保分析结果的准确性，所有输送气体的管线和冷凝水收集器都应使用沼气吹扫 10 分钟。采样过程中借助流量计将体积流量调整至精确值（图 11）。

在完成必要的通量设置后，热解吸管中将吸附有足够体积的待测气体。为此应将待测气体的体积控制在恰当的范围，以此在确保热解吸管不会过载的同时，有效防止挥发性有机化合物从热解吸管出口处逃逸。为检查是否已发生气体逃逸现象，可以以串联方式连接两个热解吸管。如果在第二个热解吸管中检测到挥发性有机化合物的存在，则表明有物质逸出。最佳流速与采样持续时间取决于相应沼气采集点处的具体气体组成情况，因此必须在适用情况下在初步测试中及早确定最佳流速与采样持续时间。典型的采样持续时间应在 30 秒至 10 分钟之间，采样过程中流速范围在 50 至 100 毫升/分钟之间。

热解吸和气相色谱-质谱联用测定法

将吸附有足量待测物质的热解吸管在气相色谱仪-质谱仪的热解吸单元（TD 单元）中缓慢加热至最终解吸温度（300°C）。被解吸的挥发性有机化合物在惰性载气（氦气）中富集，并被吸附到位于热解吸装置冷阱中的 TENAX®采样管上，随后在急速升温过程中再次被快速解吸。得益于这一步骤（聚焦），在色谱图中会出现狭窄的便于分析的色谱峰。热解吸单元的所有传输线和阀门也采用 Silcosteel®涂层

¹ DIN EN304:16017-1：“使用吸附管、热解吸、毛细管气相色谱法对挥发性有机化合物进行采样和分析-第1部分”

处理技术，具有卓越的惰性。热解析后的测定步骤还包括向气相色谱仪迁移待测气体、分离气相色谱仪毛细管柱上的挥发性有机化合物，以及使用质谱仪检测样品中各物质含量（图 12）。在物质色谱峰的定性分析中，校准曲线的确定需要借助掺有液体校正标样的热解吸管的帮助。

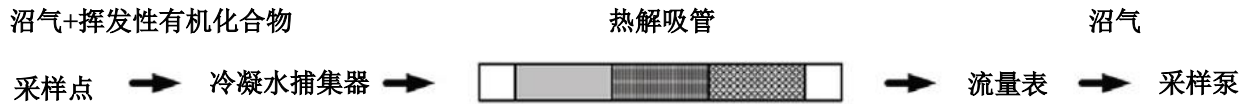


图 11: 使用三床热解析管进行挥发性有机化合物采样的示意图（资料来源：弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所）

材料与设备

校正标样

许多公司都生产液体校正标样，其中包括色谱科标样（Supelco）和 LGC 标样。通常情况下，这些标样中含有多种挥发性有机化合物，它们被溶解在甲醇或其他合适的溶剂中。此外，一些公司还可根据客户需要定制校正标样。每一校正标样均附带单独的测试证书，确保产品的可追溯性。校正标样的浓度通常介于 1,000 至 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。因此制备校正标样时需要用高纯度溶剂稀释标准溶液，通常使用的溶剂包括浓度 $\geq 99.9\%$ 的甲醇和/或浓度 $\geq 99.8\%$ 的乙腈。对于气相色谱仪-质谱仪的校准，必须在稀释校正标样的过程中，针对每个校准曲线制备 5 到 10 个不同浓度的标准溶液，但须保证标准溶液的浓度在预期浓度范围之内。在制备校正标准溶液时，待处理的热解析管被固定在一个特殊装置（即校正溶液装载装置）中。然后将所需量（通常为 1 微升）的相应标准溶液注入热解析管中。通过用惰性气体（氦气或氮气）吹扫，可去除热解析管中过量的溶剂。事实已证明，这种情况下，将气流流速控制在 50-100 mL/min 之间并将吹扫时间控制在 20 秒至 1 分钟之间最有利于标准溶液的制备。

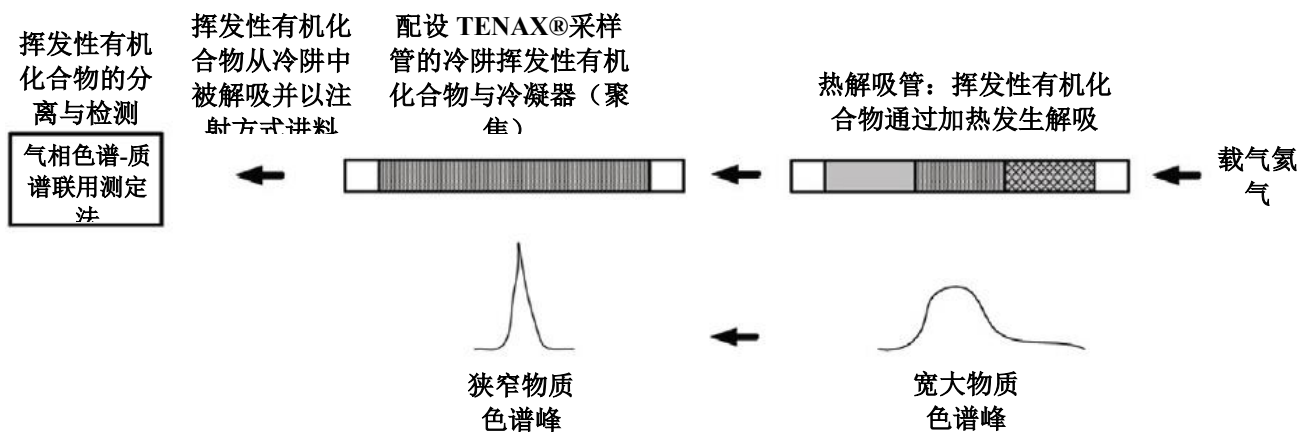


图 12: 热解吸过程及后续分析示意图

（资料来源：弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所）

热解析管

在采样过程中使用三种不同类型的热解析管（例如马克斯国际公司的产品[Markes International]）：即 (1) 带 Tenax®TA 采样管的热解析管，(2) 带 Tenax®TA 采样管和 UniCarb™吸附剂的二床热解析管，

(3) 带 Tenax®TA 采样管、UniCarb™吸附剂及 Carboxen™-1000 吸附剂的三床热解析管。在此过程中使用多床热解吸管，可检测到具有极高挥发性的挥发性有机化合物。然而，由于这些热解析管的后期处理比简易型 Tenax®采样管的后期处理更费时费力，因此大多数情况下人们偏向于使用 Tenax®采样管。

检测条件与结果

在相同条件下分析含有液体校正标样的挥发性有机化合物样品和热解析管时所用的设备参数都相同。下文中已列出所用设备的参数，这些设备包括气相色谱仪-质谱仪 QP2010 Plus 和热解析单元 TD20（均由岛津公司提供）。大量实践表明，这些设备可被用于测定样品中的挥发性有机化合物含量以及热解析管中的掺有液体校正标样的样品成分（表 16）。每个不同的气相色谱仪-质谱仪都需调整和优化设备参数。

表 16: 气相色谱仪-质谱仪的典型检测条件

设备参数	设置
气相色谱仪-质谱仪 QP2010Plus	
柱箱升温流程	将初始温度设置为 50°C，保持 5 分钟 1.然后以 5°C/分钟的速度升温至 200 °C，保持 15 分钟
分析级分离柱	Rxi5MS（瑞斯泰康[Restek]公司）或类似分析柱 长度：60 米 * 1.00 微米 * 0.25 毫米 色谱柱流量：2.43 mL/min，压力 244.2 千帕 界面温度：250°C，分流比：1:1 载气：氦气 线速度：40 cm/s
质谱仪	离子源温度：200 °C， 界面温度：250 °C， 检测系统电压：0.9 V 模式：扫描 质量范围：11-500 原子质量单位（amu）
设备参数 热解吸	设置
TD20	解吸流量：60 mL/min 解吸时间：5 分钟 解吸温度：300 °C 移液管温度：250 °C 冷阱温度：-15°C 冷阱解吸温度：300 °C 冷阱解吸时间：5 分钟

样品色谱图中描述的是来自废弃物发酵厂的沼气样品中挥发性有机化合物的组成。采样工具是配有 Tenax® TA 采样管的热解析管。采样持续时间为 10 分钟，气体流量为 100 毫升/分钟，最终采集气体的体积为 1 升。在此样品中检测出 100 多种不同物质（图 13）。

本章节所示检测方法的最大优势是能够准确无误地检测出沼气中挥发性有机化合物的浓度，包括挥发性较弱的有机化合物。采用此检测法测定有机硅化合物八甲基环四硅氧烷（简称：D4）含量时发现，其在上述样品中的绝对量为 290.98 纳克（参见图 14），对应于 24 ppb 的气相浓度。

定量测定

根据方程式（16）计算沼气样品中待测化合物的浓度 C_m （单位为 mg/m^3 ）：

$$C_m = \frac{m_F - m_B}{V} \quad (16)$$

m_F	采用气相色谱-质谱联用技术测定的沼气样品中待测化合物的质量（当两个热解析管在采样过程中以并列方式放置[即一个放在另一个的正后方]时，其质量总和 m_F 必须根据两项独立测量值计算得出）；	（纳克）
m_B	盲样中待测化合物的质量（当两个热解析管在采样过程中以并列方式放置[即一个放在另一个的正后方]时，其质量总和 m_B 必须根据两项独立测量值计算得出）	（纳克）
V	样本体积	（毫升）

备注： 如果希望将浓度信息与特定条件相关联，例如标准状态 $0\text{ }^\circ\text{C}$ （即 273.15 K ）和 1013.25 mbar ，则可得出以下转换结果：

$$C_c = C_m \frac{1013.25}{p} \cdot \frac{T + 273.15}{273.15} \quad (17)$$

C_c	相对于特定条件，待测沼气样品中化合物的浓度	$(\text{mg}/\text{m}^3 \text{ (STP)})$
p	大气压强	(mbar)
T	沼气样品的实际温度	$(^\circ\text{C})$

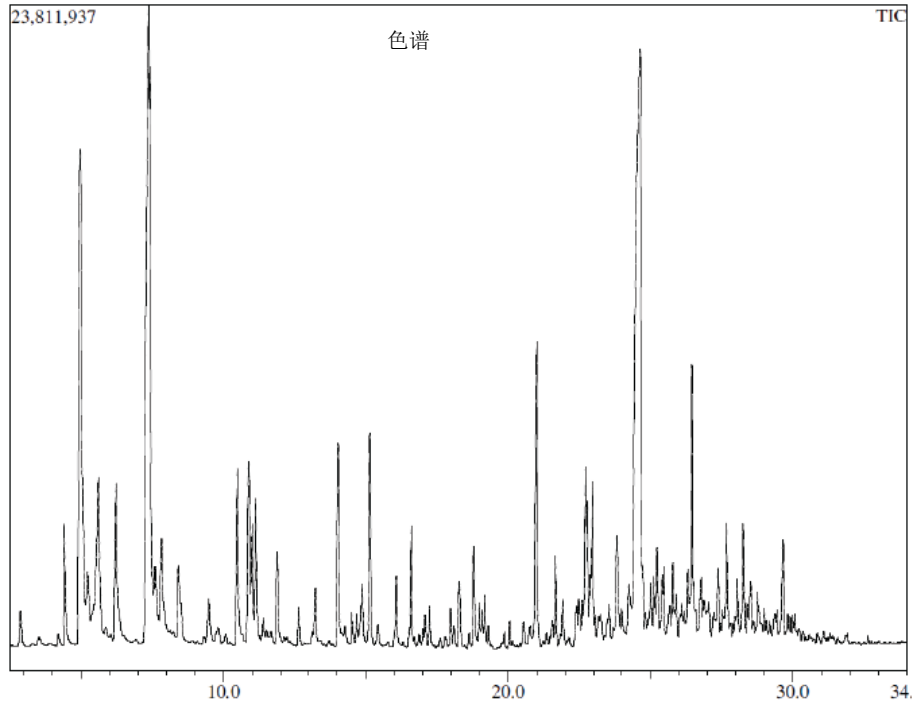


图 13: 取自废弃物发酵厂的沼气样品色谱图
(资料来源: 弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所)

分钟

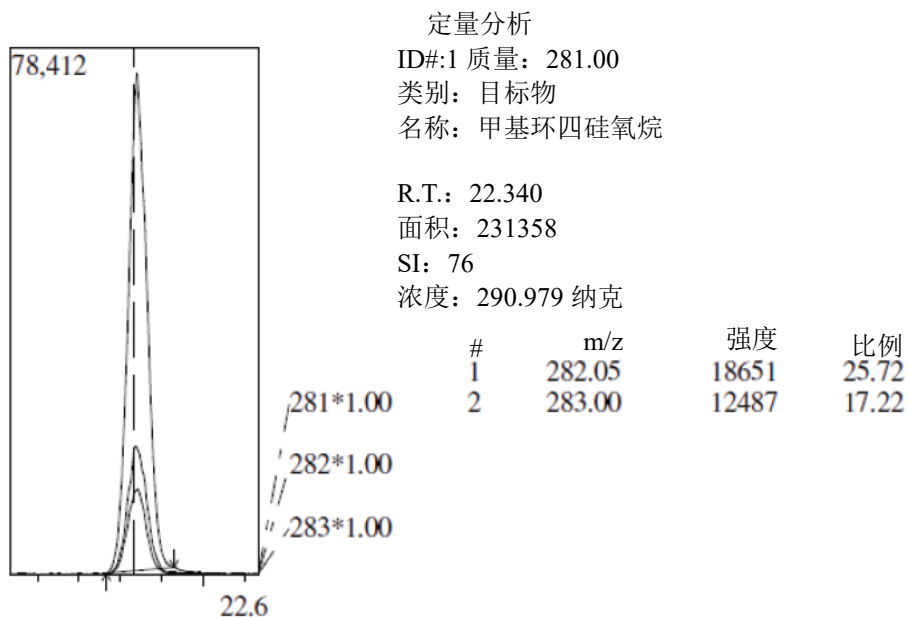


图 14: 甲基环四硅氧烷 (D4) 的定量测定法
(资料来源: 弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所)

4.14 氢气含量的测定（气态溶解氢）

延斯·措瑟尔（Jens Zosel），测量与传感技术研究所（KSI）

状态	可用原型
相关标准	<ul style="list-style-type: none"> ■ 气体分析测定方法与标准 ■ 生物介质采样标准 ■ 已溶气体的抽提标准
该方法的应用领域	测定溶解氢和其他已溶解气体（例如氧气和甲烷）的分压
底物/材料	厌氧与好氧发酵过程中的液体和浆状底物
该测定方法的局限性	最低检出限：提取的混合气体中，上述气体体积浓度为 1ppm.
优势	<ul style="list-style-type: none"> ■ 可进行现场测定 ■ 可实现测量数据的连续记录 ■ 无需校准检测系统 ■ 具有极高的长期稳定性 ■ 高选择性和高灵敏度
研究的必要性	<ul style="list-style-type: none"> ■ 测量不同底物中的气体溶解度 ■ 纳入其他挥发性组分 ■ 实现该方法的进一步自动化

有待解决的问题

随着科技的不断发展，传感器在沼气生产与复杂控制工艺过程中的重要性与日俱增。为优化沼气生产工艺，提高液态生物原料的发酵效率与产气效率，开发和使用兼具耐用性和长期稳定性的传感器就变得尤为重要。此类传感器应该能够用于检测沼气工程液相和气相中液体和气体的相关参数，且须能够承受高达 55°C 的环境温度和高达 2bar 压力的严苛作业条件。特别是在液相中存在强腐蚀性组分的情况下（例如存在硫化氢和有机酸），此等传感器还必须具有高灵敏度和高选择性。

方法和结果

溶解氧

此方法采用覆膜式电流传感器（ZOSELETAL., 2008）和创新型测量系统，对溶解在沼气介质中的氢气进行定量测定。该创新式测量系统将氢气从液相中抽取后，在气相中进行定性分析与定量分析（SCHELTERETAL., 2011）。

如图 15 所示，借助电流传感器完成的一系列测试已证实，液相中的氢分压明显高于气相中的氢分压。

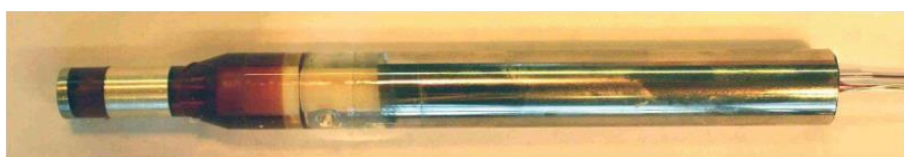


图 15：电流型氢传感器（资料来源:KSI）

因此，溶解氢的测定是沼气工程早期预警系统中不可或缺的组成部分，有助确保沼气产气过程的稳定性。然而，由于长期稳定性不够理想，电流传感器已被证明不适合沼气工程的使用。大量微生物群落会附着在膜与固体表面上形成生物膜，这种生物膜在短短数天内就可对传感器产生负面影响。出于这一原因，研究人员通过从液态沼气底物中抽取气体并测定抽提气体的溶解氢含量（和其他溶解气体浓度），开发出具有极佳长期稳定性的测量系统（具体如图 16 所述）。

该测定系统由一个使用惰性气体进行连续吹扫的抽取装置组成。在抽取单元内，主要在待测介质与载气之间的开放界面处进行气体抽取。之后，对抽取而得的混合气体进行清洗并用色谱技术完成分离，然后再用库仑法进行检测。

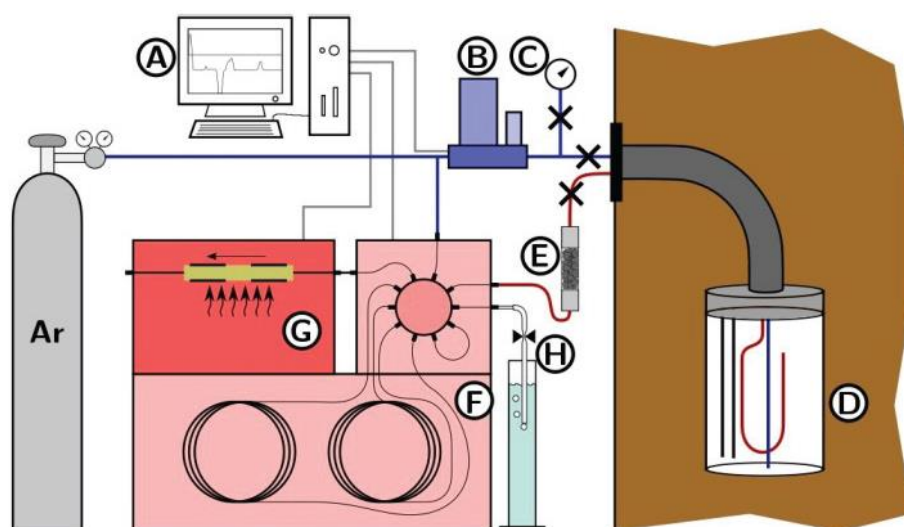


图 16: 用于测定沼气介质中溶解气体的测量系统: (A) 控制单元; (B) 质量流量控制器; (C) 压力计; (D) 沼气介质中的抽取装置; (E) 过滤器; (F) 现场气相色谱仪; (G) 库仑检测器和 (H) 背压调节器 (资料来源: KSI)

从溶解在沼气介质中的氢气和氧气曲线图（图 17 所示）中可以看出即使在沼气工程长期运行的情况下也可以保证测量系统的功能。

抽取气体中的氢浓度范围为 1 至 2 ppm（体积浓度），噪声幅度约为 0.5 ppm（体积浓度）。所选测量值比上述氢浓度高出 1.5 至 4 ppm（体积浓度）。研究结果表明，在消化池进料和氢浓度增加之间并未发现相关性。但在固体粪便进料与更大的氢气色谱尖峰出现增加之间存在相关性。

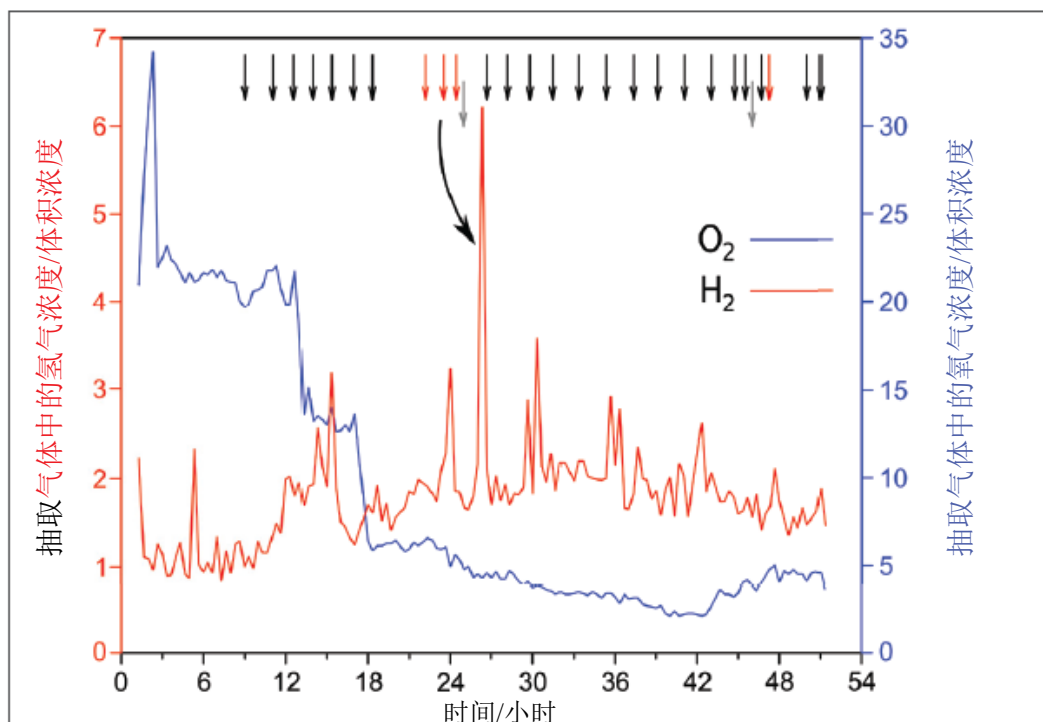


图 17: 在线测定沼气工程中溶解氢与溶解氧的含量, 箭头标记处为进料时间、红色=固体牛粪、黑色=玉米青贮饲料、灰色=牛粪 (资料来源: KSI)

溶解氢的分压不仅可用作相关过程稳定性的量度, 还可用作出现不稳定因素的早期预警指标, 如图 18 所示。

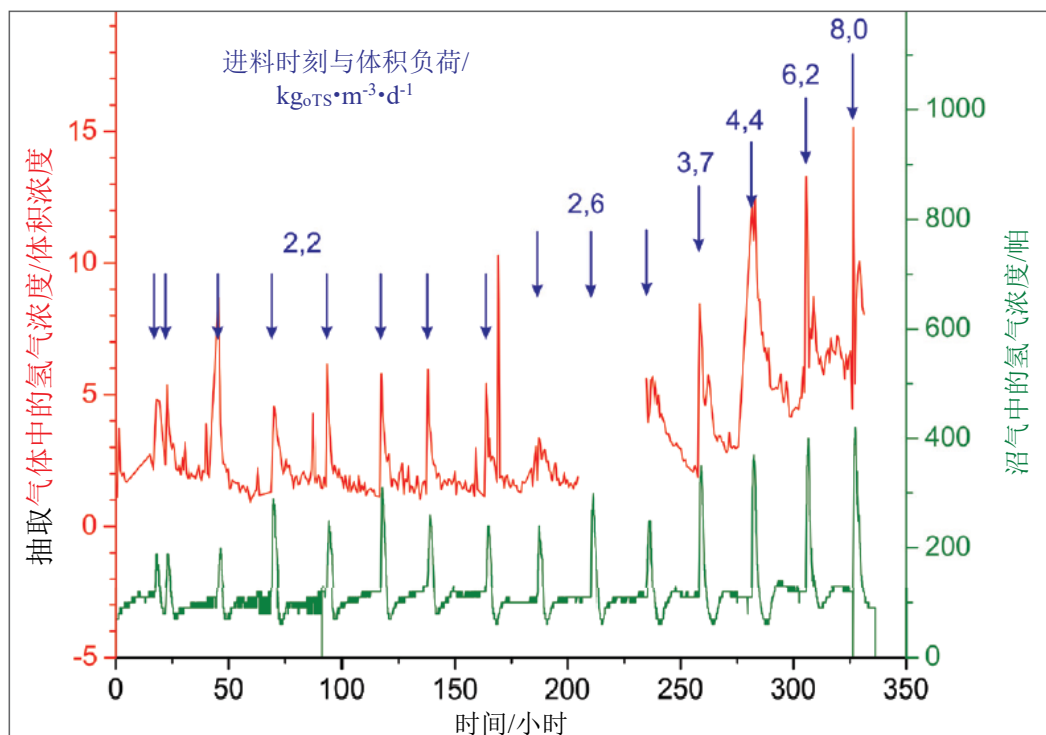


图 18: 在沼气实验室系统中在线测定沼气工程中溶解氢与溶解氧的含量; 随着有机负荷率的不断提升, 该实验室系统的微生物群所受的胁迫不断增大; 进料时间用箭头表示, 进料量被指定为有机负荷

率（资料来源：KSI）

在为期两周的时间内，在沼气实验室系统中测定溶解氢含量与氢含量，在此期间，由于有机负荷率的持续增加，微生物受到胁迫。虽然沼气中的氢离子浓度基本稳定，与有机负荷率无关，但溶解氢分压却随着有机负荷率的增加而增加。通过深入研究与过程稳定性限制相关的各项因素，可以得出操作说明，以便操作人员确保设备的有效管理。溶解氢的测定特别适用于新（沼气）工程启动阶段和底物变化过程的监控。对于在稳态状态下平稳运行的设备，该测量系统也可提供与负载优化相关的信息。

沼气中的氢气含量

关于上述在沼气介质中测量溶解氢的问题，迄今为止，实际上仅在沼气工程的气相中测定氢含量。通常情况下，氢气测量装置安装在沼气脱硫装置之后。相比于液相测定技术，此方法存在以下缺点：

- 由于发酵设备上空的体积较大，因此响应时间更长
- 由于顶空或脱硫过程中的微生物活动以及因密封材料而导致的扩散作用，导致沼气中氢分压的不确定降低
- 由于液相传质延迟，导致氢分压偏低（博斯[PAUSS]等人，1990）。

考虑到在沼气发酵适宜的氢分压范围在 1 至 1,000 帕之间，目前通常使用市售的电化学传感器（例如城市技术公司[City-Technology Ltd., www.citytech.com]）测定氢分压。考虑到此类传感器在正常浓度下对硫化氢具有较高的交叉敏感性，因此在使用电化学传感器时须事先从样品中去除硫化氢气体。而热传导传感器尽管具有卓越的长期稳定性，但对于上述浓度范围下的氢分压通常不够敏感。其他传感器原理（例如生物场效应晶体管[FET]传感器）目前尚处于研发阶段，因此还不能在沼气混合物成分测定中长期稳定使用。

结论

利用新型测量系统，可对生物介质中兼具长期稳定性与选择性的溶解气体进行分析，从而为沼气工艺创造了有益的工具。在不同沼气工程中进行的一系列成功测试业已证实，在此类工具的帮助下，可高灵敏度、高选择性和长期稳定性检测氢气、氧气和甲烷等目标气体。每小时约 3 至 6 个测量值的测量速率可以及早检测出微生物沼气生产中中断的信号。综上所述，作为一项关键参数，溶解氢含量的测定对于确保过程稳定性和优化工厂负荷都具有指导价值。

4.15 生物废弃物处理工厂的排污检测

卡斯滕·库尔斯 (Carsten Cuhls), 吉维塔 (Gewitra) – 知识转移工程有限公司 (Ingenieurgesellschaft für Wissenstransfer mbH); 托斯滕·赖内尔特 (Torsten Reinelt), 简·利伯特劳 (Jan Liebetrau), 德国生物质研究中心

状态	业经验证的采样配置与测定方法。 该测定方法的应用符合适用的德国科学技术协会 (VDI) 指南和德国标准 (DIN) 及欧盟 (EN) 标准, 请参见相关标准, 并且目前还在不断开发过程依赖性技术和测量技术。
相关标准	VDI 3481 表 3, VDI 3481 表 4, DIN EN 13526, DIN EN 12619, DIN EN ISO 21258, DIN EN ISO 25139, VDI 2469 表 1, VDI 3496 表 1
应用范围	此方法可用于监测特定传导性排放源和扩散型排放源。
局限性	传导性与扩散性排放源: 根据适用的 VDI 指南和 DIN/EN 标准, 具体请参见相关标准 (例如测量范围)。
优势	在分析测定扩散型排放源时, 由于所使用风洞的密封面积较大, 因此相对于采样, 风洞测定方法 (带风洞的测定方法) 具有更高的代表性。此测定方法可有效用于监测排放污染物的对流扩散运动情况。
研究的必要性	存在与之相关的适用标准, 目前无需进一步研究。

在监测生物废弃物处理厂的污染物排放时, 必须从根本上区分传导性与开放性排放源。废弃物处理设备通常配有废气收集系统, 可以将废气从密封区域输送到废气处理装置中。然后再将经净化处理后的气体排放到大气中。目前的有机废气生物净化装置主要包括生物过滤器等, 有时也会安装酸性洗涤器。在分析来自密封排放源的排放污染物时, 应尽可能直接测试废气收集单元中废气流的各成分种类和浓度。为此, 需记录相应管路系统中气体的体积流量和浓度。

气体采样系统

传导性排放

当配有废气收集系统时, 封装式工艺组件中气体的采样可以直接在相应的排气风管中进行。

扩散性排放

开放式生物过滤器

废气通过生物滤池材料后, 在废气流中对气体进行采样。为检测废气流, 将薄膜放在生物过滤材料上, 并在外边缘采用砂袋做密封, 使薄膜因废气流而鼓起。气体采样管线设置在薄膜下方 (参见图 19)。

开放式堆肥堆

为测定和分析开放式堆肥系统与非封闭式堆肥系统运行过程中的污染物排放情况, 有些沼气工程使用

由吉维塔（Gewitra）公司设计的风洞。此类风洞借助风扇产生的温和气流来模拟周围实际气体的流动情况（参见 VDI-3475 指南表 1 和 VDI-4285 指南表 1）。

在各个采样点（堆肥堆）的堆肥表面上借助因气流而鼓起的风道来测试堆肥堆中废气的各成分种类和浓度。风道的表面宽度为 6 至 8 米，长度可达 10 米（参见图 20）。在风道纵向与风道入口区域，用沙袋沿风道外边缘将帐幕压实，与地面完全贴合形成密封。为确保鼓入风道的环境空气呈现自由且真实的下降梯度，此风道的出口区域不做密封处理。在风道入口处安装有两个风扇，以便从一个预载荷尽可能低的区域鼓入环境空气。采集目标气体的采样点设在风道出口处和/或位于风道后部的内部空间中。

待测参数/气态物质

碳化合物

总碳（TC）

总碳（TC）含量是以含碳量表示废气中有机物总量（灰尘样有机物质除外）的综合指标。作为重要参数，总碳含量是非甲烷挥发性有机化合物（NMVOC）中碳含量和甲烷中碳含量（CH₄-C）加合后得到的样品含碳总量。因此，根据定义，总碳含量中也包含了挥发性有机化合物（VOC）的碳含量。通常使用火焰离子化检测器（FID）测定有机化合物含量。此类检测器以氢气和空气燃烧生成的火焰为能源，以丙烷为内标物。

挥发性有机化合物（VOC）

挥发性有机化合物（VOC）包括诸多有机化合物，其共同特征是都具有碳骨架。挥发性有机化合物可以对环境产生迥然不同的影响：作为光化学氧化剂的前体物，与氮氧化物一起经由一连串的光化学反应生成臭氧；此外，还可作为具强气味物质的载体，而且还会对人体健康造成不利影响。

非甲烷挥发性有机化合物（NMVOC）

非甲烷挥发性有机化合物（NMVOC）这一术语用于特指除甲烷外的其他挥发性有机物，是易于挥发或在低温下以气态形式存在的含碳化合物。但非甲烷挥发性有机化合物不包括气体甲烷（CH₄）。作为一项重要参数，非甲烷挥发性有机化合物由挥发性有机化合物的总碳含量减去甲烷的碳含量（CH₄-C）计算而得。



图 19: 开放式生物过滤器的气体采样 (资料来源: 吉维塔公司)



在采样点上方设置风洞



使用两个独立安装的风扇和供气管路将环境空气鼓入风洞中 (风洞前视图)



使用采样软管从风洞中排出废气 (风洞后视图)



配备采样泵与分析仪的排气测量技术以及在线获取测量值。

图 20: 在开放式堆肥点使用风道测定方法 (风洞) 测定气体排放情况 (资料来源: 吉维塔公司)

非甲烷挥发性有机化合物主要包括需氧降解与厌氧降解的代谢物，也包括废料中所含有机物质在转化过程中产生的代谢物。此外，它们还能够以溶剂和含溶剂产物的形式作为痕量物质包含在废料中。

由于其挥发性特征，非甲烷挥发性有机化合物可通过汽提过程从废料中扩散到废气中和/或环境大气中。高温和高的表面空气流动速度加剧了作为汽提作用的气体排出。

在生物废弃物处理过程中产生的非甲烷挥发性有机化合物的排放物包括以下组分，这些组分在非甲烷挥发性有机化合物中总占比超过 90%：硫化物（二硫化碳、二甲基硫化物及二甲基二硫化物）、氮化合物（碱性胺）、醛（乙醛与 3-甲基丁醛）、酮类（丙酮、2-丁酮及 2-戊酮）、醇类（乙醇、2-丙醇、2-丁醇及 2-甲基丙醇）、碳酸（甲酸、乙酸、丙酸及戊酸）、酯类（乙酸甲酯与乙酸乙酯）及萜烯（月桂烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯及 α -侧柏酮）。

甲烷（CH₄）

在总碳中，甲烷（CH₄）是占比最大的有机物组分。甲烷是一种无色无味且易燃易爆的气体。

甲烷-空气混合物的爆炸极限是其中氧气的体积浓度大于 11.6%且甲烷的体积浓度在 4.4%（100%爆炸下限[LEL]）到 16.5%（100%爆炸上限[UEL]）之间（根据 IEC 6007920 标准）和/或甲烷在空气中体积浓度在 5.0%（100%爆炸下限）和 15.0%（100%爆炸上限）之间（根据德国防爆检验机构[PTB]标准及欧盟标准 EN 50054）。

甲烷是一种温室气体。甲烷的全球升温潜能值（GWP 值）是 28（参见本章节末尾的“二氧化碳当量”一节）。

氮化合物

氨气（NH₃）

氨气（NH₃）是在氨化作用下产生的气体。氨化作用是微生物分解有机氮化合物产生氨的过程。此外，有机氮化合物（例如蛋白质或尿素）的分解过程中也会产生氨气（NH₃）。氨气与铵离子（NH₄⁺）之间始终处于一个动态平衡，pH 值是影响这个动态平衡的重要条件。若 pH 值>7 或温度>45°C 或曝气速率高时，氨的排放量会增加；当 C/N 比较高时，氨的排放量会降低。

氨主要具有如下特征：

- 氨具有挥发性，因此一部分氨气可通过蒸发进入大气，特别是强碱性物质更容易产生氨气。人们可通过泄漏出的氯化铵气味察觉到氨的存在；
- 在 pH 值接近中性时，氨主要以铵离子（NH₄⁺）的形式存在；
- 氨可在水中建立如下所示的溶解平衡和电离平衡
$$\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$$
pH 值是影响这个动态平衡的重要条件。当 pH 值下降时，平衡向右移动；
- 氨和/或铵离子（NH₄⁺）具有阳离子特性，因此受其所带正电荷的影响，容易被大量吸附到带负电荷的粘土矿物中。

一氧化二氮 (N₂O)

在生物废弃物处理中在氮存在的情况下，可产生作为温室气体之一的一氧化二氮。一氧化二氮的全球升温潜能值为 265（参见本章末尾的“二氧化碳当量”一节）。

测定方法

概览

用于测定各类物质排放量的测定方法符合相关 VDI 指南与标准的要求，具体请参阅表 17。

表 17：测定方法列表

待测物质	测量值的获取方式	测定方法	测量装置与采样设备	相关指南与标准
总碳	连续读取测量值， 在线数据	氢火焰离子化检测 法	Bernath Atomic 3006 检测器	VDI 3481 表 3； VDI 3481 表 4； EN 13526， EN 12619
甲烷，一氧 化二氮	连续读取测量值， 在线数据	红外检测法	ABB 公司 Advance Optima 系列 URAS 14 红外气 体分析仪	VDI 2469 表 2；
甲烷，一氧 化二氮	非连续读取测量 值，实验室分析测 定	带自动进样器的气 相质谱法	使用真空采样瓶采 样	VDI 2469 表 1
氮	非连续读取测量 值，实验室分析测 定	使用硫酸的湿化学 法	使用迪赛克 (Desaga) 泵和 2 个清气瓶进行采样	VDI 3496 表 1

连续测定

总碳

使用一根与氢火焰离子检测器相连的加热线完成总碳含量的连续测定。

在采样期间连续记录分析数据（由布莱费斯[Breitfuss]公司生产的模拟数字转换器 LABCOM 16 和 MemoComp 软件）。

甲烷，一氧化二氮

使用一根与具有在线数据采集功能的气体分析仪相连的加热线，完成甲烷(CH₄)和一氧化二氮(N₂O)的采样和连续测定。采样后将气体样品递送至冷凝器并采用非分散红外光谱法(ABB公司生产的气体泵与Advance Optima系列URAS 14气体分析仪)进行连续测量。在采样期间连续记录分析数据(由布莱费斯[Breitfuss]公司生产的模拟数字转换器LABCOM 16和MemoComp软件)。

非连续测定

甲烷，一氧化二氮

在甲烷(CH₄)和一氧化二氮(N₂O)的非连续性测定过程中，使用双插管穿过丁基隔垫，通过采样管线从顶空样品瓶(20毫升)中直接抽出气体样品。在采样之前，使用旋转阀真空泵(Vacuubrand公司RE 2真空泵)将顶空样品瓶抽至残余压力为6mbar。然后使用数字真空计(格雷辛格电气公司[Greisinger Electronic]生产的GDH 12 AN数字真空计)检查残压。

在分析一氧化二氮和甲烷过程中使用气相色谱仪(SRI 8610 C)。采用电子捕获检测器(ECD)测量一氧化二氮含量，采用氢火焰离子化检测器测量甲烷含量，然后采用外标法对样品进行定量测定。为检测排放量，使用额定浓度为0.27 ppmV V、1.5 ppmV及2.7 ppmV的一氧化二氮和/或1.7 ppmV、7.5 ppmV及16.5 ppmV的甲烷(空气产品公司[Air Products]生产的特种气体)的混合标准物。

对于一氧化二氮浓度的计算，假设校准函数的线性级数高达4 ppmV，且浓度大于4的信号遵循二次多项式的特征。甲烷的火焰离子化检测信号进展在相关浓度范围内呈线性特征。为了在一段时间内对校准进行调整，每次要在测定20个样本之后测定标准物质。

氨

使用样品管线完成氨(NH₃)的采样，该管线在无气体制冷的情况下经过两个装有硫酸的气体洗涤瓶(使用迪赛克公司的泵产品)。根据VDI-3496指南表1，采样时应向装有硫酸的气体洗涤瓶中通入目标气体30分钟，以去除目标气体中的水蒸气。随后，在实验室中以湿化学法测定所采样品中氨氮的浓度。测定结果应取半小时时间内测定的算术平均值。

测定体积流量

采用叶片风速计或皮托管传感器测定管线中的气体体积流量。为此需进行10次独立测定，最终结果取其算术平均值。所用叶片式风速计为1416型，测量范围为0.7至20 m/s；该过程所用配载压力计的皮托管是一个带数字压力计的风速(AIRFLOW)皮托管，型号为DM30，量程范围为-3,000至3,000 Pa。在排放量测定期间需确保体积流量为一常数，避免开展连续测定的需要。

评估测量值

质量浓度

根据德国《空气质量控制技术规范》第 2.5a 节 (TA Luft), 质量浓度是指在标准温度与标准压力 (273.15 K; 101.3kPa) 条件下, 在扣除水蒸气中的含水量后, 被排放物质的质量除以废气的体积所得的商。

在线连续记录物质总碳含量、甲烷及一氧化二氮的质量浓度, 扫描间隔为 1 秒, 取每分钟平均值和/或每 30 秒平均值作为记录数据。与此同时, 在同一时间内从平行测量点提取用于测定甲烷和一氧化二氮的废气样品。根据 VDI-3481 指南表 4 的规定, 作为参数的非甲烷挥发性有机化合物含量是指待测气体中的总碳浓度减去甲烷的碳浓度所得的差。

在分析测定期间, 氨的质量浓度以不连续方式测定。根据 VDI-3496 指南表 1 的规定, 采样时应向装有硫酸的气体洗涤瓶中通入目标气体 30 分钟, 以去除目标气体中的水蒸气, 之后再对采样气体进行分析。

在标准温度和压力下, 待测物质的质量浓度以每立方米干空气中所含待测物质的毫克数为单位来表示 (标准状态下 mg/m^3), 表示为半小时平均值 (HHAV) 和日平均值 (AD)。

质量流

根据德国《空气质量控制技术规范》第 2.5a 节, 质量流量 (排放质量流) 指被排放物质相对于时间的质量。质量流量表示工厂在一小时的实际运作期间产生的排放。

通过相应管道系统中的体积流量和发生浓度来计算质量流量。

通过将质量浓度乘以标准温度与压力下干燥空气的废气体积流量 (单位为标准状态下每小时立方米, m^3 (STP)/h), 可以确定被测物质的质量流量。质量流量以 g/h 为单位。

排放因子

根据德国《空气质量控制技术规范》第 2.5a 节, 排放因子是指被排放物质的质量除以被加工物质的质量所得的商。质量比中包括在常规操作条件下 (常规操作) 运作期间发生的整个工厂的废气排放量。待测物质的排放因子是将测量持续时间内质量流量的总和 (以克为单位) 除以在测量期间进入生物处理阶段的废弃物的量 (以毫克为单位) 所得的商。质量比以及据此计算的排放因子以每毫克湿质量中所含克数为单位 (g/Mg)。

二氧化碳当量

二氧化碳当量 (CO₂-eq.) 是一种用于比较不同温室气体排放量的计量单位, 但两气体物质的二氧化碳当量相同并不意味着它们引发气候变化的反应机理相同。二氧化碳排放量当量的计算方式是在特定时间内温室气体排放量乘以其全球升温潜能值所得的积。对于温室气体的混合物而言, 可通过将每种气体的等效二氧化碳排放量相加来确定。在目前项目的分析中, 以下原则适用: 生物垃圾和绿色垃圾堆肥的目的—方面是有机物质的分解, 另一方面是稳定性腐殖质的产生。在生物稳定过程中, 作为微生物代谢物释放的二氧化碳并非来自化石来源, 而是来自可再生资源, 因此不能作为与气候相关性温室气体进入平衡, 而应作为气候中性气体进入平衡。

根据《联合国政府间气候变化专门委员会第四次评估报告》(AR4) 的要求, 为计算二氧化碳当量, 假设在 100 年期间以下物质的全球升温潜能值如下所示 (参见表 18): **甲烷 = 25; 一氧化二氮 = 298** (联合国政府间气候变化专门委员会 [IPCC] 2007 年报告)。根据甲烷与一氧化二氮排放因子确定的二氧化碳当量以每毫克湿质量中所含千克数为单位。

表 18: 在联合国政府间气候变化专门委员会的《第四次评估报告》(AR4)、《第三次评估报告》(TAR) 及《第二次评估报告》(SAR) 中列示的 100 年期间甲烷与一氧化二氮全球升温潜能值比较表

报告名称	参照 资料	甲烷	一氧化二氮
《第五次评估报告》(AR5)	[IPCC 2013]	28	265
《第四次评估报告》(AR4)	[IPCC 2007]	25	298
《第三次评估报告》(TAR)	[IPCC 2001]	23	296
《第二次评估报告》(SAR)	[IPCC 1996]	21	310

4.16 通过光学遥感法测定沼气工程的总排放量

塔尼亚·韦斯特卡普 (Tanja Westerkamp), 德国生物质研究中心

状态	建立了用于检测畜牧业和垃圾填埋场排放量的测定方法。 该测定方法的应用符合适用的 VDI 指南 (参见相关标准) 的要求, 且在测量技术和模拟方面不断获得进展。
相关标准	VDI 4285 指南
该方法的应用领域	定量测定扩散与空间扩散性排放源
该测定方法的局限性	此测定方法不能实现单个排放源的定位, 测量装置检测下限不够理想, 对气象条件具有一定依赖性。
优势	此测定方法可检测排放源区域下风向中的甲烷浓度与氨浓度, 且能够测定整个场地的排放率。
研究的必要性	需要研究微气象模拟模型的局限性。

除固定排放源之外 (例如来自热电联产发电厂的废气或气体处理过程), 沼气工程也存在扩散源。这些排放源包括从敞口存放的底物与消化液所产生的气体的泄漏、扩散以及排放。对于沼气工程总排放量的检测, 光学遥感法是一种适当可行的方法。在可调谐二极管激光吸收光谱仪 (TDLAS) 的帮助下, 在地面大气层中超过数百米长的测量路径中可测定出工厂下风中甲烷浓度与氨浓度。与此同时, 还需记录浓度测量点处的天气条件, 在此过程中借助于三维声波风速计测量风速具有决定性的重要意义。将测量值输入 Windtrax 模拟软件后, 可通过反向色散法确定该工厂的排放速率。

测量技术

原则上, 对于长距离大气中气体浓度的测量, 多种测量方法都具有适用性。本章中介绍的是可调谐二极管激光吸收光谱系统与配备三维声波风速计的气象站相结合使用的综合法。这些设备如图 21 所示。

可调谐二极管激光吸收光谱法

分子具有一定数量的振动模式, 具体视其结构与复杂性的不同而异。通过吸收位于中红外区内的光可激发分子内部的振动跃迁。此外, 谐波泛音出现在近红外区。特别是有机分子在此光谱范围内具有特征吸收光谱。借助于半导体激光二极管, 可以在几纳米的范围内测量某些分子的各个吸收线, 以便确定激光光路中目标物质的浓度。根据比尔-朗伯定律, 激光束的强度取决于波数, 该波数是激光的倒数波长, 如下所示:

图 21a:
气象站
(资料来源: 德国
生物质研
究中心)

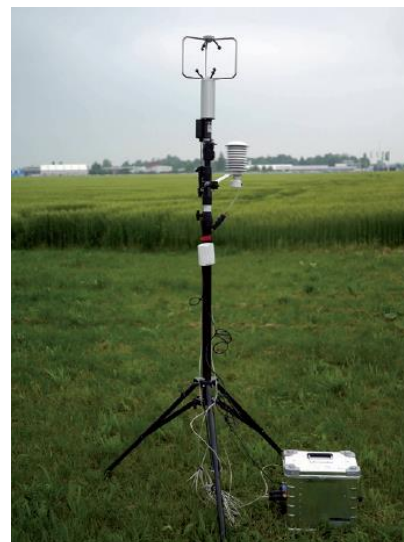




图 21b: 左侧为激光光谱仪, 右侧为反射模块 (资料来源: 德国生物质研究中心)

$$I(\tilde{\nu}, L) = I_0(\tilde{\nu}) \exp(-\sigma(\tilde{\nu}) NL) = I_0(\tilde{\nu}) \exp(-S \phi(\tilde{\nu} - \tilde{\nu}_0) NL) \quad (18)$$

I	传递强度
I_0	输出强度
$\tilde{\nu}$	波数
σ	吸收截面
N	颗粒密度
L	光程长度
S	线型粗度
ϕ	线型函数
$\tilde{\nu}_0$	线中心波数

除吸收谱线的厚度与形状之外, 吸收路径的长度 (即激光器与检测器之间的距离) 和待测气体的密度也会对吸收强度产生影响。因此, 它直接取决于光束路径中的分子数量。在待测气体呈均匀空间分布的情况下, 分辨率会随吸收路径长度的增大而获得改善。有鉴于此, 测量路径应该尽可能长, 但是为获得最佳分辨率, 不应在被喷射羽流区域之外延伸得太远。图 22 示意性描绘了这些事实。

加拿大博雷尔仪器公司 (Boreal Laser Inc.) 生产的开放光路型可调谐二极管激光吸收光谱仪被用于甲烷与氨浓度的测定, 其分辨率以 1 百万分比浓度*米为单位。因此, 如果光程长度为 10 米, 则其分辨率将会是 0.1ppm; 如果测量路径为 1,000 米, 则其分辨率为 0.001ppm。然而, 随着路径长度的增加, 大气干扰的影响会相应增大。200 米长度路径的检出限以 0.03 ppm 为单位来表示。

该系统经特别设计，激光器和用作检测器的光电二极管位于共用的壳体中。其中心元件是适用于相关目标气体的激光二极管。该系统的激光束撞击光束分离器，当一束粒子束离开壳体并穿越待测空气后，会被反射器模块反射，反射距离最远可达 500 米。随后，该光束会在重新进入壳体时被光电二极管检测到。光束的另一部分将穿过一个对照单元。此外，该系统还使用另一个光电二极管检测穿过对照单元的光束。随后，对比测量信号和参考信号，以此确定测量路径上的气体浓度。通过此种方式可实施连续校准。借助软件控制的摇摄与倾斜装置，激光器可以依次自动指向多个反射器单元。测量分析所需的设备是激光测距仪，其量程最远可达 500 米。

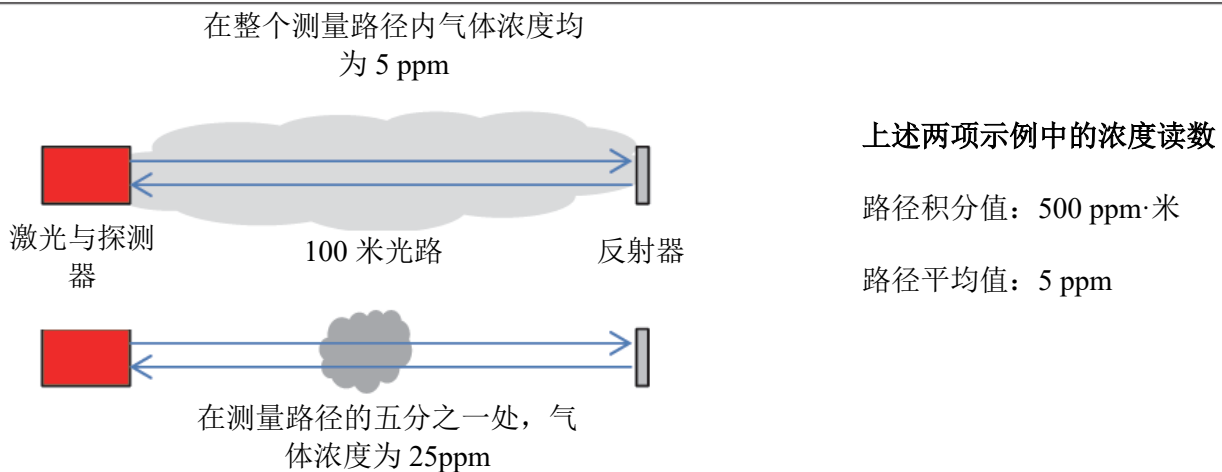


图 22：路径积分浓度与路径平均浓度的信息示意图

（资料来源：德国生物质研究中心）

气象站

为根据测量的浓度确定排放率，近地面风况的测量是不可或缺的环节。如果能够使用 Windtrax 模拟软件完成计算，则三维声波风速计是理想之选。此外，还必须记录测量点的环境温度和压力。

测量设置

为估算生物甲烷厂的总排放量，较长测量路径被设置在工厂的下风羽中，高度约为 1 至 2 米。根据工厂的规格、距工厂的距离及风速，光谱仪与反射器之间的距离范围可以在约 100 至 500 米之间。此外还必须考虑到的一点是，应该在距离工厂足够远的范围内开展测定工作，其目的是避免在浓度测量点处产生湍流干扰。不过测量点不应选在距离工厂太远处，因为待测气体的浓度会随距离的增加而相应减小。由于额外结构物或树木都可能对测量过程产生干扰，因此可能无法对所有工厂和任何风向进行无干扰测量。此外，还必须始终澄清在相邻区域中设置测量设备的各种可能选项及其可靠度。在夏季，高大的农作物（例如玉米）可能成为一种障碍。此外，测量背景浓度也至关重要。为此，在测定中还必须加以特别考量的一点是，甲烷本来就存在于大气中。由于甲烷浓度存在昼夜变化的规律，因此建议在一天中的不同时间段测量背景浓度。

反向分散建模

基于拉格朗日随机扩散模型的正向和反向分散算法（德国科学技术协会指南 VDI-3945 BLATT 3-2000；舒尔曼[Schürmann]，2007；维萨拉[Vesala]等人，2008；威尔逊[Wilson]与索尔福德[Sawford]，1996）已经在许多领域完成评估并获得应用。在此类模型中，粒子被视作在沿轨迹的路径上分布，因此分析人员需从粒子角度来看飞行路径。如果考虑具有一定影响作用的气象参数，则模拟多个上述轨迹可实现排放流量的定量测定。此外，我们还必须区分正向模型和反向模型这两种不同手段。

正演计算拉格朗日模型可用于确定来自既定点源或面源的物质的离散度。例如德国《空气质量控制技术规范》（TA LUFT，2002）就要求采用这种方法。该方法在其一项示例性中实现 AUSTAL 2000 大气扩散模型软件（ING.-BÜRO JANICKE 工程师办公室，2011）的使用。然而，如果想要在正演模型的帮助下从浓度测量值推导出漫射源的光源强度，考虑到大量模拟粒子不会通过浓度测量点，此种方法会占用大量的中央处理器（施密特[Schmid]，2002）。因此，为获得具有统计意义的结果，必须测量大量轨迹，尤其是在面源的情况下。

弗莱施（Flesch）等人因此于 1995 年开发出一种从浓度测量点开始向后倒推的反演算法。该模型从浓度测量点开始反演模拟了数千个空气块的飞行路径，并确定了每个空气块最后触地的位置。通过这种方式得到了触地结果的分布表。当排放源的位置和规格为已知条件时，可计算出由触地点覆盖的分数。截至目前，这种方法已发展成为反向拉格朗日随机扩散（bLS）模型，并可用免费的 Windtrax 软件（海滩雷暴科技公司[Thunder Beach Scientific]，2011）完成计算。此方法的一大优势在于其简单快捷的测试设置。下风羽中浓度测定可以在离地面一到两米的高度处进行（哈珀[Harper]等人，2011）。

除了浓度测量值和源区域的位置、大小和形状之外，Windtrax 软件中的计算还需使用如下气象输入数据：温度、环境压力、风向及三维风速。当使用三维声波风速计时，需根据这些数据计算出模拟所需的所有微观气象参数，其中包括粗糙度长度 z_0 、奥布霍夫长度 L_0 、摩擦速率 u^* 以及风速的标准偏差。粗糙度长度是指受对数律风廓线影响，风速在地面大气层中消失的高度。它取决于地面的特征和植物覆盖高度，可根据靠近地面的湍流场的结构来确定（科分[Foken]，2003）。奥布霍夫长度是大气稳定性的一个量度，它旨在界定动态、热量和浮力提升过程之间的关系。在稳定分层的情况下（例如在晴朗的夜晚），奥布霍夫长度（ L ）为正数。而在不稳定的分层的情况下（例如在阳光明媚的下午），奥布霍夫长度（ L ）为负数。在中性分层的情况下（例如在空中多云和/或存在强风时）， $|1/L|$ 接近于零。摩擦速率与风速有关，是近地面水平运动中垂直运输的一个量度。

诸多实验都已证明 Windtrax 软件非常适合用于测定弥散性排放，但需同时考虑到某些限制条件。例如，人们在不同的气体释放实验中对该方法进行了测试，参见示例（克莱纳[CRENNA]等人，2008；弗莱施[FLESCH]等人，2005a；高[GAO]等人，2010；麦吉尔[MCGINN]等人，2006）。随后将计算所得的气体量与实际气体释放量进行比较。然后对从 12 项此类研究中得到的结果进行汇总，得出排放量计算值与实际气体排放量的关系平均值为 98%。标准偏差的平均值为 21%（哈珀[HARPER]等人，2010）。此外在另一项研究中，通过这种方法，确定了牛群（劳巴赫[LAUBACH]与凯利赫[Kelliher]，2005；劳巴赫[LAUBACH]，2010）和牛棚（弗莱施[FLESCH]等人，2005b）的排放量，以及用于生产生物乙醇的养猪场（哈珀[HARPER]等人，2010）和沼气工程（弗莱施[FLESCH]等人，2011）的排放量，并将部分结果与其他方法进行了比较。

在使用 Windtrax 软件借助反向分散建模来确定沼气工程排放率的过程中，会产生如下限制（弗莱施[FLESCH]等人，2004）：

- Windtrax 软件的数学模型系基于莫宁-奥布霍夫（Monin-Obukhov）相似理论。由此，确实产生了对模型适用性的限制。经验表明，只有在 $u^* \geq 0.15 \text{ m/s}$ 且 $L \geq 10$ 米时，该模型的测量值方才具有可用性。
- 作为地平面面源的理想化三维结构要求浓度测量点与排放源之间的距离大约是障碍物高度的十倍。此外，结构物对风场的干扰也需要测试过程切实满足该距离的要求。
- 与此同时，排放源和测量点之间的距离还应足够小，以便在考虑背景的情况下确保浓度测量具有足够的精确度。
- 此外还需要定位测量装置，以确保轨迹的有效影响区域至少覆盖排放源区域的 50%。在测量期间风向改变的情况下尤其要注意满足这一点。
- 建议计算在 10 到 30 分钟的时长范围内测量值（浓度和气象数据）的平均值。

测量结果

浓度测量值以路径积分浓度来表示，其单位为百万分比浓度*米。根据这一定义，当空气中背景浓度为 2ppm 且路径长度为 500 米时，路径积分浓度应为 1,000ppm*m。如果假设能见度良好，则本例中的测量精度将为数个 ppm*m。此外，长度的测量精度为 1 米。通常可以很好检测到超过 10ppm*m 的自然背景偏差。对于上述示例，这意味着可以在测量路径上检测到 20 个 ppb 的平均浓度增量。

近地面大气层中氨的背景浓度极低，但具体取决于地面植被的情况。这些值接近测量装置的检出限。

为了能够证明由于沼气工程引起的浓度增加，应该存在至少达 20ppm*m 增幅的测量值。

系统排放测量值的增加与跟工厂之间的测量距离和风速都有直接关系。如果没有微气象扩散模型，就不可能根据浓度测量值直接阐释排放率的情况。Windtrax 软件具有图形用户界面，能够给用户展示测量设置的示意图。用户可通过输入文件上传浓度测量值和天气数据进行测量。建议浓度测量值取 10 至 30 分钟的测量平均值。此种模拟可能会持续数分钟到数小时，具体视 CPU 功率、模拟粒子数量及测量序列数量的不同而异。测定结果可写入一份输出文件。采用此种做法，可以获得工厂的排放率（例如以 kg/h 为单位）和相应标准偏差率。此外，据此确定的微气象指标是模拟质量的附加指标。可以通过测定排放速率、标准条件下待测气体的密度和工厂的生产率计算得到各工厂的排放因子。

5 物理参数的测定方法

5.1 粒度分布

马克·林克 (Marc Lincke), 卡琳·乔布斯特 (Karin Jobst), 德国弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所 (Fraunhofer IKTS)

现状	开发/验证
相关标准	参考 ISO 13320 (2009) 与 ISO 13322-2 (2005)。
适用领域	<ul style="list-style-type: none"> ■ 底物类型: 任何成分的生物源底物 ■ 总固体含量范围: 0%–100% ■ 该方法的局限性: 粒径测量范围 (0.1μm-20nm) ■ 优势: 操作简便、测试性能稳定可靠且测量范围广
研究的必要性	有待进一步研究与统计分析, 用已知粒度组成的模型底物进行验证, 并结合相应的质量守恒计算

在沼气生产过程中的底物、中间产物和残留物组成非均质的材料系统。这些系统颗粒形状与纤维结构不规则, 且粒度分布相对宽广。因此, 最佳粒度状态相关知识的掌握及调整, 对于评估与优化生物工程与工艺具有重要意义, 能够为提高沼气产量做出贡献。特别在系统中有难以分解且持续存在的底物时, 粒度状态会对底物的生物可分解性与粘度产生直接影响, 因此粒度状态会直接影响发酵底物的混合质量。

德国弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的研究团队作为欧盟和德国萨克森自由州资助的联合项目中的一部分, 为上述材料设计出一种测定方法, 并在此基础上编制相应的测定指南。该科学测定法整合了多种不同测定方法, 并将每种测定方法测得的特定结果合并汇总成为一张粒度分布曲线图。通常情况下, 沼气发酵厂使用的材料系统的粒度分布范围较为宽广, 粒径在几微米到几厘米不等, 因此单独使用任何一种测定法都不能满足粒度测定的需求。在这种情况下, 整合多种不同的测定方法就变得十分必要。首先, 将经脱水和烘干处理之后的底物碾碎, 然后过筛孔尺寸为 1 毫米的筛, 分制成底物粗颗粒和底物细颗粒。其中底物粗颗粒粒径大于 1 毫米, 而底物细颗粒粒径则小于 1 毫米。然后采用激光衍射光谱法测定底物细颗粒的粒径分布, 并采用定量图像分析技术分析底物粗颗粒的粒径分布。如需了解此测定方法的详情, 参见下文。图 23 描绘了根据弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的测定指南而开发的粒度分析基本原理。

目前，陶瓷技术和系统研究所正在对该测定方法进行验证，以期为该技术的大规模推广奠定基础。

采样与样品制备

为确保分析结果的准确性，首先必须确保所采集的样品具有充分代表性，也就是说，样品应该能够尽可能全面地反映青贮窑和/或消化池中底物的理化性质，这一点至关重要。基于以上考虑，该方法遵照 VDI 4630 指南的要求，完成样品的采集、贮存及运输。

材料与设备

- 分选筛（筛孔尺寸为 1 毫米）
- 烧杯
- 天平
- 干燥柜
- 激光衍射粒度分析仪（Mastersizer S2000）
- 定量图像分析仪（FibreShape/QicPic）

测定方式

采用分选筛（筛孔尺寸为 1 毫米）将待测底物分制成底物粗颗粒和底物细颗粒。为此，将一定数量的底物（具体数量取决于底物类型）放置在分析筛上并用水冲洗，直到已过筛的残余滤液中不再存在肉眼可见的颗粒物。分析底物粗颗粒时，需要至少 3,000 个可评估颗粒物。弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的研究成果表明，粒度分析中所需的样品用量与冲洗水量可能会由于底物本身特性的不同而存在巨大差异。取过筛后的滞留筛出物放置在干燥箱中烘干至恒重。

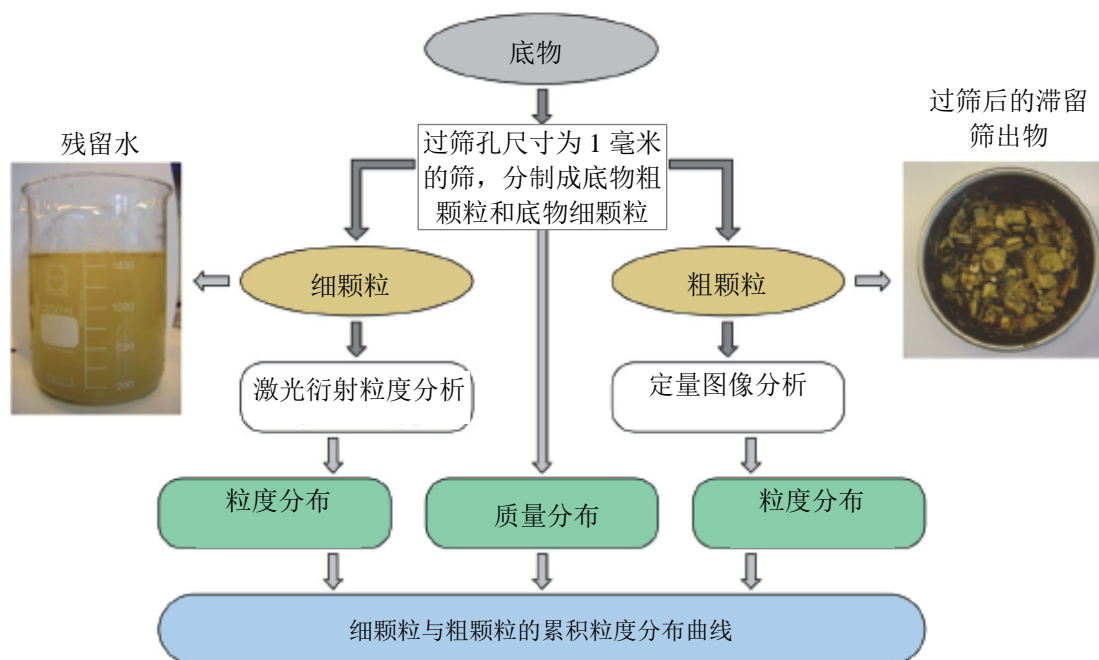


图 23：粒度分析基本原理（资料来源：IKTS）

无论底物粗颗粒和细颗粒的粒度分布如何评估，都可使用如下所示方程 19 来计算底物粗颗粒所占的比例，并将在底物粗颗粒所占比重与干残渣比重之间构建关联，而干残渣比重可根据 DIN 38414 标准第 2 部分的规定进行计算。

$$CS = \frac{(m_{\text{筛与干燥样品}} - m_{\text{空筛}}) \cdot 100}{DR \cdot m_{\text{含量}}} \quad (19)$$

CS	粗颗粒的重量百分比	(% 干残渣)
$m_{\text{空筛}}$	空筛的质量	(克)
$m_{\text{SieveDried}}$	带已干燥样品的筛的质量	(克)
DR	干残渣	(%)
$m_{\text{含量}}$		(克)

冲洗过筛后滤液中细颗粒的粒度分布采用激光衍射粒度分析仪直接测定。在该测定方法中，单色激光束被悬浮液中的颗粒物衍射，因此可根据衍射光信号的强度间接求出细颗粒的粒度信息。这是因为激光束衍射光的光强与颗粒的粒径成反比，即粒度较大的颗粒会产生较弱的激光束衍射光强。此测定方法借助不同角度安装的光电探测器来测量衍射光光强。根据光衍射原理，研究人员可根据所获的衍射图像来计算颗粒物的粒度分布（角度依赖性光强分布）¹。该测定过程参考内部测定指南和 ISO 13320 标准。依据光衍射法测得的激光衍射强度，计算出等体积径粒度 X_{EQPV} ，其可以表示密度分布 $q_3(X_{\text{EQPV}})$ 或累积分布 $Q_3(X_{\text{EQPV}})$ （分布量类型：按体积分布）。为了进一步开展研究，此测定法假设球体直径 X_{EQPV} 与等投影面直径 X_{EQPC} 相等。目前，陶瓷技术和系统研究所正在开展一系列基于生物质底物的验证研究，用于判定这一基于经验的测定法的可信度。此外，该测定法还使用计算机定量图像分析技术进行分析处理，以此测定底物粗颗粒的颗粒大小分布与颗粒形貌特征。该测定过程根据内部测定指南执行，测定的目的在于获得颗粒物粒径谱的分布特征（ Q_0 ）。

数据分析

整合两种粒度分布曲线的先决条件，是这两种测定方法的测定范围应存在相互交叠的现象，即细颗粒的最大粒度必须等于或大于粗颗粒的最小粒度。此外，两个粒度分布函数必须是标准正态分布函数，且具有可供比较的分散度参数和/或粒度参数。

为满足上述要求，需要计算粗颗粒粒径分散度和分布量之间转换的分布函数。为此，首先需根据单一不规则颗粒的几何性质直接测定和定义粒径。在此测定方法中，取与所测颗粒具有相同投影面积的球形颗粒的直径为该颗粒的粒径，即等效投影面积直径 X_{EQPC} （参见图 24），然后根据该等效投影面积直径描绘出频率密度分布曲线 $q_0(X_{\text{EQPC}})$ 和/或该特定分布量类型（按个数分布）的累积粒度分布曲线 $Q_0(X_{\text{EQPC}})$ 。

¹ http://www.malvern.de/ProcessGer/systems/laser_diffraction/technology/technology.htm（2011 年 12 月 21 日）

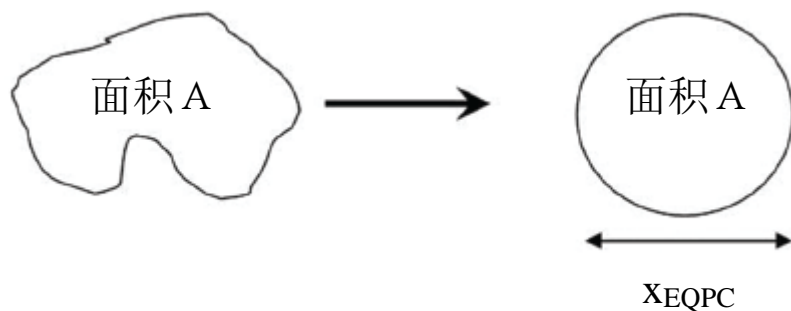


图 24: 等效投影面积径 (X_{EQPC}) (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

在完成颗粒等效投影面积直径的计算后, 根据以下公式换算分布量的类型, $e=0$ (计数) 时, $r=3$ (按体积分布)

$$q_r(x) = \frac{x^{r-e}}{M_{r-e,e}} \cdot q_e(x) \quad (20)$$

$$M_{r-e,e} = \int_{x_{\text{最小}}}^{x_{\text{最大}}} x^{r-e} \cdot q_e(x) dx \quad (21)$$

$$Q_r(x) = \int_{x_{\text{最小}}}^x q_r(x) dx \quad (22)$$

x	粒径
$q_r(x)$	频率密度分布
$Q_r(x)$	累积分布函数
$M_{r-e,e}$	闭合矩
下标 e	与已测得的分布量类型相关的信息
下标 r	与待测分布量类型相关的信息

如果经过上述测定与转换后能够同时获得在相同分布量类型下的细颗粒粒度分布与粗颗粒粒度分布, 且这两种颗粒的粒度分布具有相同的分散参数, 根据软件工具和粗颗粒底物百分比 (方程 19), 可以将各个频率密度分布函数和/或累积粒度分布函数汇总成一个单一的频率密度分布函数和/或累积粒度分布函数 (参见图 25)。

研究的必要性

此测定法有待进一步研究与统计分析。即, 将此测定法广泛应用于具有已知粒度组成的底物, 结合相应的质量守恒计算, 对此类底物进行建模。

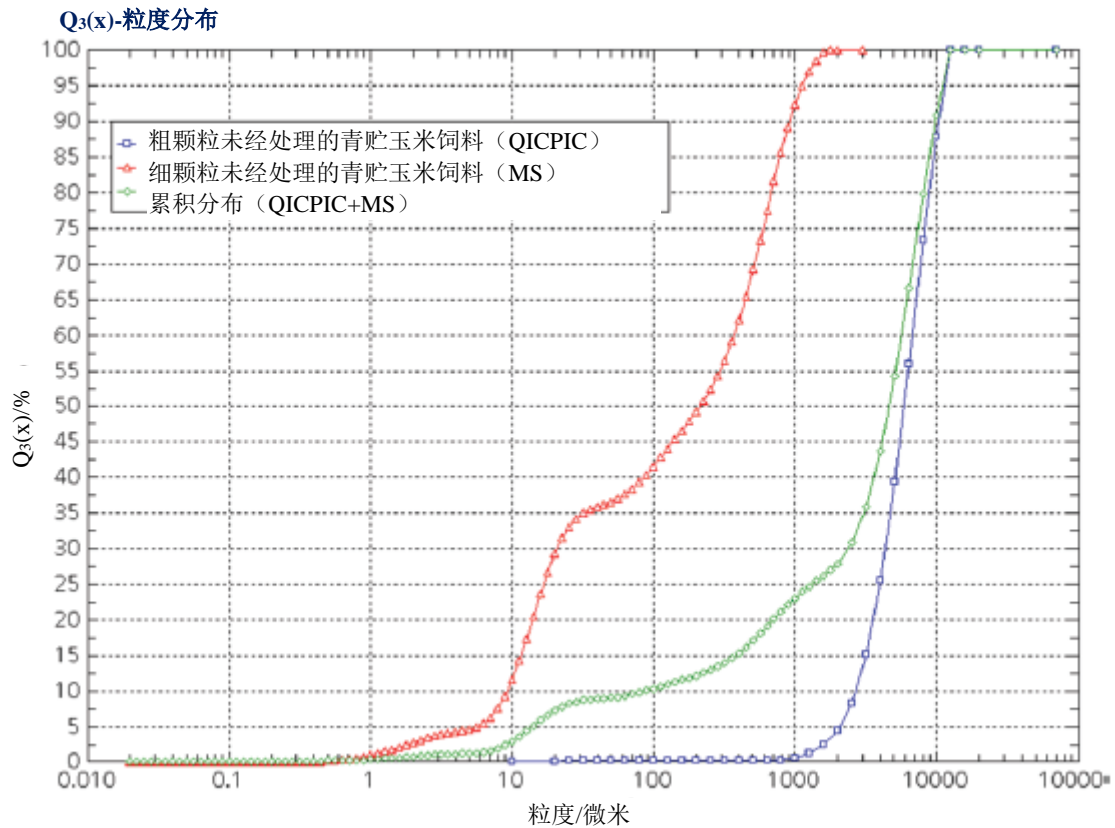


图 25: 未经处理的青贮玉米的累积粒度分布 $Q_3(x)$ （资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

5.2 表面张力的测定

露西·默勒（Lucie Moeller）、卡蒂·戈驰（Kati Görsch），UFZ

现状	此测定法符合通用标准的要求。
相关标准	环法、板法及分离法
底物/材料	此测定法仅适用于总固体含量不超过 6% 的样品。
测量范围	0.1–100 mN/m
缺点与不足	对于在两相体系下样品（例如油水两相体系），可在测定时在注射器中分离两相混合物。
优势	不会遇到润湿问题。 仅需少量样品（0.25 至 5 毫升）
研究的必要性	此种测定方法无需进一步研究。

液体的表面张力与表面活性物质的存在相互关联。而溶液的表面张力越小，就越有利于泡沫的形成。为测定发酵原料的发泡趋势，采用液滴体积法来测定发酵原料的表面张力。液滴体积法的测定原理是通过在毛细管管口形成液滴，测定从液滴形成到成滴下落的持续时间，而这一时长取决于待测液体的表面活性。

样品的处理

测定液体表面张力时需将样品离心后，取其上清液进行测定。为此，用注射器吸取液体样品转移至 50 毫升离心管中，在 20°C 温度与 5,300rpm 转速的条件下离心处理 20 分钟（设备为美国贝克曼公司的 Avanti 30 离心机）。离心后，使用筛孔尺寸为 750 微米的筛网滤过上清液。此外，为计算表面张力还需测定样品的密度。为此，通过量取特定体积的离心上清液来测定其质量（至少应针对所测样品溶液重复测定三次，测定结果取三次的平均值）。

测定过程

此测定方法中所使用的测量设备是液滴体积张力计（设备为德国劳达公司生产的劳达[Lauda] TV T-1 型液滴体积张力计）。该体积张力计安装有劳达软件 2.2 版（由德国劳达公司研制）。使用张力计测定样品溶液的表面张力时，首先需要用注射器吸取约 2 毫升的离心上清液，转移至液滴体积张力计中，26°C 条件下加热处理不少于 5 分钟。此外，为计算液体表面张力，还需在软件中输入样品密度的数据。在测定液体表面张力时应选用以下参数：STD 标准模式（滴速恒定的标准模式）和还原模式（单个液滴的均匀形成）。在测定过程中，测量总计 8 滴的单个液滴，取其平均值为表面张力的测定结果。有关测定方法的详细信息，参见劳达设备的操作手册。

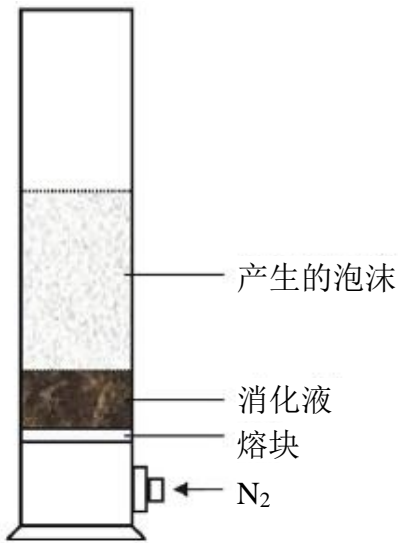
5.3 以气泡试验法测定发泡潜能

露西·默勒（Lucie Moeller）、卡蒂·戈驰（Kati Görsch），UFZ

现状	此测定方法专为测定活性污泥的发泡趋势而开发。
底物/材料	无任何限制
该测定方法的局限性	过滤器易堵塞，需及时清理。
研究的必要性	此测定方法无需进一步研究。

厌氧消化过程经常受泡沫问题的影响。在厌氧消化池中产生的泡沫可能会导致一系列严重的运行问题（默勒[MOELLER]与戈驰[GÖRSCH]，2015）。然而，对于厌氧消化过程中泡沫形成影响因素的探究还属于一个比较新的研究领域。为提高发酵罐的消化处理能力，必须研究和开发底物发泡趋势的新型测定方法。此外，还需研究并检验其他专业测定法在厌氧消化领域的应用适应性。为此，可采用气泡试验法来评估活性污泥的发泡趋势或评价消泡剂的有效性。

测定方法描述



借助泡沫发生装置，我们可以测定液态混合物的发泡趋势。此测定方法使用的泡沫发生装置是一个量筒，并在量筒底部区域配备一个用于引入气体的扩散器组件（图 26）。

将 50 毫升的液体混合物转移至量筒中。此液体混合物可以是发酵原料或稳定发泡的模型，其稳定性与沼气工程中常见泡沫的稳定性相当，例如 0.5% 的蛋白质粉水溶液。通过在既定时间（5 分钟）内注入氮气（排量为 10 L/h），可在上述液体混合物中触发泡沫形成过程。发泡趋势、发泡潜能及泡沫稳定性等指标都可根据泡沫生成的难易程度、生成泡沫量的多少及其持久性来判定（甘尼地[GANIDI]，2008）。

图 26：用于测定液体混合物发泡潜能的泡沫发生装置示意图（资料来源：UFZ）

液体混合物的**发泡趋势**用通气 5 分钟后所产生泡沫的高度和发酵原料总固体含量（以克为单位）的比值表示。具体计算公式如下：

$$\text{发泡趋势} = \frac{h_{\text{泡沫}} [\text{毫米}]}{m_{\text{总固体}} [\text{克}]} \quad (23)$$

液体混合物的**发泡潜能**用通气 5 分钟后所产生的的泡沫体积与气体流速（FN2）的比值。具体计算公式如下：

$$\text{发泡潜能} = \frac{V_{\text{泡沫}} [\text{毫升}]}{F_{\text{氮气}} [\text{mL/min}]} \quad (24)$$

泡沫稳定性为同期结束后 1 小时所产生的泡沫体积与气体流速（FN2）的比值。具体计算公式如下：

$$\text{泡沫稳定性} = \frac{V_{\text{泡沫}, t=1 \text{ 小时}} [\text{毫升}]}{F_{\text{氮气}} [\text{mL/min}]} \quad (25)$$

此气泡试验法可用于评估消泡剂的有效性等指标。有鉴于测量结果的良好一致性和再现性，模型泡沫非常适合用于评价消泡剂的有效性。通过气泡测试，可以轻松看到各种消泡剂的效果（图 27）。但在采用气泡试验法测定消泡剂性能时，应确保起泡溶液（蛋白质溶液）与消泡剂的混合比例与沼气工程常规生产中常用的混合比例完全对应（例如体积百分比为 0.002%）。然后，通过对比未加入消泡剂时液体混合物的起泡量和加入消泡剂后液体混合物的起泡量，最终评价消泡剂的消泡性能。为确保结果的准确性，每次测试应至少重复两次。



图 27：采用泡沫发生模型的泡沫发生装置

5.4 莱比锡泡沫特性测试仪——用于测定底物发泡趋势的测定装置

露西·默勒（Lucie Moeller），伊冯娜·科斯特（Yvonne Köster），安德烈亚斯·泽恩斯多夫（Andreas Zehnsdorf），UFZ

现状	可向艾斯曼与斯德博有限公司（Eismann & Stöbe GbR）购买该设备。
该方法的应用领域	用于中温和高温条件下的湿发酵
底物/材料	发酵原料的总固体含量应小于 12%。此测定方法可用于测试所有底物，但在某些情况下需首先将底物分解后再行测试。
该测定方法的局限性	截至目前尚未发现任何缺点。
优势	莱比锡泡沫测试仪可用于发酵使用前关键底物的检验、沼气工程起泡原因的诊断以及安全测试模式的优化。
研究的必要性	此种测定方法无需进一步研究。

在厌氧消化产沼气过程中，因出现泡沫而导致生产中断的现象时有发生，这已成为沼气生产中断最常见的原因。尽管泡沫生成对沼气工程运行的严重不良影响早已众所周知，然而在沼气工程中往往并不了解泡沫形成的真正原因。在使用生物残余物或生物废弃物作为发酵原料的沼气工程中，泡沫问题更为严峻，会严重干扰沼气工程的运行（默勒与戈驰，2015）。产生泡沫的主要原因可能是不断变化的底物数量与质量。



图 28: 莱比锡泡沫特性测试仪(安德烈·昆泽曼 [André Künzelmann])

此测定法的突出优势在于,在向消化池中投加新底物(此前不为工厂操作人员所熟知的底物)时允许操作人员方便快捷地预测新底物的发泡趋势。

测定方法描述

莱比锡泡沫特性测试仪(图 28, 默勒等人, 2015)是一种易于操作的测试套件,可用于估算底物在厌氧消化过程中生成泡沫的倾向性。此测试套件具有操作简单、使用方便等优点(无需开展复杂分析),专为工厂操作人员现场测定底物发泡倾向而设计。在投加未知底物时,将等分试样加入到活性发酵原料中,并在恒温条件下保温数小时。莱比锡测试套件的透明化设计便于操作人员直接观察泡沫的形成与发展过程。根据测试结果,工厂技术人员可进一步判断应采取何种措施来避免沼气发酵过程中出现严重的泡沫问题。

执行测试

准备措施

在准备过程中应从消化池中采集发酵原料的样品,如果发酵原料从外观看具有不均匀性,则需使用筛孔尺寸为 10 毫米的筛网滤过发酵原料。此外,了解底物的总固体含量也有助于获得更加准确的测定结果。

开展测定(图 29)

将质量浓度为 2% (w/w) 的底物(相对于底物中总固体含量)称重后加入测试瓶中,并在测试瓶中与活性发酵原料混合均匀。待测物质(发酵原料)的最终重量应约为 500 克。在此过程中,务必确保在测试开始之前将测试瓶中的内容物完全混合均匀,这一点至关重要。测试瓶配有一个具有压力释放功能的瓶盖。将测试瓶用瓶盖盖紧后,放入泡沫特性测试仪中在 37°C (中温发酵)或 55°C (高温发酵)的温度条件下培养。测试所需时长取决于发酵原料的活性和测试开始时混合物的温度。为确保测试结果的有效性,有必要进行至少持续 12 小时的测试,但测试时间最好持续 24 小时。在完成测试后,可从测试仪中移除测试瓶并评估底物的发泡强度。由于原有的发酵原料也可产生泡沫,因此还应开展对照试验(不添加新底物的测试)。

底物发泡强度的计算公式如下：

$$\text{底物发泡强度}[\%] = \frac{V_{\text{泡沫}} [\text{毫升}]}{V_{\text{总}} [\text{毫升}]} \cdot 100[\%] \quad (26)$$

蛋白质粉末可用作参考底物。但此时，应使用质量百分浓度仅为 1% (w/w) 的蛋白质粉末，因为此种粉末会产生大量泡沫。蛋白质粉末的使用使得测试不同发酵原料的发泡倾向具有切实可行性。

本章节中描述的测定方式还可通过其追溯性测定有问题底物的起泡性能，用于判定沼气发酵厂中偶发严重泡沫问题的根源。此时所使用的发酵原料应与发泡设备的发酵原料具有类似特性（中温/高温、底物基质、总固体含量）。但是发泡设备中已发泡的发酵原料不能再用于判定产生严重泡沫问题的原因。发酵原料的粘度对于投加多种底物的混合物的发泡趋势有较大影响。发酵原料的粘度越高，投加多种底物的混合物的发泡强度就会越高。由于工厂操作人员无法测定发酵原料的粘度，因此应当使用总固体含量作为衡量粘度的指标，因为总固体含量不仅会影响发酵原料粘度，而且易于测定。

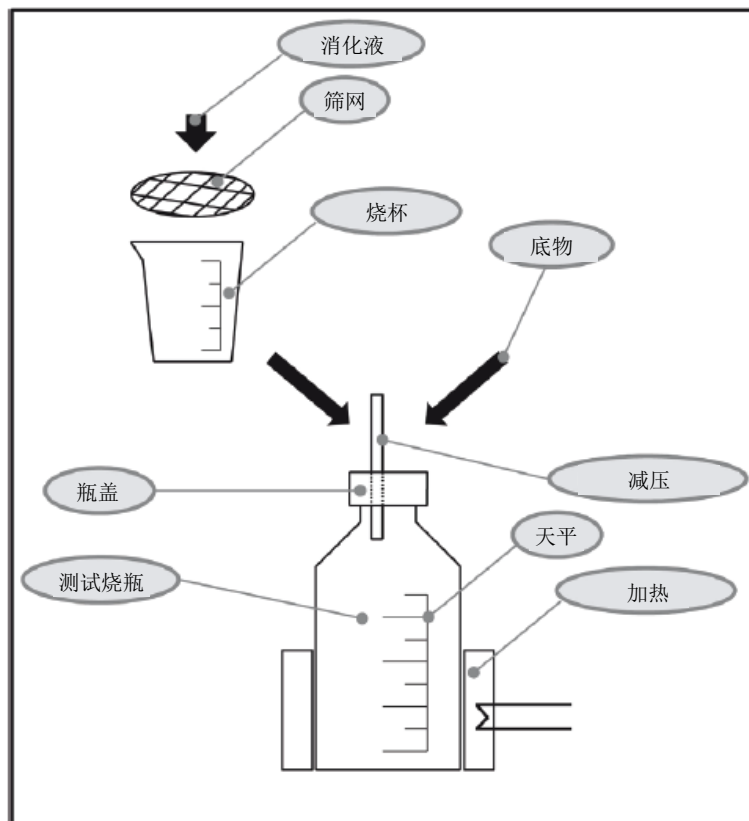


图 29：已标示各组件名称的测试设置详图

5.5 粘度

现状	处于开发与验证阶段
底物类别	生物质底物
粒度	最大长度= 50 毫米（根据测定方法的不同而异）
该测定方法的局限性	不适用于粘度变化过大的有机质
研究的必要性	<ul style="list-style-type: none"> ■ 必须使用旋转粘度计对比该测量系统的测试数据与标准测量方法的测试数据。 ■ 需要针对长纤维底物开发具有恰当几何结构的搅拌装置。 ■ 为测定表观粘度，还需研究涡流形成对扭矩的影响以及机械校准的有效方式。 ■ 需要研究将此测定方法与工业级搅拌器和泵结合使用的有效方式，因为此测定方法可提供更多控制参数。

沼气发酵所用底物与悬浮液的粘度和流动特性都能够为沼气工程中的设备选型与输送等工作提供重要的理论参考依据，并且对沼气产气量有很大影响，因此具有实际的指导意义。

由于生物质发酵原料都是成分与结构复杂的底物（高度浓缩的长纤维状物质），因此商业用测量系统不能被广泛用于评估此类材料体系的流变特性。为开发出切实可行的测定方法，许多科研机构进行了系统化测试，以下章节将详细介绍测试结果。在考察上述测量系统时，必须认识到它们在应用领域方面面临诸多限制性因素，即这些测定方法总是受限于特定的使用条件。此外，还必须注意到这些经过部分改进的测定法仍有待进一步的科学测试，因此不应被视作成熟的标准测量方法。未来，我们会适时发布进一步的验证成果与全新的深入洞见。

5.5.1 发酵底物流变特性的测定方法

曼努埃尔·布雷默（Manuel Brehmer）、马蒂亚斯·克劳默（Matthias Kraume），柏林工业大学

测定发酵底物的流变特性时，可选用不同的测定设备、测定方法及流程。在测定过程中，发酵原料的粒度、形状以及总固体含量等要素都能够为设备选型和检测技术与流程的确定提供重要的理论参考依据。然而，只有准确掌握发酵底物的流变特性，才能实现混合原料的最优操作技术（克诺赫[KNOCH], 1997），因此我们建议根据底物组成来选择合适测量系统。

旋转测试法能够快速准确地测试出剪切稀化非牛顿流体（例如发酵底物）的流变特性。为此，可选用包含驱动单元和测量单元的流变仪。而其中的测量单元则又由两个部件组成（即测量本体与测量杯）。大多数工业用**流变仪**都是根据塞尔（Searly）原理设计的应变控制性流变仪，即位于内部的测量本体（转子）在运动时，位于外部的测量杯（定子）处于静止状态。这种设计的优点在于可以通过外部静止的圆柱壁加热样品。待测样品被放置在位于内部转子与外部定子之间的空隙中。如果测量转子与测量杯之间的环形间隙足够紧密并假设圆柱壁具有粘性，则可推断内外圆筒间将形成线性速度梯度（玛莎格[MOSHAGE]，2004）。通过根据搅拌器转速 N 和/或角速度 ω 确定的旋转所需扭矩 M ，可以进一步计算出剪切应力 $\dot{\gamma}$ 和剪切速率 τ 。有鉴于不同流体的流变特性各不相同，科研人员还特别开发出适用于各种应用背景的不同测量单元。截至目前，大多数测量单元都已实现标准化和模块化。设备选型时需要区分同轴圆筒、锥板/平行板、平行板/平行板以及相对测量单元（梅兹格[MEZGER]，2006）。

同轴测量单元通常可分为同轴圆筒测量单元和双间隙测量单元。这两类测量单元都被广泛应用于工业领域和科研领域。它们不仅具有操作简便的特点，还可用于快速准确地测定剪切应力和剪切速率，同时也可用于研究温度对流变性质的影响。

关于**同轴圆筒测量单元**（参见图 30），可在国际标准 ISO 3219 和 DIN 53019 中查阅相应描述。此测量单元包括一个位于内部的测量本体（转子）和一个位于外部的测量杯，测量本体在测量杯中旋转时产生扭矩。两者均沿同一根旋转对称轴呈对称式分布。可根据以下公式计算得出剪切应力和剪切速率。

$$\tau = \frac{1 + \delta^2}{2000 \cdot \delta^2} \cdot \frac{M}{2\pi L \cdot r_1^2 \cdot C_L} \quad (27)$$

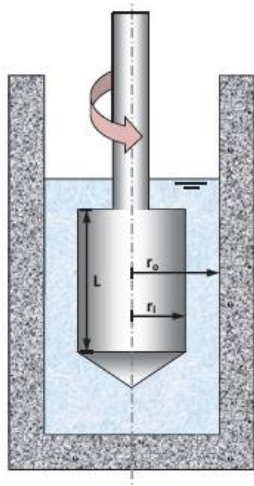


图 30：同轴圆筒测量单元（资料来源：布雷默，2011a）

$$\dot{\gamma} = \omega \cdot \frac{1 + \delta^2}{\delta^2 - 1} \quad (28)$$

公式中的常数 C_L 被称为末端效应校正因子，它主要反映待测流体作用于测量单元悬垂端面而造成的附加黏性力矩。该校正因子由各个制造商提供。此外，国际标准 ISO 3219 中还规定了外圆筒与内圆筒半径比的最大允许值 δ ，具体要求如下：

$$\delta = \frac{r_o}{r_i} \leq 1.2 \quad (29)$$

通常，文献中描述的流体流变特性或层流状态以动态粘度系数 q 为量度，而不是以剪切应力为量度。动态粘度系数代表推动力的分子运输系数（克劳默[KRAUME]，2004）。在非牛顿（n-N）流体中，剪切应力与动态粘度系数之间的关系如下所示：

$$\tau = \eta_{n-N} \frac{dv_x}{dy} \quad (30)$$

动态粘度系数的大小与速度梯度成正比。在这种情况下，粘度通常被称为表观粘度。

$$\eta_{n-N} = f\left(\frac{dv_x}{dy}\right) \quad (31)$$

如上文所述，流变仪同轴测量单元不仅可以是同轴圆筒测量单元（在转子和定子之间存在一个环状空间），也可以是双间隙测量单元，即**具有双环状间隙的同轴测量单元**。在此类测量单元中，测量圆筒是一个空心圆筒。标准 DIN 54453 中提供了有关此类测量圆筒的确切描述。

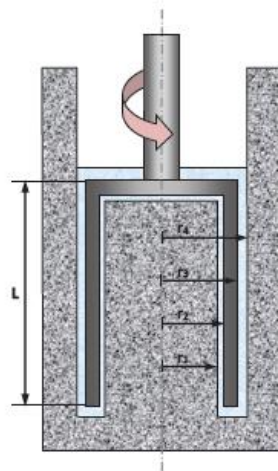


图 31：双间隙测量单元（资料来源：布雷默 2011b）

经特别设计后（参见图 31），该测量单元有四个润湿表面且其间隙宽度 $\delta \leq 1.15$ 毫米。因此，此测量单元能够在较低转速下产生较高的剪切速率，因此可用于测定低粘度流体（ $\eta < 100$ 毫帕斯卡·秒）的流变特性。此外，还可根据方程 32 与方程 34 计算出流体的剪切应力和剪切速率，这些计算值因扭矩与角速度的不同而异。

$$\tau = \frac{1 + \delta^2}{(\delta^2 \cdot r_3^2 + r_2^2)} \cdot \frac{M}{4000 \cdot \pi L C_L} \quad (32)$$

$$\dot{\gamma} = \omega \cdot \frac{1 + \delta^2}{\delta^2 - 1} \quad (33)$$

$$\delta = \frac{r_4}{r_3} = \frac{r_2}{r_1} \leq 1.15 \quad (34)$$

然而，在底物流变特性测定（例如沼气发酵罐中底物流变特性的测定）方面，上述两类测量单元都只能被应用于十分有限的领域。它们在实践应用中受限的主要原因，是内外筒间距过于狭窄，因而只能用于测定底物的液相。待测物中的固体组分可在物料流动的情况下对圆筒壁面产生摩擦力，使得实际的扭矩大于上述公式所预测的值，从而导致测得的粘度值偏大。具体参见图 33 中双间隙测量单元的示例性粘度变化趋势图。然而，对于发酵底物（例如污水污泥、脂肪及湿法发酵技术中使用的生物质残余物）粘度的测试，上述两类测量单元可提供可靠的测量结果（参见图 32 和图 33）。需要特别说明的是，这里所说的发酵底物是絮状物或固体含量极低的底物。此外，同轴圆筒中出现的各种扰动也会影响粘度测量结果的准确性，这些扰动包括但不限于泰勒涡旋、沉降效应或絮凝物破坏以及因此而引发的测量触变性等。梅兹格（2006）的研究结果表明，根据经验，体系中颗粒粒径不应超过间隙尺寸的十分之一。

除同轴测量单元之外，如上文所述，我们也可使用相对测量单元来测定流体的流变特性。与同轴测量单元相反的是，相对测量单元没有明确定义的剪切条件（梅兹格，2006）。为此，应使用**搅拌器**加叶片的组合。与同轴测量单元相相的是，搅拌机构的输入功率取决于待搅拌流体的粘度及其他特性。可以通过性能特征描述这两者之间的依赖关系。它是无量纲功率数（也称为牛顿数 Ne ）与雷诺数 Re 之间的函数关系式。

$$Ne = \frac{P}{\rho \cdot N^3 \cdot d^5} \quad (35)$$

$$Re = \frac{\rho \cdot N \cdot d^2}{\eta} \quad (36)$$

$$Ne = \frac{C_{lam}}{Re} \quad (37)$$

输入功率 P 的计算公式可表示为:

$$P = M \cdot \omega = M \cdot 2\pi N \quad (38)$$

对于非牛顿流体, 梅茨纳 (METZNER) 与奥托 (OTTO) 于 1957 年推测指出, 如果雷诺数以有效粘度为量度, 则也可用上文所示的依赖关系来计算无量纲功率数 (方程 37)。

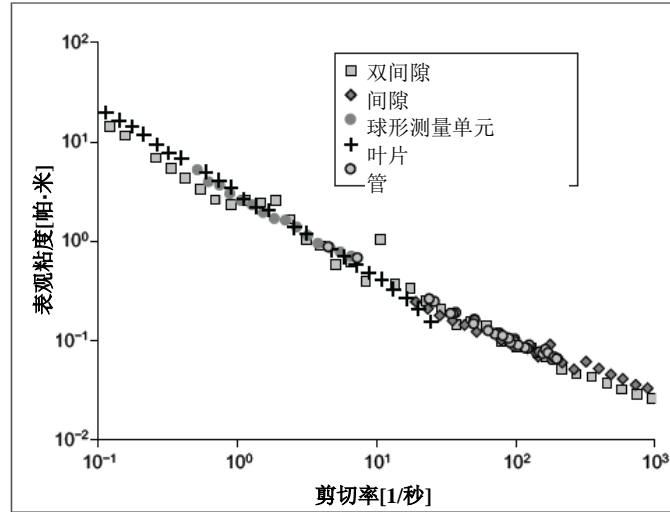


图 32: 以污水污泥为例比较不同的测定方法 (资料来源: 布雷默, 2011a)

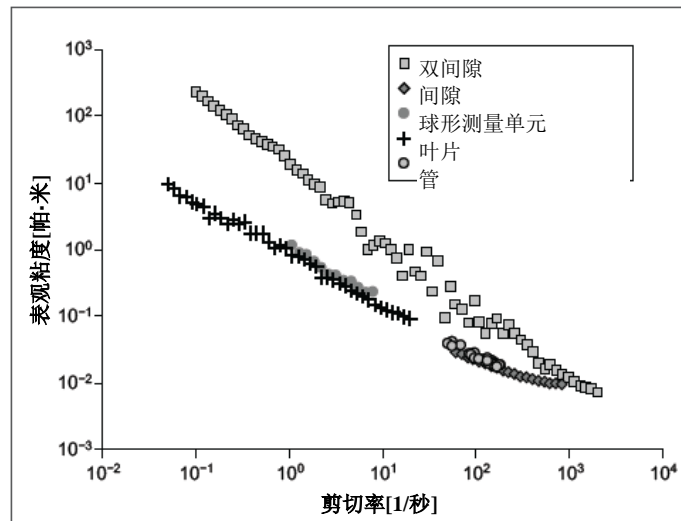


图 33: 不同测定方法的比较: 所用底物为由污水污泥、脂肪和生物质残余物组成的混合物 (资料来源: 布雷默, 2011a)

$$Re = \frac{\rho \cdot N \cdot d^2}{\eta_{eff}} \quad (39)$$

然而，为了能够用雷诺数计算出有效粘度 η_{eff} ，必须知道所用搅拌器的系数 C_{lam} ，该系数因搅拌器几何结构的不同而异。可利用粘度已知的牛顿流体预先测定该系数（参见图 34），此测定过程相对简单。

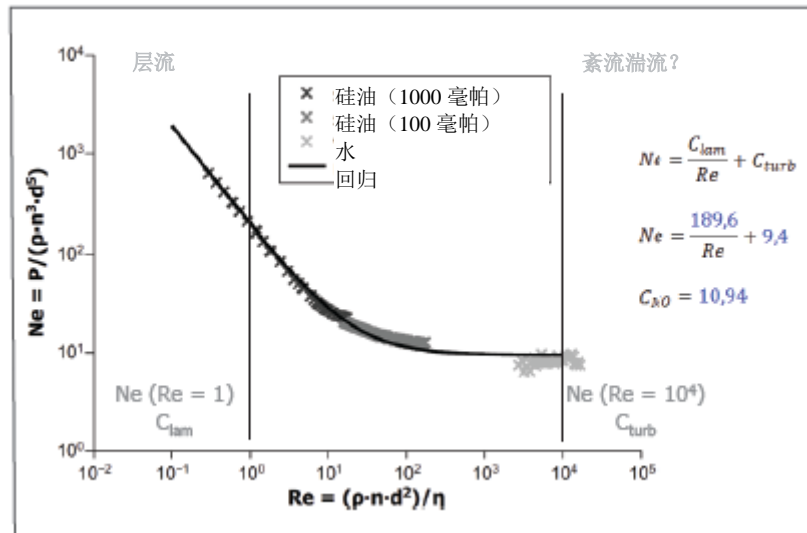


图 34: 输入功率与四叶片式搅拌器叶片雷诺数的函数依赖关系示例（资料来源：布雷默 2011b）

最后，基于 Metzner-Otto 方法（梅茨纳与奥托，1957），我们还推导出一种用于计算代表性剪切速率 $\dot{\gamma}_{rep}$ 的方法。根据该计算方法，层流区域 ($Re \leq 10$) 的代表性剪切速率与搅拌器的转速成正比：

$$\dot{\gamma}_{rep} = C_{MO} \cdot N \quad (40)$$

从方程 40 中可以看出，Metzner-Otto 常数 C_{MO} 可表示为代表性剪切速率与搅拌器旋转频率的比值。Metzner-Otto 常数是所用搅拌装置性能、流体介质流变特性、搅拌装置几何结构与直径以及搅拌釜直径的函数。也可事先利用非牛顿流体提前测定 Metzner-Otto 常数。但是用于测定的非牛顿流体，其流变特性必须已广为人知或至少易于测定。在这一领域，黄原胶水溶液是一种典型的剪切稀化非牛顿流体，可用于 Metzner-Otto 常数的测定。

另外，还必须认识到，在测定总固体含量较高（总固体含量 $> 6\%$ ）的底物时，该测定方法可能会出现测试结果不准确的情况。悬浮液的密度在流变仪中呈非均匀分布，因此可能发生分散相与连续相分离的现象。此外，在测定过程中缠绕在搅拌器轴上的长纤维底物组分（参见图 35）也可导致测量结果的不准确性（参见图 36）。然而，梅兹格（2006）的研究成果表明，应完全忽略粘度和剪切速率的计算，只需测定扭矩和搅拌器转速既可。

球形测量单元最初是专为测量粒径不大于 5 毫米的分散相而开发的。与叶片转子一样，球形测量单元也主要用于颗粒样品的相对测量（梅兹格，2006）。在球形测量单元中，直径被精确限定的球体在圆形路径上移动。该路径绕测量杯一周并且有一条固定轨道。由于在运动的第一圈中球体只会遭遇未被剪切的样品材料，因此必须确保球体仅运动一圈。此外考虑到所需样品的体积，类似于叶片的底物只能在有限的范围内使用。在测得扭矩与搅拌器转速之后，可采用与旋转测定法相类似的其他方式推定出剪切应力和剪切速率的数值，并根据 Metzner-Otto 方法完成建模。



图 35：长纤维底物组分缠绕搅拌器轴（资料来源：布雷默）

$$\tau = C_{SS} \cdot M \quad (41)$$

$$\dot{\gamma}_{rep} = C_{SR} \cdot N \quad (42)$$

根据图 32、图 33 及图 36 中显示的结果，能够得出结论：在测定发酵底物的流变特征方面，该系统的适用性受到很大限制。其突出缺点是固体颗粒会粘附到球体的表面区域（参见图 37）。

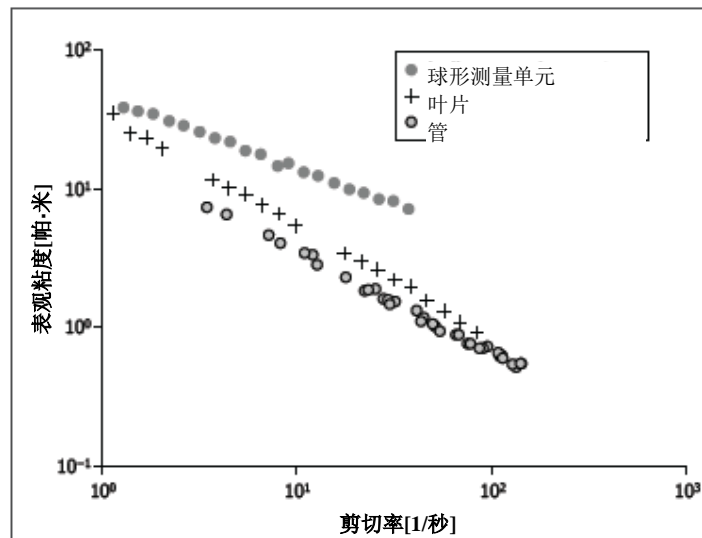


图 36：不同测定方法的比较：所用底物为青贮玉米和粗黑麦粉组成的混合物（资料来源：布雷默，2011a）

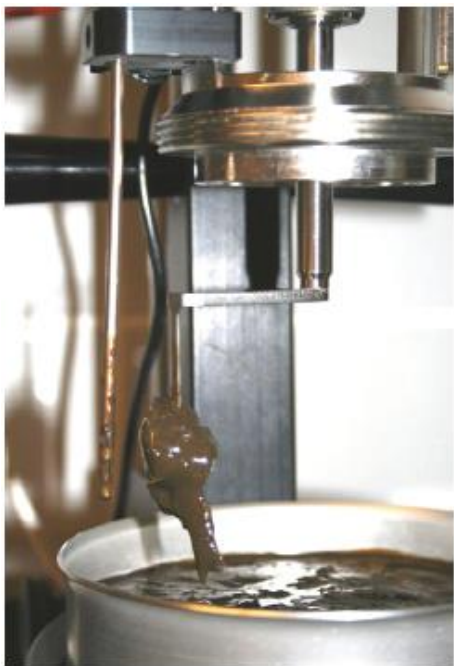


图 37: 固体粘附在球体表面上(资料来源: 布雷默)

这会使得测得的球体表面积要大于真实值,从而导致测得的扭矩值偏大。

对于总固体含量较高的底物,可使用另一种测定方法来精确测定其流变特性。根据体积流量进行压力损失测量,也可在一根水平管中测得流体的粘度和剪切速率。然而,需要说明的是,以上推导的一个必要前提是流体在固体表面无滑移现象,且流体的流变特性对时间无任何依赖性。此外,流体在筒中的流动也必须是具有平行流线和恒定速度的特定层流(威尔金斯[WILKINSON], 1960), (马尔金[MALKIN]与伊萨耶夫[ISAYEV], 2005)。通过严格遵守上游长度 z_{up} 的要求,亦可轻易实现筒间流动为层流的目标。根据以下公式计算得出上游长度:

$$\frac{z_{up}}{d} \approx 0.058 \cdot Re \quad (43)$$

为测定流体的体积流量,可使用泵(图尔克[TÜRK], 1987)或压缩空气(布雷默, 2011a)。然而,作为示例,本章节仅详细介绍使用压缩空气的设备变体(参见图 38)。在此测定过程中,发酵底物被放置在储罐中。通过在储罐内造成过压,可产生不同体积的待排放流量。与泵法不同的是,压缩空气法中不涉及脉冲波动。为补偿测量过程中流体静压的下降,必须根据体积流量和储罐容量调节压力。

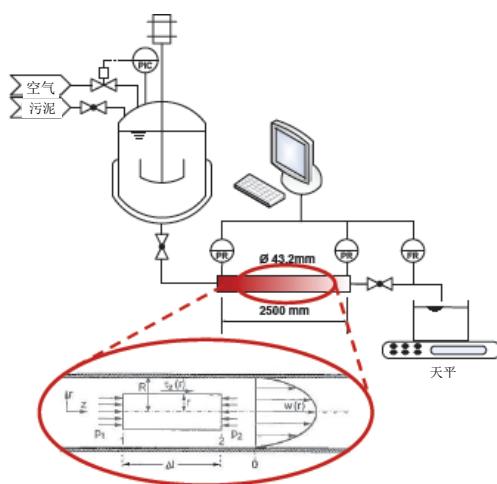


图 38: 层流管流程示意图(资料来源: 布雷默, 2011a; 克劳默, 2004)。

基于以上假设,可以根据力平衡方程(方程 44)推导出剪切应力的计算公式,并借助 Metzner-Reed 方程计算求出剪切速率(方程 45)。

$$\tau_w = \frac{d \cdot \Delta p}{4 \cdot L} = k' \cdot \left(\frac{8 \cdot v_{avg}}{d} \right)^{n'} \quad (44)$$

$$\left(\frac{dv}{dR} \right)_w = \frac{3n' + 1}{4n'} \cdot \frac{8 \cdot v_{avg}}{d} \quad (45)$$

$$n' = \frac{d \ln \left(\frac{d \cdot \Delta p}{4 \cdot L} \right)}{d \ln \left(\frac{8 \cdot v_{avg}}{d} \right)} \quad (46)$$

表达式 $\frac{8 \cdot v_{avg}}{d}$ 的单位与搅拌釜釜壁上剪切速率的单位相同。表达式中 v_{avg} 为层流管中流体的平均流速。因此,该表达式被称为表观剪切速率。但需要指出的是,“方程 41”显然只是和奥斯特瓦尔德-德沃尔(Ostwald-de Waele)幂律函数相类似(参见方程 49)。在如下方程中, n' 通常并非常数项,而是会随表观剪切速率 $\frac{8 \cdot v_{avg}}{d}$ 的变化而变化。对于流体的层流和无时间相关性的流体流动,指数 n' 的定义如方程 46 所示。威尔金斯(1960)的研究成果表明,可根据剪切稀化流体的指数 n' 和因子 k' 换算出流量指数 n 和奥斯特瓦尔德因子 K , 换算公式如下:

$$k' = K \cdot \left(\frac{3n + 1}{4n} \right)^n \quad (47)$$

$$n = \frac{n'}{1 - \frac{1}{3n'+1} \left(\frac{dn'}{d \ln \tau} \right)} \quad (48)$$

管式粘度计的最大优点在于当测量单元尺寸较大时,此粘度计仍然能够准确测量底物的粘度。即使底物中总固体含量较高且含有长纤维状颗粒时,也依然具有良好的适用性。主要表现在所需时间长,样品需要量较大。

为了能够横向对比所获得的测试数据(包括测量点的剪切应力、剪切速率、温度及测量持续时间)并用数学方法描述流体的流变特性,科研人员开发出不同的模型函数。截至目前,此类模型函数的数量已超过 20 个。陈(CHEN)在其 1986 年的研究成果报告中,建议用奥斯特瓦尔德-德沃尔幂律函数来描述干物质含量低于 4.5% 的发酵底物的流变特性。这是迄今为止最常用于描述此类底物流变特性的方法。

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (49)$$

对于干物质含量高于 4.5% 的底物,应使用赫谢尔-巴克利(Herschel-Bulkley)流体模型来描述底物的流变特性。

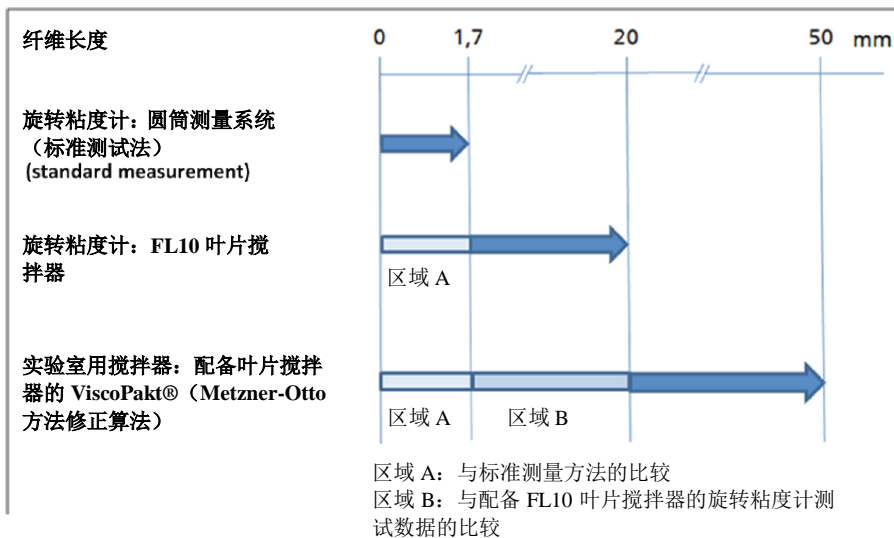


图 39：根据纤维长度测定流体粘度的方法（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

测定最大纤维长度不超过 20 毫米的流体系统的粘度

配备六叶片式搅拌器（FL10 叶片搅拌器）的标准旋转粘度计适用于测定最大纤维长度不超过 20 毫米的纤维悬浮液的流动特性。为使该测量系统适用于纤维悬浮液，弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所编制出一份测量指南。

用于该领域研究的 ViscoTester VT550 旋转粘度计是根据塞尔原理设计的 Searle 型旋转粘度计，其待测底物的流动阻力是在指定转速下测量而得。此测定法采用配备非接触式传感器的刚性扭转弹簧测定用以维持指定转速所需的扭矩。VT550 旋转粘度计的转速范围在 0.5 至 800 次/分之间，扭矩范围为 0.01 至 3 牛厘米。测量装置的内部控制单元负责存储所有数据，并根据测得的扭矩 M 、转速 N 以及所用测量系统的特定系统因子（几何结构）等数值来计算剪切应力 $\dot{\gamma}$ 、剪切速率和动态粘度 η 的值。

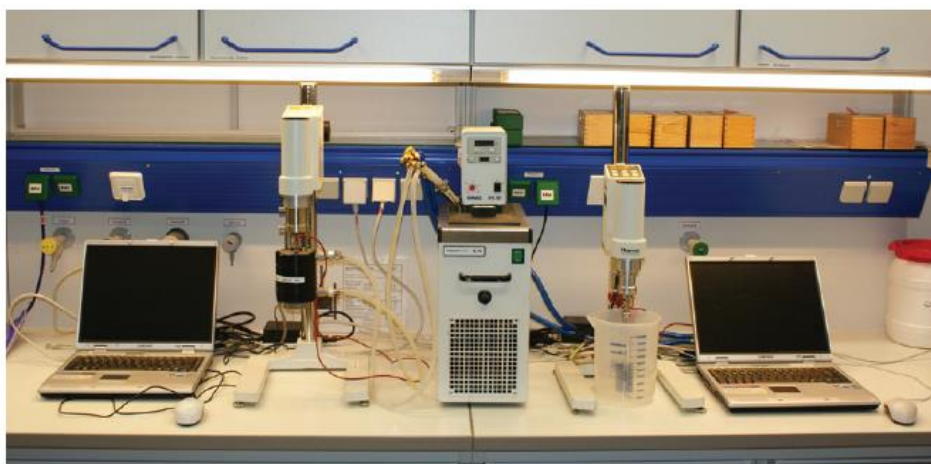


图 40：用于测量发酵底物的两款旋转粘度计：配备圆筒测量装置的 ViscoTester 550 旋转粘度计（左）和配备 FL10 叶片搅拌器的旋转粘度计 ViscoTester 550 旋转粘度计（右）（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

在测定发酵底物的流变特性时，只有在粘度本身取决于速度分布曲线时才会涉及表观粘度 η_s ，因此表观粘度并非恒定参数。

该系统通过 RS232 接口与 RheoWin 应用软件实现对设备的控制。测得的数据以 ASCII 文件的形式提供，以供技术人员作进一步后处理和分析。为能获得具有可比性的测定结果，该测量系统还特别引入了对装置几何结构的要求，以方便后续技术人员横向对比该测量系统的测试数据和已知圆筒测量系统的测试数据。除了用作转子的 FL10 叶片搅拌器（半径为 20 毫米）之外，该系统还使用半径 133 毫米高度 177 毫米的测量杯作为定子。此外该系统还定义了叶片转子的安装条件，所有测量过程都必须满足此安装条件的要求。

为验证 VT550-FL10 系统的适用性，选用标准化圆筒测量装置（MV3 测量系统）并使用最大粒径为 1.5 毫米的悬浮液进行对比测量实验，随后分别根据两测量装置制造商的计算指南计算出流量曲线和/或粘度。结果表明在 VT550-FL10 系统的测量设置中存在系统误差。出于该原因，研究人员借助大量综合测试，为该测量系统确定了另一个系统因子 F 。该系统因子考虑了测量装置的几何结构。除制造商规定的系统因子之外，该测量系统还在分析过程中纳入了上述系统因子 F ，并利用该系统因子来计算表观粘度 $\eta_s = f(\dot{\gamma})$ 。具体换算方式，是使用系统因子 F 乘以根据制造商说明确定的剪切速率 $\dot{\gamma}^*$ 的乘积作为该测量系统的真实剪切速率，计算公式参见方程 51。

$$\dot{\gamma} = F \cdot \dot{\gamma}^* \quad (51)$$

采样与样品制备

测定流体粘度时，建议样品用量为 10 升，其中每测定一次需样品 1.6 升。采样过程遵循 VDI 4630 指南的要求。

在取回用于测量的样品之前，必须将运输容器中的物料均化，以溶解漂浮层和沉降层。

材料与设备

- 测量杯
- 配有恒温器的水浴
- 断路器用加热套
- 温度计
- FL10 叶片搅拌器
- ViscoTester VT550 旋转粘度计

测定方式

在测量之前，首先将待测样品转移至恰当容器中，并将该容器放入水浴中加热至规定的温度（例如工艺温度）。为减少样品的蒸发损失，该容器应加盖封口。随后，取 1,600 毫升已均匀受热的样品放入测量杯中。在整个测量过程中，必须保持体系温度恒定（需要时可使用恒温器和加热套管）。现场测定并记录测量之前和之后样品的温度。为了消除体系温度对测量结果的影响，可容许的温度变化不得超过 2K（经验值）。

一旦测量杯与转子全部安装到位，检测人员需要确定待测定的剪切率范围和待选择的测量点数目。事实证明，测量频率保持在每秒至少一个测量点对成功完成测量任务大有裨益。借助测量系统自带的搅拌器转速、记录在案的扭矩值以及测量系统自带的各个系统因子，可以计算得出剪切应力、剪切速率及表观粘度。应针对所有样品溶液至少重复测定三次（三重测定）。图 41 描绘了一种发酵底物的表观粘度与剪切速率的关系曲线。

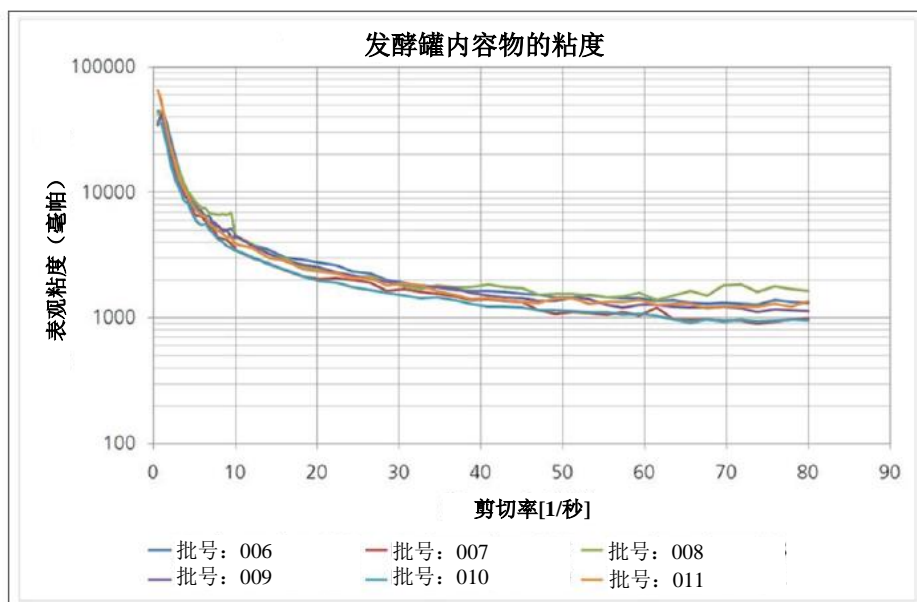


图 41：发酵罐内容物的粘度变化曲线（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

由于该测量系统主要由搅拌装置构成，因此可能会因高速度而产生涡流，从而使得测定结果具有不稳定性，具体因样品特性的不同而异。值得一提的是，低粘度（ $K_{1/s} < 2000 \text{ mPa}\cdot\text{s}^m$ ）的材料体系往往会在测量杯中产生严重湍流，使得实际扭矩大于计算公式所预测的值，从而导致测得的粘度值偏大。一旦测量杯中产生涡流，测试数据就不再可用。在测定具有高纤维含量的底物（ $x_{max} > 20$ 毫米）时，长纤维底物组分可能会缠绕在搅拌器和搅拌器轴上，使得搅拌器的几何形状发生改变，从而导致为流变特性评估而规定的系统框架条件不再适用。图 42 描绘了两种潜在的误差来源。



图 42: 因产生涡流和长纤维组分缠绕搅拌器轴而导致的测量误差 (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

研究的必要性

为验证额外引入的系统因子的恰当性, 必须使用旋转粘度计来进一步对比 VT550-FL10 测量系统的测试数据与标准测量方法的测试数据。在进行进一步对比测试时, 还需同时考虑适用的应用条件(参见图 39)。此外, 将 VT550-FL10 测量系统的测试数据与管式粘度计的测试数据进行对比也有助判定引入上述系统因子的恰当性。

测定纤维最大长度 $x_{\max} < 20$ 毫米的材料系统的粘度

已知的标准测量系统不可用于测定纤维长度大于 20 毫米的悬浮物的流变特性。为完成测量任务, 必须根据悬浮液中固体颗粒浓度, 相应调整测量装置的几何形状。在测定最大粒径为 50 毫米的悬浮液的流变特性时, 搭载扭矩测量与记录功能的实验室用搅拌器具有良好的适用性。在此背景下, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所开发出一种基于 Metzner-Otto 方法的流体粘度测定法。此项研究隶属于由萨克森自由州和欧盟资助的合作项目。

采用 Metzner-Otto 方法修正算法测定流体粘度

此种修正算法的基础是搅拌器转速 N 与剪切速率 $\dot{\gamma}$ 之间的关系。通过使用合适的搅拌器系统, 可以根据既定的搅拌器叶端线速度 u 和平均表观粘度 η_s 算出相应的牛顿数 Ne 和雷诺数 Re 。此种算法的基础, 是利用粘度已知的牛顿流体预先测定的搅拌器系统性能特征。通过现场测定并记录搅拌待测介质所需的搅拌器功率值, 可以推导出对应于该搅拌过程的牛顿数, 并由此算出有效的雷诺数和平均表观粘度 η_s (参见图 43)。为将平均表观粘度与搅拌装置转速的函数关系式 $\eta_s = f(N)$ 转化为

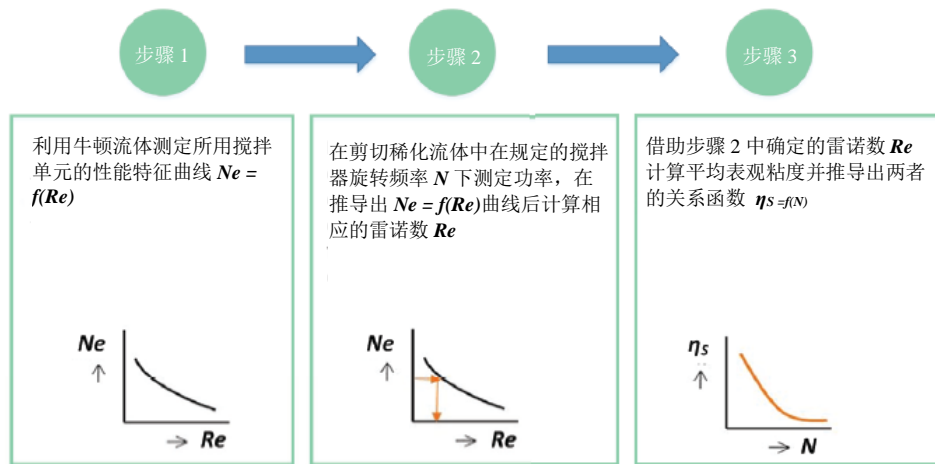


图 43: 基于 Metzner-Otto 方法的流体粘度测定法

表观粘度与剪切速率的函数关系式 $\eta_s = f(\dot{\gamma})$ ，梅茨纳与奥托使用了一项比例常数，即 Metzner-Otto 常数 k_{MO} 。这一常数取决于所用搅拌装置的结构特性。在新近测试中，帕夫洛夫斯基 (PAWLOWSKI, 2004) 更为深入地讨论了这一概念，因为根据 Metzner-Otto 关系式，Metzner-Otto 常数是剪切速率除以搅拌器转速后得到的商，即比例因子。该常数是搅拌装置几何结构及流体介质流变特性的函数。

弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所根据其所开展的各项系统化测试，最终确定了介质流变特性的额外影响，并由此确定了将平均表观粘度与搅拌装置转速的函数关系式 $\eta_s = f(N)$ 转化为表观粘度与剪切速率的函数关系式 $\eta_s = f(\dot{\gamma})$ 的切实可行性。

测量系统 ViscoPakt®实验室用搅拌器

搭载简单扭矩测量单元的 ViscoPakt®实验室用搅拌器可用于某些特定测试。在测试时，搅拌器会检测因负载变化而引起的转速变化，并对搅拌器的转速变化进行电子补偿。此外，该搅拌器的驱动装置还配有用于连续记录搅拌器转速与扭矩的接口。

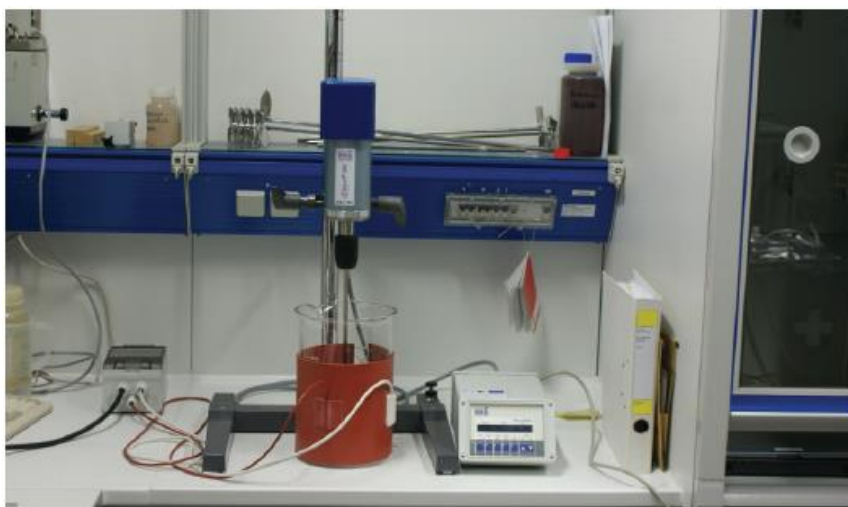


图 44: 测定高浓度纤维悬浮液中表观粘度的测试台 (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

该系统可在 0.2 牛厘米的分辨率下测量最高可达 110 牛厘米的扭矩。

搅拌单元包括一台直径为 70 毫米的叶片搅拌器和一台作为搅拌发酵罐的 5,000 毫升肖特 (SCHOTT) 实验室用玻璃杯。填充液位与发酵罐直径之间的纵横比为 1.0。搅拌器以中心对称的方式放置, 搅拌器和发酵罐底部之间的距离始终保持在 28 毫米不变。在完成上述搅拌单元的性能测定后, 将测试数据绘制成搅拌单元的性能特征曲线 $Ne = f(Re)$, 如图 45 中所示。它构成根据搅拌器扭矩推导粘度的基础。

之后, 在 30 至 700 分钟⁻¹ 范围内不断改变搅拌器的转速 N , 测量不同转速下的扭矩 M 值。然后在此基础上, 根据如下等式计算搅拌器输入功率 P 及牛顿数 Ne 数:

$$P = 2\pi \cdot M \cdot N \quad (52)$$

$$Ne = \frac{P}{\rho \cdot N^3 \cdot d^5} \quad (53)$$

在上述方程中, 搅拌器直径用 d 来表示, 材料系统的密度用 ρ 来表示。

基于搅拌单元的性能特征, 根据图 43 中所示的步骤 2 和 3, 可以算出纤维长度不超过 50 毫米的高浓度悬浮液的表现粘度。该表现粘度取决于所用叶片搅拌器的转速。

$$Ne(N) \Rightarrow Re(N) \Rightarrow \eta_s(N) = \frac{\rho \cdot N \cdot d^2}{Re} \quad (54)$$

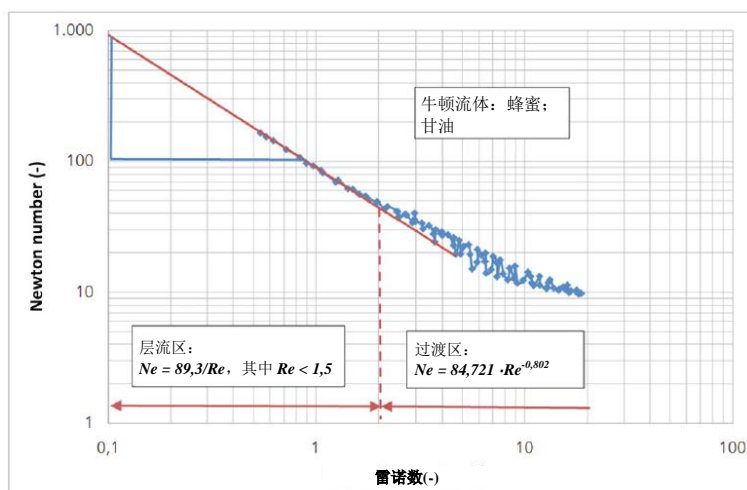


图 45: 用于粘度测量的搅拌单元性能特征 (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

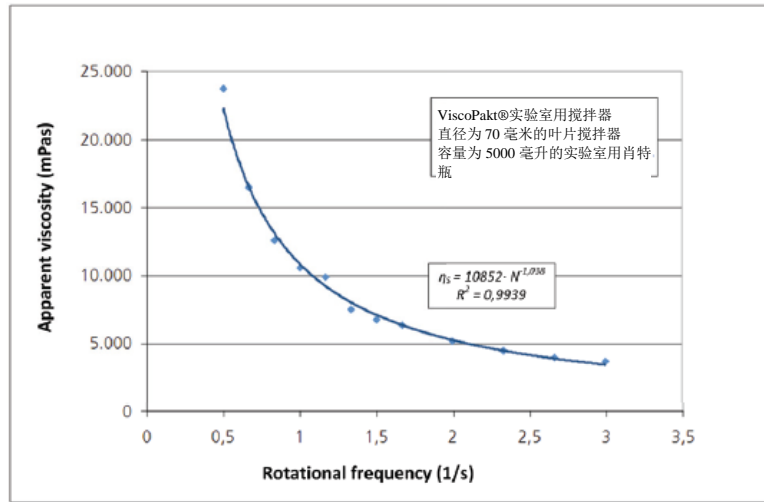


图 46: 表观粘度取决于沼气工程水解产物的转速 (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

在测定过程中, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所利用图 45 和方程 54 中提及的函数关系式, 最终确定了待测材料系统的表观粘度与搅拌器转速之间的函数关系式 $\eta_s = f(N)$ 。图 46 中所示的函数关系有着良好的应用基础, 例如可利用该函数关系式来描述沼气工程水解产物的性能特征。

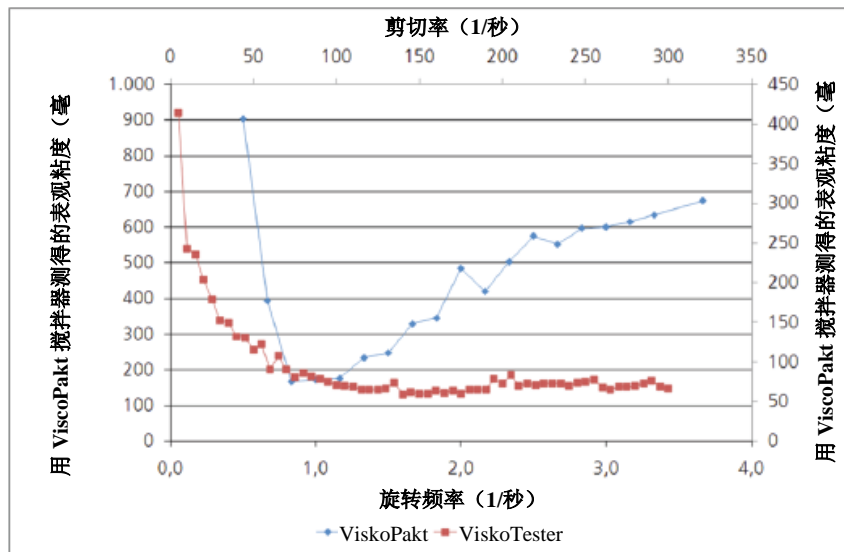


图 47: 使用 ViscoPakt®实验室用搅拌器测定低粘度材料系统粘度时测试结果失真汇总图 (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

除应强调最大粒径约为 50 毫米的限制条件之外, 还必须界定介质的粘度范围, 并将此粘度范围视作上述测量系统的另一项使用限制条件。

当底物的表观粘度 $\eta_s < 1,000$ 毫帕斯卡·秒时，被测流体可能在搅拌器的低转速下就可产生湍流，从而导致测得的粘度值偏大（图 47）。为了判定函数 $\eta_s = f(N)$ 与函数 $\eta_s = f(\dot{\gamma})$ 之间可能存在的关系，除采用 ViscoPakt® 实验室用搅拌器进行测试之外，还使用 ViscoTester VT550 旋转粘度计测定介质的流变特性。然而，开展此项对比测量的先决条件，是必须确保待测底物的颗粒粒径与总固体含量在规定的允许范围之内。考虑到上述文献中提及的既定事实，即除搅拌装置几何结构之外，搅拌器转速与剪切速率之间的关系取决于待测底物的流变特性，材料系统的甄选成为研究所关注的焦点。根据奥斯特瓦尔德-德沃尔幂律函数法，测试中所选用的不同材料系统对应于不同的流指数 n ，且指数与指数之间差异巨大。截至目前，材料系统的流指数在 -0.2 和 0.7 之间变化。

$$\eta_s = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad (55)$$

之后，将 ViscoTester 550 旋转粘度计测定的流动曲线 $\eta_s = f(\dot{\gamma})$ 与 ViscoPakt® 实验室用搅拌器的测试数据 $\eta_s = f(\dot{\gamma})$ 进行对比。结果表明两个测量系统都用可比较的流量曲线描述了每种测试材料系统的粘度，并具有可比较的流动曲线。由 ViscoPakt® 实验室用搅拌器确定的关系可用如下公式表示：

$$\eta_s = K^* \cdot N^{n-1} \quad (56)$$

上述方程使得流函数 $\eta_s = f(\dot{\gamma}) = f(N)$ 的简单等价成为可能。将剪切速率 $\dot{\gamma}$ 的函数式重新排列后，可以得到每个待测材料的系统因子 K_{VP} 。在求得系统因子 K_{VP} 之后，就能够根据搅拌器的转速算出相应的剪切速率。

$$\dot{\gamma} = K_{VP} \cdot N \quad (57)$$

由于搅拌系统的几何结构在所有测试过程中都保持恒定不变，因此有可能以倒推的方式得到因变量为 K_{VP} 而自变量仅包括流变特性的函数关系式，其中流变特性以流指数 n 的形式表示。而流指数则又可以根据经验公式计算得出。

$$K_{VP} = 8.52 \cdot n + 6.8 \quad (58)$$

流指数 n 根据流函数的指数来确定（方程），而流函数则通过 ViscoPakt® 实验室用搅拌器测量来确定。

采样与样品制备

在测定流体粘度时，建议样品用量为 30 升，其中每测定一次需样品 3.5 升（可重新考虑重复测定的必要性）。采样过程遵循 VDI 4630 指南的要求。不需要为测定过程制备特别的样品。

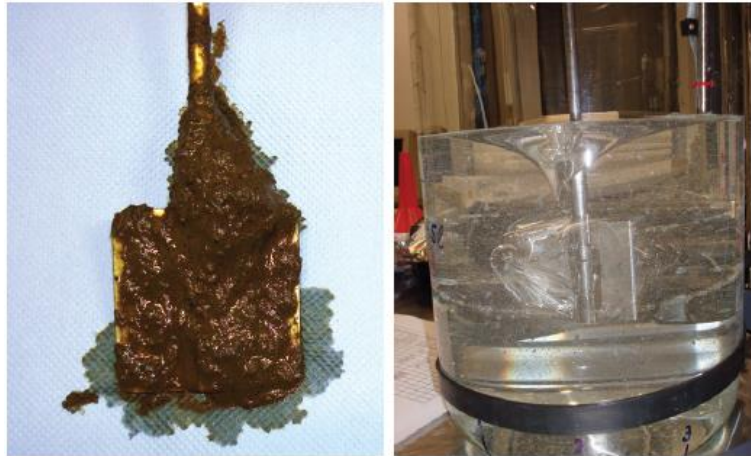


图 48：底物缠绕叶片搅拌器并产生涡流（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

材料与设备

- 测量杯
- 叶片搅拌器
- 搭载扭矩测量功能的搅拌器（ViscoPakt 110）
- 加热套
- 温控器与温度计
- 天平和量筒（用于密度测定）

测定方式

在测量之前，首先将待测样品转移至密闭容器中，并将该密闭容器放入水浴中加热至规定的温度。在被加热样品达到所要求的温度后，取 3,500 毫升样品放入测量杯中。该测量杯应配有加热套，以便在测量过程中能够最大限度地减少热量损失。在测量杯和叶片搅拌器全部安装到位后，以规定的增幅（例如 $\Delta N=10$ 分钟⁻¹）提高转速并记录相关扭矩值。借助搅拌器转速和测得的扭矩，可根据上述方法算出待测样品的表观粘度。现场测定并记录测量之前和之后样品的温度。测量之后与之前的样品温度之差必须小于 2K（经验值）。测量过程中可能会因高流速而产生涡流，具体因流体粘度的不同而异。而流体的紊流状态又会进一步导致扭矩不成比例的增加。在进一步计算中，扭矩的增大会使得实际的转速和剪切速率要大于计算公式所预测的值，从而导致测得的粘度值偏大，这一情况与使用叶片搅拌器的测量过程类似（参见《测定纤维含量 $x_{\max} < 20$ 毫米的材料系统的粘度》章节）。一旦测量杯中产生严重涡流，测试数据就不再能够用于分析。当待测样品中纤维组分的长度大于 50 毫米时，这些纤维就可能会缠绕在搅拌器叶片和搅拌器轴上，从而导致扭矩测试结果的不准确性。在这种情况下，必须舍弃这些失真的测试数据。

研究的必要性

- 需要针对长纤维底物，开发具有恰当几何结构的搅拌装置。
- 需要研究涡流形成对扭矩测试数据的影响以及用于表观粘度测定的数学校正方法。
- 需要研究将此测定方法与工业级搅拌器和泵结合使用的有效方式，因为此测定方法可提供更多控制参数。

5.6 流量分析

为确保所用原料的有效降解，实现沼气发酵罐中物料的有效混合是发酵沼气发酵过程的重点。而实现有效混合的一个重要先决条件，是确保发酵罐中的物料处于具有良好均质性的完全混合状态。尽管能量消耗很大，但在实际操作中仍无法实现这一过程工程状态。混合搅拌过程所消耗的电力占沼气发酵厂发电量的比重高达 55%。因此，采用测量设备在生物发酵罐中记录内容物的混合状态是发酵沼气生产的重中之重。

流量分析和/或速度测量可应用于工业级沼气发酵罐和中试级沼气发酵系统。为此，可根据具体情况选用不同的测量技术，具体遴选方式将在以下两个章节中做详细介绍。甄选测量技术的决定性要素主要包括测量范围和系统的可用度。

包括传感器与光学测试仪在内的现行商用测量系统既可用于监测某个测量点上混合搅拌过程的工艺参数，又可用于了解物料混合的整体情况。在实际应用中，必须区分用于中试级和工业级发酵罐的测量技术。对于第一个提及的应用案例，沼气发酵罐的正常运作必须依赖仍可检测 mm/s 等级速率的测量系统。在这一领域，事实证明，恒温测速法和粒子图像测速法等都属于适用技术。这两种测定方法都需要使用透明状模型介质。大量的应用实践已经表明，为工业级沼气发酵罐选择恰当的速度测量技术极为困难。由于底物总固体含量过高，因此目前仍无法在工业级沼气发酵罐中使用永久性安装的测量技术。但是，配备了 MID 测量传感器或叶片后，此类测量仪可作为手持式设备供短期使用。

在过去相当长的一段时间内，断层扫描测量技术被广泛应用在工艺过程领域，用以测量温度、浓度及速度场等参数。然而在沼气工程应用领域，特别是在沼气发酵罐中物料混合搅拌过程中工艺参数的监测与评估等方面，断层扫描测量仍然是一种新兴技术。除了提供既定测量点处混合状态的高清图之外，断层扫描测量技术的优点还包括可以在沼气发酵工业中使用模型流体和不透明的纤维状原始底物。

5.6.1 测量传感器的利用

曼努埃尔·布雷默、马蒂亚斯·克劳默，柏林工业大学

流量分析和/或速度测量可以应用于工业级沼气发酵罐和中试级沼气发酵系统。为此，可根据具体情况选用不同的测量技术，具体遴选方式将在以下两个章节中做详细介绍。甄选测量技术的决定性要素主要包括测量范围和系统的可用度。

测量传感器在工业级系统中的应用

对于工业级系统内流量与速度参数的测量，可使用由弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所开发的叶片测速仪（迪尔博格[DEERBERG]等人，2009）。该测速仪的主体结构为一个喷枪，其末端装有一组叶片（参见图 49）。得益于其结构化特殊设计，该测速仪还可在含有粗颗粒的介质中进行测量，因此也适用于沼气发酵罐中的速度测定。



图 49：叶片测速仪的传感器端，可用于测量工业级沼气发酵设备中的速度；由弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所制造（资料来源：柏林工业大学）



图 50：用于传感器冲洗和密封的锁止腔示例（资料来源：柏林工业大学）

本章节中将重点介绍磁感应式传感器。磁感应式传感器的原理是利用信号转子和磁场发生的相对运动产生感应电动势，从而进一步产生信号。根据信号传导的频率，可以相应判定出发酵底物的运动速度。根据制造商的说明，此类传感器可检测到低至 1.2 mm/s 的速度。然而，利用此项测量技术的先决条件是连接各个支管并确保传感器具有良好密封特性，以防止底物和/或沼气从缝隙中逸出。有鉴于液相的密封更加易于实现，因此建议在液面下方使用连接支管。此外，此种设置也可大幅降低甲烷逸出的风险。为了清除沾附在叶片表面和传感器器壁上的颗粒，可使用位于叶片后部的喷嘴冲洗传感器。为了免除每次冲洗之前都必须彻底移除传感器的麻烦，建议使用锁止腔。锁止腔的使用对于确保必要的密封性能也非常有用。图 50 展示了锁止腔的示例。该锁止腔由两个夹管阀、一个配有进口与出口的透明 PVC 管以及三个圆形法兰组成。三个圆形法兰位于传感器的正中心。此外，通过引入与传感器等直径的 O 形环，该装置还有助于进一步加强整个系统的密封性能。为实现对夹管阀的控制，在锁止腔中还设置了一个比例阀。由于 PVC 管呈透明状，因此操作人员可在不彻底移除叶片的情况下检查器件的清洁程度和运作情况，并在必要时进行补偿。

中试级系统中的流量分析

对于中试级系统内的流量参数的测量，可使用光学测量法和热电式测速法等技术。这两种测量方法都可准确测定流动速度，即便在介质流速较低的情况下也可确保测试数据的准确性，因此可用于测定沼气发酵罐中的相关参数。考虑到沼气发酵厂中流体的剪切稀化流动特性，市售叶片容易产生测量误差。关于流量测量方法的一般信息，可参考（尼切[NITSCHKE]与布鲁恩[BRUNN]，2006）、（埃克尔曼[ECKELMANN]，1997）、（赫维希[HERWIG]，2006）及（德巴廷[DEBATIN]，1997）的出版物。如需了解更多的深入见地（特别是在热式测速领域），参见（洛马斯[LOMAS]，1986）及（秦[TSI]，2008）的著作。上述文献资料也可作为理解以下各章节内容的基础。

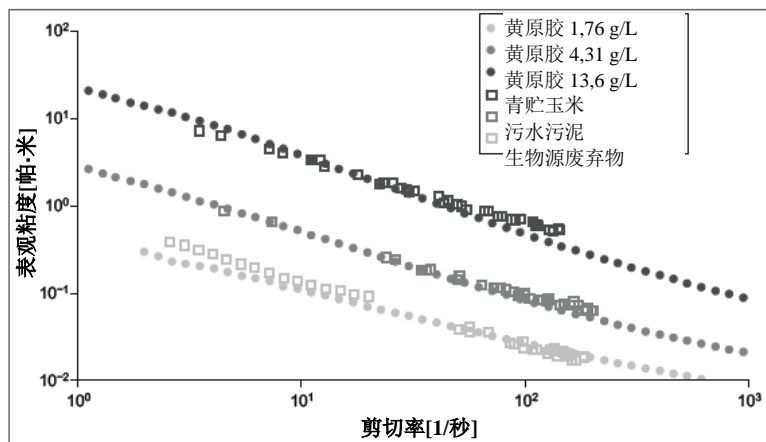


图 51：底物和代用基质流变特性的比较（资料来源：布雷默，2011c）

除具有上文提及的强大优势（即能够确保对低速流量的测量精度）之外，光学测量法和热电式测速法也存在两大缺点：它们具有颗粒敏感性，因此必须使用透明介质，这一点在光速测量领域尤为突出。然而，由于沼气发酵罐的发酵底物既不透明也不属于不含颗粒的介质，必须使用具有相同流变特性（剪切稀化流变特性）的替代物。为此，可以选择向水中添加添加剂。黄原胶就是一种适合于此类用途的添加剂。黄原胶来自食品工业。作为透明添加剂，黄原胶可在市场上通过多种渠道获得（例如向 COLLTEC GmbH & CO.KG 公司购买），并且能够与水以多种不同比例混溶。因此，黄原胶允许我们设定底物的不同粘度，并满足沼气工程对不同条件的要求（参见图 51）。此外，还可选择使用来自化妆品行业的化学物质。它们都不易腐烂，因此也更方便操作和处理。Merat 550 即是此类化学物质中的一个实例，它是洗发水的基本成分之一。

光学测量方法

光学测量技术通常都涉及激光的使用。在光学测量技术中，我们需要区分激光双焦点测速法（简称：L2F）、激光多普勒测速法（简称：LDA）和粒子图像测速法（简称：PIV）三种不同类别。与热电式测速法相比，光学测量技术的最大优点是捕获测量数据的过程不会对流体的流动状态造成影响。但其缺点是价格昂贵（远超 5 万欧元）且需要投入大量设备。

所有的光学测量技术都使用品种颗粒。这些颗粒必须满足如下两项互补条件：

- 可以跟随流体做无滑动的运动
- 在激光中具有良好分散性

此外，待测流体的体积还必须能够使用光学技术手段进行测定。如不能满足这一要求，则经常会出现问题，

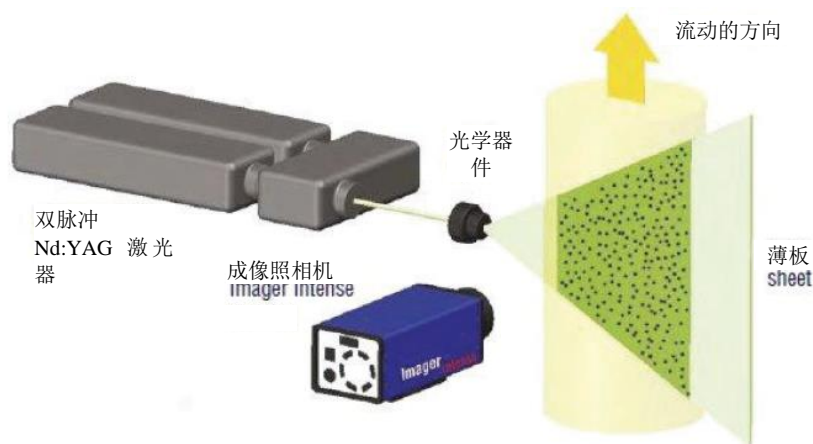


图 52：粒子图像测速仪的系统组件（资料来源：拉威森[LAVISION.DE]，2011）

当搅拌釜为圆形时问题尤为明显，因为圆形搅拌釜会引起激光的多重散射。但是，此类散射可以借助分析软件在一定程度上获得补偿。此外，还可将圆筒放置在立方体容器中，并在圆筒与容器之间空隙处装满水或甘油。作为光学测量技术的示例，我们将更详尽地介绍粒子图像测速技术。此项测速技术的最主要特征在于可以在单个截面中测量整个速度场。其主要原理是利用高强度的激光光束投射至截面上，激光束会被颗粒以正交 90 度方向散射（参见图 52）。通过两个被捕获图像之间的相关性，可以根据粒子移动的距离，在计算机上生成速度场。在相关性中，被捕获的图像被分割成多个分析场。因此，分析场的大小决定了速度场的分辨率。然而，由于这些分析场都需借助统计方法进行分析，因此分析场不能太过狭小。如果分析场中晶种颗粒数量太少，则无法测定该分析场中颗粒平均偏移。与激光双焦点测速法相反的是，粒子图像测速技术必须指定时间并测量距离。为捕获图像，该测试技术经常使用互相关数码相机（CCD）。此外，该测试技术还经常使用 Nd: YAG 双制式脉冲激光器。光学测量技术的时间分辨率取决于所使用互相关数码相机的型号。目前，互相关数码相机每秒可捕获多达 7,000 个图像。

热电式测速技术

由于测量传感器和流体之间存在温度梯度，因此热电式测速技术根据单位面积上的对流传热速率与温差成正比关系这一特性，来检测流体流速。在这一领域，应区分恒定电流测速仪（CCA）、脉冲线测速仪及恒温测速仪（CTA）三种不同测速技术。热电式测速技术的一大优点是最高可达 400 千赫的高分辨率测试图像，因此也可用于测量湍流流速。除测试结果的准确性之外，热电式测速仪还是一种价廉物美的测量仪。与光学测量设备相比，一台热电式测速仪的价格仅为 1 万欧元左右。在所有情况下，热电式测速仪都使用惠斯通电桥法进行信号处理（参见图 53）。在配备热丝式流量传感器和/或热膜式流量传感器之后，热电式测速仪可用于测定三个不同参数：

速度

$$U \sim v_n \quad \text{用于} \quad n < 1; p, \Delta T = \text{常数} \quad (59)$$

质量流量

$$U \sim (\rho v)^n \quad \text{用于} \quad n < 1; p, \Delta T = \text{常数} \quad (60)$$

温差

$$U \sim T \quad \text{用于} \quad \rho v = \text{常数} \quad (61)$$

目前最常用的热电式测速系统是恒温测速计。在流速会发生变化的情况下，保持传感器电阻恒定不变会导致电压的变化，可以直接测量该电压变化，并据此推算其他参数。恒温测速计可借助其控制电路来确保恒温 and 自动调节传感器电阻。

之后，我们可以推导出速度和加热器电压之间的确切关系

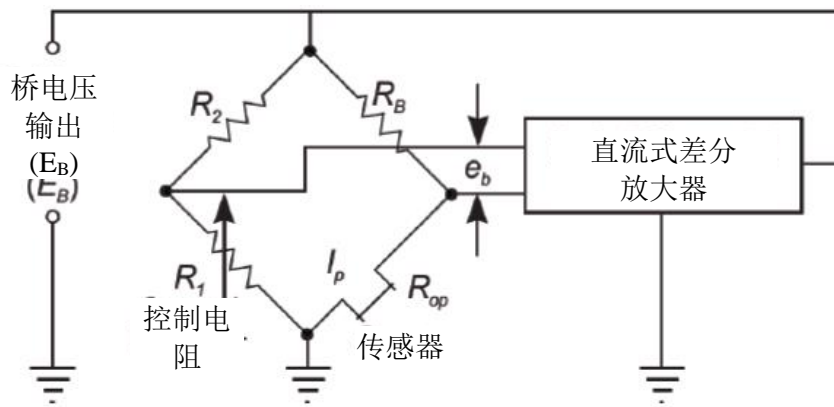


图 53: 恒温测速仪的惠斯通电桥 (资料来源: 秦[TSI], 2008)

$$U^2 = C_1 + C_2 \cdot v^n \quad (62)$$

上式中常数项 C_1 和 C_2 都必须事先凭经验确定。它们的大小取决于介质特性、传感器温度 (T_s)、流体温度 (T_f) 以及工作电阻/传感器电阻 (R_s)、投影面积 (A_s) 及传感器直径 (d_s)。

$$C_1 = f(T_s, T_f, R_s, A_s) \quad (64)$$

$$C_2 = f(T_s, T_f, R_s, A_s, v, d_s) \quad (65)$$



图 54: 用于校准和确定薄膜传感器常数的牵引通道

上式中指数 n 取决于流动状态和/或雷诺数。传感器的加热器电压 (U) 与易于测量的惠斯通电桥电压 (U_B) 直接相关 (参见图 53)。

$$U = \frac{U_B \cdot R_{CR}}{R_{CR} + R_2} \quad (65)$$

在校准传感器和/或确定常数项大小时可使用牵引通道。我们在上图 54 中给出了此类牵引通道的一个示例。在测量期间，

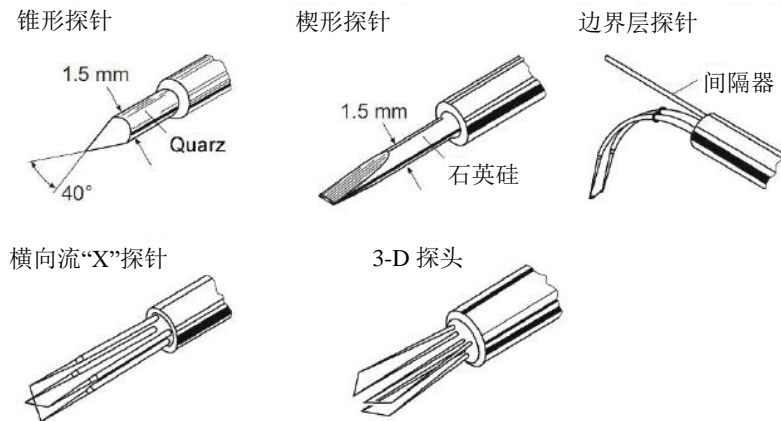


图 55: 不同的传感器变体 (资料来源: 尼切与布鲁恩, 2006)

传感器沿着管路被一路拖曳, 拖曳速度是一个精确可控的值。通过在不同速度下的多次重复, 我们将能够绘制出一根校准曲线, 用于根据加热器电压来计算速度 (图 62)。例如, 通过与直流伺服电机和集成式运动控制器配合使用, 我们可以利用线性单元来实现精确的速度控制。根据使用的介质和面积, 科研人员开发出不同类型的传感器 (参见图 55)。这些传感器的形状、尺寸、耐高温性能和/或稳定性都各不相同。在测定液体介质时, 应使用薄膜传感器。与热丝式传感器相比, 薄膜传感器并不含纯铂或钨丝等部件, 而是以铂涂层石英圆筒为特征。这种石英芯使线材更坚固, 因此可抵抗机械应力。

5.6.2 电阻层析成像技术 (ERT)

阿内特·隆姆舍 (Annett Lomtscher), 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所

现状	已完成开发, 可供实践应用。
底物类别	模型底物, 任何成分的生物物质底物
该测定方法的局限性	根据该测量方法的操作原理, 待混合的底物介质必须具有不同的电导率
优势	在线测量; 无需示踪剂; 实现混合搅拌工艺参数的局部监测; 测定范围并不是某个测量点, 而是贯穿整个流体; 充分考虑到实际应用情况 (粒度、流变特性); 可检测发酵罐中的盲区、漂浮层、沉降层以及混合区域
研究的必要性	需进一步研究此测量方法在工业级沼气发酵厂中的应用

搅拌系统中混合搅拌过程的实验评估是一项颇具挑战性的任务, 当使用不透明纤维状高浓度的底物 (例如沼气发酵厂中的消化残余物) 时开展实验评估尤其困难。使用目前市场上能买到的测量系统 (例如传感器) 来分析混合搅拌过程中的工艺参数, 往往只能对搅拌系统中的局部流体进行检测。

电阻层析成像技术 (ERT) 可实现对混合搅拌过程中多相介质分布的非侵入性可视化检测, 如图 56 所示。发酵罐中颜色浓度高的区域在成像仪生成的断层图中显示为红色区域。

电阻层析成像技术可用于液-液, 固-液以及液-气混合物的在线检测和可视化判别。除混合搅拌过程之外, 电阻层析成像技术还时常用于结晶、过滤及分离过程的介质分布检测、扩散界面上的液位检测, 油气水多相流混合物以及气动输送分析等领域。

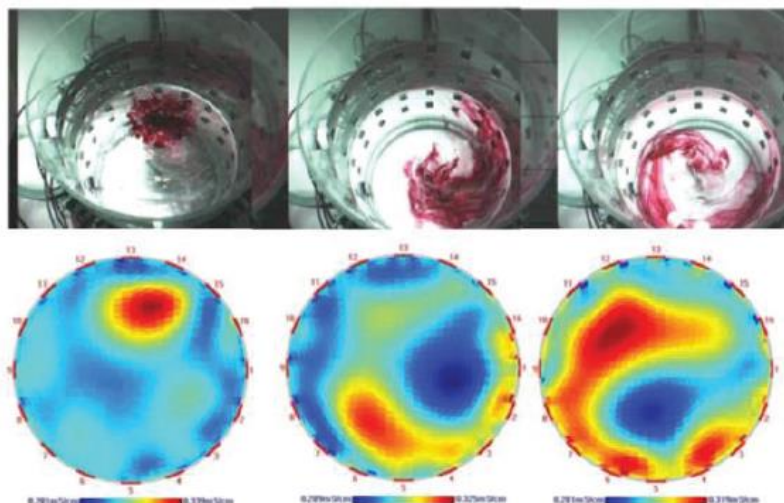


图 56: 使用电阻层析成像技术可视化比较两种液体的混合过程 (资料来源: ITS, 2012)

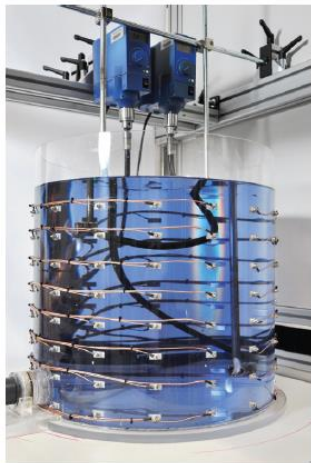


Figure 57: Process tomography (ITS System P2+) at Fraunhofer IKTS

电阻层析成像技术为我们提供了一个强大的相分布分析工具，可对沼气发酵厂的混合搅拌过程进行全方位非侵入性的量化分析。

除生物源悬浮液检测之外，电阻层析成像技术几乎可用于分析所有类型的复杂悬浮液。根据相似性原则，要想真实评估和有效优化大规模混合搅拌过程，必须调查研究不同规模的混合搅拌过程。为此，弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所科研人员按实物比例制造出不同发酵罐系统的复制品，并在其中安装了各种搅拌系统。此外，他们还按比例缩小了分散相的颗粒和纤维。这表明弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的此项研究具有很高的实用性。

弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所使用的电阻层析成像系统（图 57）是一款商用仪器（英国 ITS 系列 P2+电阻层析成像仪；工业层析成像系统，英国曼彻斯特）。该成像仪包含一个配备传感系统的容器、一套数据采集系统（DAS）和一个安装了控制和数据处理软件的电脑。带传感器的容器内设有多个测量平面，每个平面上又布设由多个测量电极组成的阵列。图 58 为圆柱形发酵罐实验室复制品的示意图。

每个传感器平面由 16 个电极组成，这些电极都沿发酵罐外缘以等间隔方式安装。传感平面的数量取决于混合搅拌容器的几何结构。在混合搅拌过程监测中使用电阻层析成像技术的一个重要前提是，连续相和分散相具有不同的电导率。

这些电极阵列采用相邻激励方式（一种预定义的测量协议），

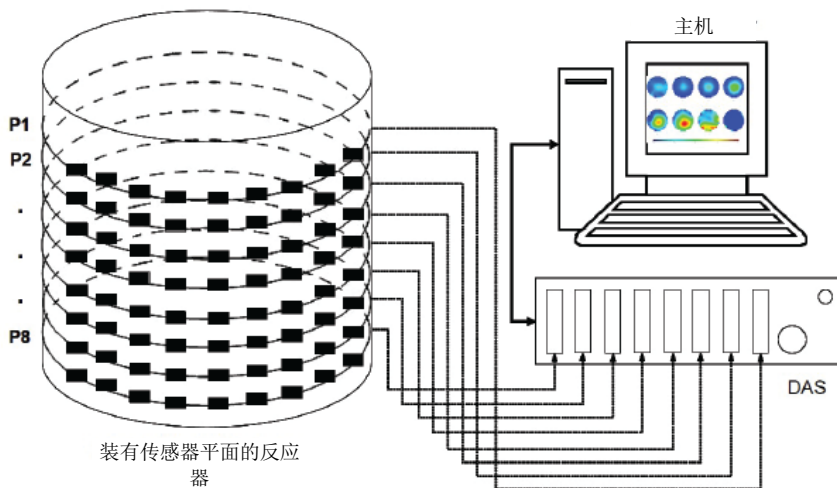


图 58：弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的电阻层析成像系统组件示意图，示意图中圆柱形发酵罐的高径比为 1，可操作 8 个传感器平面。

即在一对相邻电极上注入激励电流，建立敏感场，依次选择其他的相邻电极对测量电压。然后切换到下一对相邻电极对激励，再在其他相邻传感器平面里的电极对上测量电压。重复上述过程，直到所有的相邻电极对都激励过。因此，电阻层析成像系统能够产生空间断面电势场（图 59），其受多相流各介质间不同电导率的影响。根据上述敏感场，即可判定电导率的分布以及发酵罐中分散相的体积浓度。

之后，研究人员利用线性反投影算法（LBP）进行图像重建。线性反投影算法的优点是算法简单、无需太多计算且重建速度快。为了采集多相系统内部电导率分布的信息，线性反投影算法对发酵罐内部横截面进行剖分，将场域离散化为图像像素（具有相同大小的正方形）。每个传感器平面由这样一个二维断层图组成，每个断层图被划分为 316 个像素点。在实验过程中，可根据方程 66 推导出每个传感器平面中每个像素点上任意时刻的电导率 $\sigma_{P(x,y)}$ 。

$$\sigma_{P(x,y)} = \frac{\Delta \bar{\sigma}_{(x,y)}}{\sigma} = \frac{\sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N S_{m,n,x,y} \ln \left[\frac{V'_{(m,n)}}{V_{(m,n)}} \right]}{\sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N S_{m,n,x,y}} \quad (66)$$

$\sigma_{P(x,y)}$	像素 P(x,y)的电导率	(mS/cm)
σ	电导率	(mS/cm)
$\Delta \bar{\sigma}_{(x,y)}$	平均部分电导率变化	(mS/cm)
m	被注入激励电流的电极对	(-)
n	被测量电压的电极对	(-)
$V_{(m,n)}$	参考电压测量值	(毫伏)
$V'_{(m,n)}$	指示电导率变化后的电压测量值	(毫伏)
S	灵敏度系数	(-)

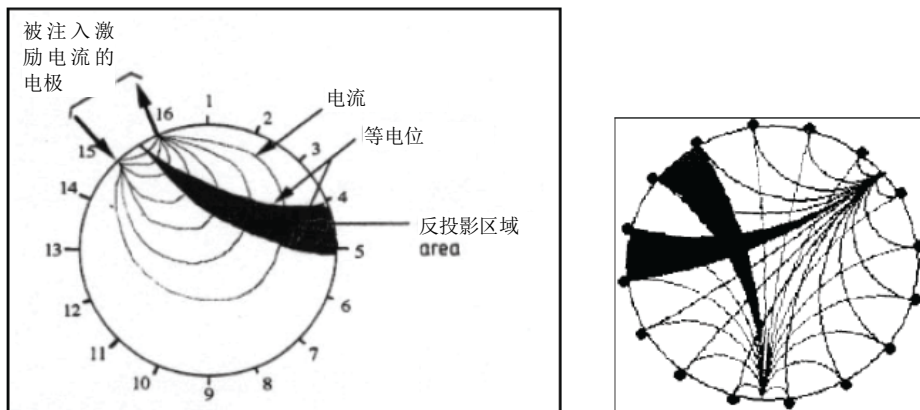


图 59：电阻层析成像技术的测量原理（资料来源：根据李[L_{EE}], 2009）

为测定混合搅拌和流动过程中的其他工艺参数信息，有必要使用麦克斯韦方程（ITS，2009）将计算得出的像素电导率转化为固体浓度：

$$\varphi_{2i} = \frac{2\sigma_1 + \sigma_2 - 2\sigma_{mci} - \frac{\sigma_{mci}\sigma_2}{\sigma_1}}{\sigma_{mci} - \frac{\sigma_2}{\sigma_1}\sigma_{mci} + 2(\sigma_1 - \sigma_2)} \quad (67)$$

φ_{2i}	传感器平面 i 中分散相的体积浓度	(%)
σ_1	连续相的电导率	(mS/cm)
σ_2	分散相的电导率	(mS/cm)
σ_{mci}	传感器平面 i 中悬浮液的电导率（电导率的测量值）	(mS/cm)

混合搅拌过程的实时状态显示为二维断层图或者沿发酵罐高度方向的三维示意图（图 60），这些直观图旨在显示分散相在连续相内的分布情况。传感器平面 P1 表示上平面，编号数最高的传感器平面表示待测发酵罐系统中的底部平面。

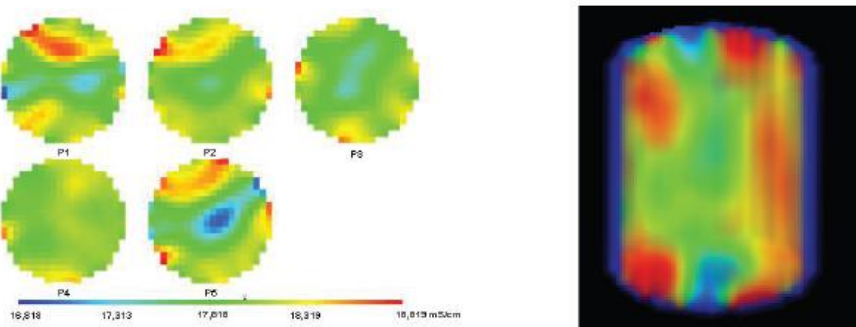


图 60：圆柱形发酵罐内（设有五个传感器平面）混合搅拌过程的可视化：发酵罐的二维断层图（左）和三维示意图（右）（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

使用电阻层析成像技术的实验研究表明，底物性质（包括流变特性和粒度参数等）、发酵罐几何结构（图 61）以及混合工艺参数（例如所选搅拌系统的性能指标）等因素都对沼气发酵罐中的混合搅拌过程具有显著影响。

若与先进的互相关技术结合使用，可借助电阻层析成像技术推算出搅拌装置内的轴向流速分布。此外，还可使用 1.0 版商业软件 AIMFlow（MOSAIC Scientific Ltd., 英国利兹）分析发酵罐中的速度分布。该软件根据两个传感器平面之间的互相关关系来计算轴向流速。然后根据生成的电导率图进一步推算速度。计算结果显示为正流速（即向下流动）和负流速（即向上流动）。

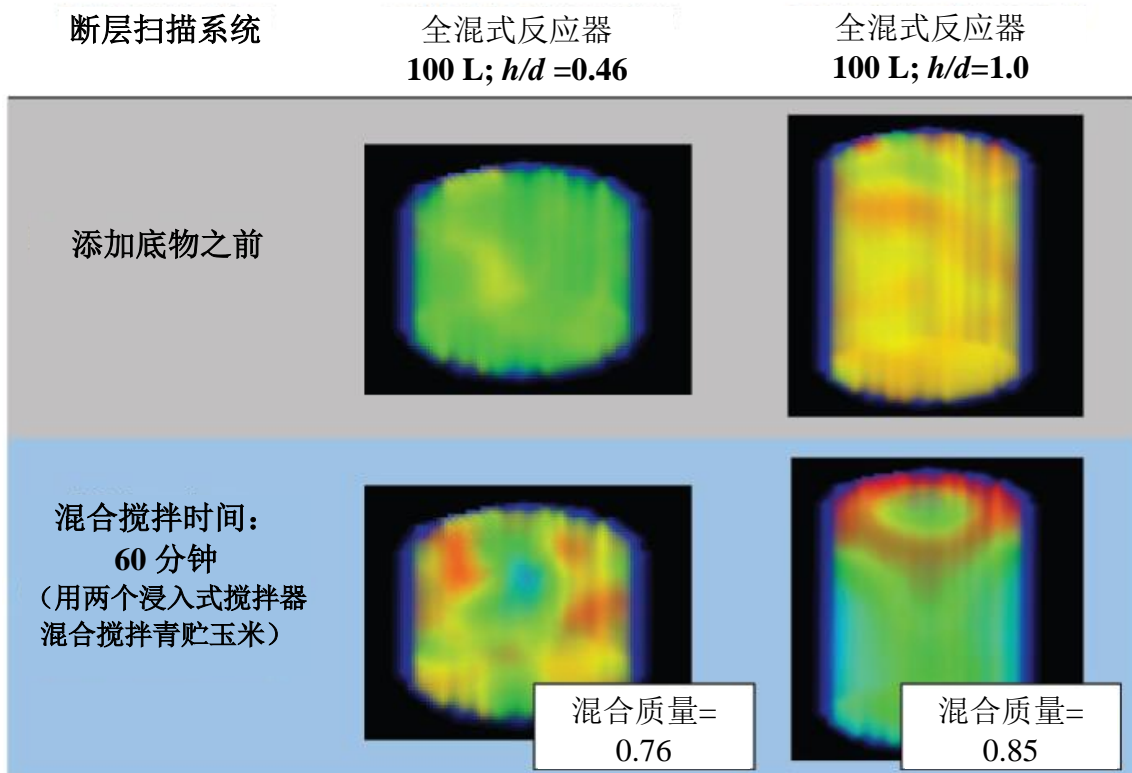


图 61：取决于发酵罐几何结构的平均混合质量（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

图 62 显示使用两个浸没式混合搅拌器测定悬浮液速度分布的结果。所用悬浮液中含纤维颗粒（麦秆）。

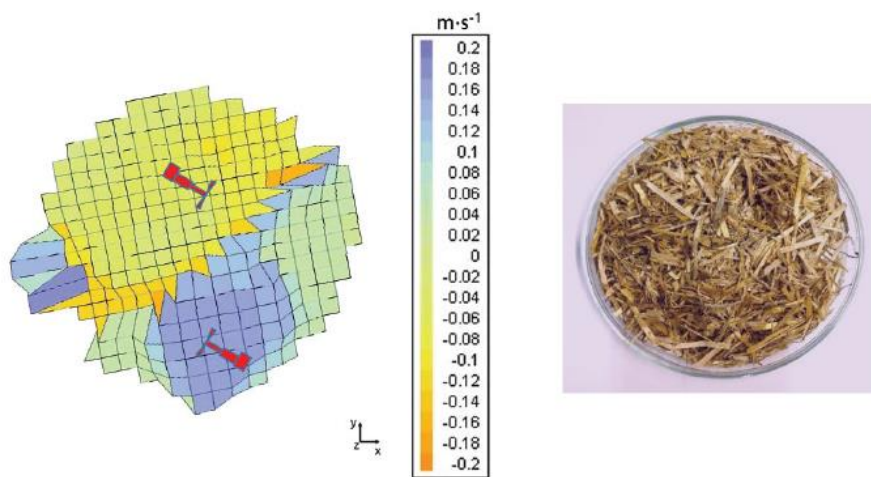


图 62：使用两个浸没式混合搅拌器测得的悬浮液速度曲线（左）。悬浮液中含有黄原胶和麦秆（右）（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

5.7 借助示踪剂判定停留时间

黑尔格·洛伦茨 (Helge Lorenz), 金荣晟 (Yong-Sung Kim), 勒内·本多夫 (René Benndorf), 彼得·菲舍尔 (Peter Fischer), 德国生物质研究中心

现状	已完成实验室规模和半工业规模的开发；可供实践应用。
相关标准	《生物废弃物条例》(BIOABFV, 1998, 截至2012年4月23日版本), DIN CEN/TS 15290, DIN 38405, DIN 38414 S7, DIN EN 13650, DIN EN 13657, DIN EN ISO 17294-2
底物类别	<ul style="list-style-type: none"> ■ 萎缩芽胞杆菌示踪剂 适用于在厌氧或抗发芽(例如海水)条件下具有流体动力学特性的底物(例如发酵底物)； ■ 氢氧化锂示踪剂 适用于流体动力学特性的底物(例如发酵底物)
该测定方法的局限性	<ul style="list-style-type: none"> ■ 萎缩芽胞杆菌示踪剂 在发酵底物中的最小检出限约为1000个孢子/克 ■ 氢氧化锂示踪剂 必须考虑底物中较低的自然背景浓度；发酵底物总固体含量剂量至少为50毫克锂/千克
优势	<ul style="list-style-type: none"> ■ 萎缩芽胞杆菌示踪剂 细菌孢子的优点在于：良好的耐热性和韧性，发酵底物无背景浓度，可满足流行病学上的安全性要求，生物/生态示踪剂 ■ 氢氧化锂示踪剂 通过元素分析进行检测，具有高稳定性和化学惰性等优点
研究的必要性	需要进一步研究如何在工业规模的沼气发酵厂中进行示踪剂分析

流体在发酵罐内的停留时间会对分解过程的效率造成巨大影响，且对于确保场地安全卫生至关重要。平均停留时间是过程动力学评估的重要考量事项；然而，最短停留时间对于确保场地的安全卫生更加重要。

根据《生物废弃物条例》(BIOABFV, 1998)的规定，最短停留时间系指“.....从第一次检测到示踪剂开始到最后一个未检测到示踪剂的样品为止所经历的时间。”

消化池中发酵底物的理论平均停留时间是水力停留时间（HRT）的函数；平均而言，它是底物颗粒在消化池中停留直至被去除所经历的时间。水力停留时间不仅是一个理论参数，而且是描述实际进程的基础。

在恒容反应过程中，水力停留时间是发酵罐有效容积（ m^3 ）除以发酵罐每日进料量（ m^3/d ）所得的商：

$$\text{HRT} = V_R / \dot{V}_{\text{fed}} \quad (68)$$

HRT	水力停留时间	(日)
V_R	发酵罐容积	(m^3)
\dot{V}_{fed}	进料量	(m^3/d)

能够满足特定混合搅拌性能的反应器被视作理想之选。在沼气发酵业中，对于连续运行的消化池，两类反应器较为重要，即完全混合型“搅拌釜式反应器”和“活塞流式反应器”。在工艺过程领域，这两类反应器的设计基础是一系列的理想化假设。但在当前的沼气发酵实践中，这些假设并非总能成立。在真实的反应器中，某些底物颗粒通过装置时会迅速流出，而有些底物颗粒则可能在装置内滞留较长时间。在实际应用中，可以根据停留时间的测定结果推导得到停留时间分布密度函数和停留时间分布函数。然后，再根据这些函数关系式计算出流体在装置中实际的平均停留时间。

根据发酵罐中物料的停留时间分布计算出发酵罐中流体的搅拌釜当量数，这对于消化池的混合搅拌具有决定性意义。使用搅拌釜意味着消化池内混合物能够实现理想化的完全混合状态（理论上最小停留时间为0）。当搅拌釜数量为无限多时，发酵罐中流体的流动状态就会与理想活塞流发酵罐一样。如果实际平均停留时间低于水力停留时间，则意味着消化池内存在一定比例的死区。死区内物料混合效果不良或完全不混合。发酵死区的出现会减少消化池的有效容积，从而降低污泥颗粒在消化池内的停留时间。如果在理论水力停留时间之前出现大量底物迅速流出消化池的现象，则说明消化池内料液发生短路。这意味着底物颗粒从入口直接流出并很快到达出口，即污泥未经充分消化即被直接排出，从而大大缩短污泥在消化池中实际的平均停留时间。发酵死区和料液短路现象的出现不利于工艺的稳定运行，因为它们都会使物料的平均停留时间减少，并进一步导致沼气产量下降。

当发酵罐以连续进料方式运行时，受料液短路现象的影响，《生物废弃物条例》（BIOABFV，1998）中规定的沼气装置最短停留时间（MGRT）也可能远远低于理论水力停留时间。此外，颗粒粒径不同时，其停留时间及其分布也不尽相同。

如果废弃物的部分组分在发酵罐中的停留时间较短，则不仅会存在潜在的卫生安全隐患，而且发酵罐中的发酵底物也不能被完全消化。未被充分消毒的消化物可成为病原菌传播的有效载体。因此，掌握底物颗粒在消化池中的最短停留时间，是沼气发酵厂卫生安全风险评估中必不可少的评估要素。

根据《生物废弃物条例》(BIOABFV, 1998)的规定,在使用生物废弃物作为发酵底物的沼气发酵厂中,废弃物基质的处理工艺必须确保“在料液进入发酵罐之后的最短停留时间内,操作温度会影响所有嗜热微生物的生命活动(至少 50°C)”。如果不能保持这些条件,则需针对消化物采取额外的卫生防疫措施。

示踪技术(示踪剂又称标记物或指示剂)可用于测定消化池中底物颗粒的最短停留时间。根据《生物废弃物条例》(BIOABFV, 1998)的规定,采用示踪法测定的停留时间就是消化池中所有底物组分(固体和液体)的最短停留时间。为此,需要用示踪剂标记底物,记录从底物进入消化池开始到第一次在反应器出口处的流体中检测到示踪剂为止所经历的时间。

可以使用不同的标记物作为示踪剂。然而,需要说明的是,示踪剂必须具有良好的稳定性和化学惰性,并且具有与底物颗粒相同的流体动力学特性。

众所周知,发酵罐内底物的混合状态会对厌氧发酵的效果产生明显影响。分析发酵罐中物料的停留时间特性对于监测工艺过程质量至关重要。使用不同示踪剂开展的对比测试有助于表征现实生产中发酵罐内物料的停留时间。可以结合使用停留时间测试(采用示踪技术)和 CFD(计算流体动力学)分析工具来识别和判定发酵罐中的薄弱环节。这些薄弱环节包括完全未被混合或未被充分混合的区域(滞流区、死区)、料液短路和浮壳层(凝固层和漂浮层)等。在此基础上,可以进一步推导出停留时间分布密度函数 $E(t)$ 和停留时间分布函数 $F(t)$, 具体取决于在发酵罐中注入示踪剂的方式(以脉冲曲线的方式注入[狄拉克脉冲函数:在 $t=0$ 时一次性添加示踪剂]或者以跳跃曲线的方式注入[从 $t=0$ 时刻开始连续添加示踪剂])。

在推导停留时间分布密度函数 $E(t)$ 和停留时间分布函数 $F(t)$ 的试验法中,所用标记物应具有以下特征:

- 示踪剂的粘度与密度必须与反应物或发酵罐内容物的粘度和密度相类似(具有化学惰性,对反应物的物理性质无影响,且不会被吸附到发酵罐部件上,此外即便在极低浓度下也能很容易地被检测到);
- 应该以等速方式添加示踪剂,以维持流体流动状态不变,
- 示踪剂的扩散系数应尽可能低。



图 63: 萎缩芽孢杆菌的营养细胞、内生孢子和孢子(1,000x)(LTR)(资料来源:德国生物质研究中心)

5.7.1 采用细菌孢子示踪技术测定最短停留时间

可使用好氧内生孢子萎缩芽孢杆菌（同义词 *B. globigii* DSM 675）作为示踪剂。由于其孢子的特殊韧性，因此能够以多重方式将此微生物用作生物指示剂。

在沼气发酵装置中，细菌孢子（大小约为 1 至 2 微米，如图 63 所示）能够与发酵底物充分混合。厌氧条件下的批量试验结果显示，孢子在至少 37 天的停留时间内未被分解（德国生物质研究中心研究项目）。生态无害性细菌的孢子在厌氧消化器中无生化活性。此外，细菌孢子还具有多项优点，例如高耐热性、在发酵底物中并非天然存在（在消化池中无自然背景浓度）、能满足生物材料对品质的要求以及流行病学无害性（非致病性）。此外，还可在实验室中快速可靠地检测这种微生物。

在使用孢子示踪剂开展分析时，必须了解初始悬浮液中的孢子浓度以及环境样品（发酵底物）中萎缩芽孢杆菌的最低检出限。《生物废弃物条例》修订版中提及的孢子浓度（浓度为 10^6 孢子/毫升的发酵底物）在工业级沼气发酵设施中很难定量测定。因此，应进一步改进检测方法，使得在环境样品中检测到更低的孢子浓度（ 10^3 至 10^4 孢子/毫升）。



图 64: 萎缩芽孢杆菌孢子粉作为最终产品（资料来源：德国生物质研究中心）

表面法（固态发酵法）生产孢子

固态发酵法生产孢子时使用胰蛋白胍葡萄糖肉汤（TGB）作为预培养的培养基。可以用一定量的萎缩芽孢杆菌样品（例如 DSM 原种培养物²，孢子悬浮液）接种胰蛋白胍葡萄糖肉汤。

将其在 37°C 温度与 120 rpm 转速的条件下的培养箱振荡器中孵育一天（22±2h），以获得以指数生长速率生长的培养物。

在无菌工作台中，用无菌玻璃移液管取约 2 至 5 毫升胰蛋白胍葡萄糖肉汤培养物，转移至具有酵母提取物琼脂（MYA）的培养皿中，并倾斜数次直至琼脂表面完全被接种物所覆盖。之后，除去过量的接种物并将其转移至下一个平板培养皿中。将培养皿在 30±1°C 的温度条件下恒温培育。

² Bacillus atrophaeus (DSM No. 675 Bacillus atrophaeus Nakamura 1989), Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH [German Collection of Microorganisms and Cell Cultures] (DSMZ Sales, Inhoffenstraße 7 B, D-38124 Braunschweig)

恒温培育三至五天后，在显微镜下评估培养物的状态。继续恒温培育培养皿，直到达到最大孢子形成率且接种的营养细胞完全自溶（8至10天）。

在无菌工作台上，用无菌玻璃刮刀刮去细菌孢子，并将其放入水中制成悬浮液（用大约10毫升的Aquadist蒸馏水洗涤）。用玻璃移液管小心抽出烧杯中的上清液，并收集在肖特瓶中。

取大约50毫升的孢子悬浮液转移至离心管中（用Aquadist蒸馏水去除样品皮重）。用离心法完成四个连续的漂洗步骤（每次都需小心吸取离心管中的上清液，丢弃，再用Aquadist蒸馏水重新填充至原有体积，并在4°C温度与7,000 rpm转速的条件下离心20分钟）。完成最后一步后，再次移液并放入Aquadist蒸馏水中制成悬浮液。将悬浮液（大约100毫升）转移至带有螺帽的500毫升肖特瓶中，并在 $80\pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴条件下加热15分钟，以杀死营养细胞。萎缩芽孢杆菌孢子悬浮液的浓度约为109孢子/毫升，可在4°C冰箱中存放约一年。

用于孢子形成控制的孢子染色技术

首先需要用风干和热固定方式制备细菌培养物制剂。首先，将显微镜载玻片上的样品在90°C下加热固定直至完全干燥。通过添加5%的孔雀石绿水溶液，将制剂在80°C温度下染色1分钟。洗涤后，加入3%的番红花素水溶液并在室温下复染约1小时。然后用放大倍率为1,000倍的显微镜检查制剂。

染色结果

孢子	翠蓝
细菌细胞	红色
细胞残余物	弥散态红色基质

孢子示踪剂的应用

加入生物示踪剂之前，立即在消化池料液出口处收集至少两个样品，供阴性对照实验使用。

为测定停留时间，将生物示踪剂与新鲜发酵底物均匀混合，并以脉冲曲线的方式（狄拉克脉冲曲线）一次性将示踪剂加入发酵罐中。准确计算与发酵底物混合的孢子的量，以方便设定每克（和/或毫升）消化池内容物中某些孢子浓度（例如每毫升发酵底物含有104个孢子）。为此，必须事先确定孢子粉末或孢子悬浮液中的孢子浓度。

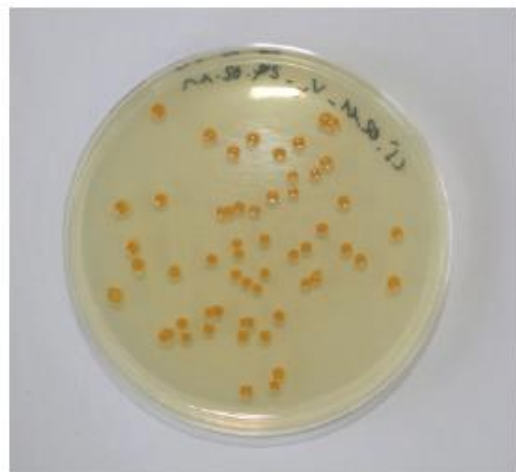


图 65：用标准 I 营养琼脂表面法检测萎缩芽孢杆菌（资料来源：德国生物质研究中心）

必须控制进料中萎缩芽孢杆菌孢子的浓度。

在工业级沼气发酵厂中加入已标记的发酵底物后,从反应器出口处进行采样(每个样品至少采样 20 克),直到第一次在出料中检测到示踪剂为止,且需满足以下最低标准:

- 在连续操作模式下,加入孢子后立即结束采样或 5 分钟后结束采样,
- 每小时采样一次,直到完成 24 小时采样过程(包括第 24 小时),
- 此后每 2 小时采样一次,直到完成 36 小时采样过程(包括第 36 小时),
- 此后每 4 小时采样一次,直到完成 48 小时采样过程(包括第 48 小时),
- 之后每 6 小时采样一次。

检测孢子

预稀释时,从每个样品(约 20 mL/g 的样品)中取 20 克,与 180 毫升氯化钠溶液(0.9% 盐水溶液)混合,并在振荡器上在 4°C 温度条件下震荡 20 小时(150 rpm)。

实现均质化后,从每个样品中取 1 毫升,分别用 9 毫升的氯化钠溶液进行稀释和混合,稀释法采用十进制浓度梯度稀释法,直至稀释级数为 1:10⁻⁸。

此后,用移液管从每份稀释液中分别移取 0.1 毫升样品(以 10⁻⁸ 稀释液开始),用无菌玻璃棒或 Drigalski 刮刀均匀涂抹在两个平行放置的标准营养琼脂平板上(在 37 °C 条件下恒温培育 22 ± 2 小时)。

悬浮液可在 4°C 下储存,稀释阶段应在 4°C 温度下进行。

在琼脂平板上仅对显示出典型的橙色生长的菌落进行计数(图 65)。

计算琼脂平板上的细菌浓度(CFU/mL):

$$\text{CFU per mL} = \frac{\sum c}{\sum_{i=1}^{\infty} 10^{-i+1} \cdot n_i} \cdot F_a \cdot F_b \cdot F_c \quad (69)$$

CFU	菌落形成单位
C	计数平板琼脂上的细菌菌落总数
n	每个稀释度的平板数,从最低级数(n ₁)算起
F _a	第一稀释度的稀释因子
F _b	预稀释因子
F _c	相对于 1 毫升,0.1 毫升注入体积的倍增系数

5.7.2 采用锂示踪技术测定最短停留时间

德国生物质研究中心的一项研究已经证明了锂化合物（氢氧化锂一水合物 $[\text{LiOH} \times \text{H}_2\text{O}]$ ）作为示踪剂的适用性。该化合物在消化池中具有与发酵底物相似的动力特性，且不与发酵底物发生反应。作为金属元素，锂的分析方式非常简单，且可确保检测的精准性。

在确定消化产物中锂的含量时，必须考虑底物较低的自然背景浓度。因此必须在分析之前测定锂的背景浓度。为此，至少提前5天取发酵罐出料样品。在发酵底物（消化物、青贮玉米）中，经测定，锂的背景浓度约为0.25至0.30毫克锂/kg总固体（TS）。锂的背景浓度最高可达5毫克锂/kg总固体（TS），具体取决于发酵底物的类型。

锂示踪剂的应用

为了测定停留时间，首先需将已溶解的化学示踪剂与发酵底物均匀混合，并以脉冲曲线的方式（狄拉克脉冲曲线）一次性将示踪剂加入发酵罐中。应计算与发酵底物混合的锂示踪剂的量，以方便设定每千克发酵液中锂的特定浓度（每千克发酵底物总固体中含有至少50毫克锂）。锂示踪剂的用量和应用取决于发酵罐的进料量和发酵底物的固体含量。

在工业级沼气发酵厂中加入已标记的发酵底物后，取发酵罐出料样品（每个样品至少采样50克），直到第一次在出料中检测到示踪剂为止，且需满足以下最低标准：

- 在连续操作模式下，在加入锂后立即结束采样或5分钟后结束采样，
- 每小时采样一次，直到完成24小时采样过程（包括第24小时），
- 此后每2小时采样一次，直到完成36小时采样过程（包括第36小时），
- 此后每4小时采样一次，直到完成48小时采样过程（包括第48小时），
- 再然后每6小时采样一次。

检测锂

使用王水对样品进行化学分解，并采用电感耦合等离子体发射光谱法（ICP-OES）对样品分析（检测过程遵照多项标准的要求，其中包括DIN CEN/TS 15290、DIN 38405、DIN 38414 S7、DIN EN 13650、DIN EN 13657及DIN EN ISO 17294-2）。然后测定锂的浓度值，浓度单位为每千克总固体中所含锂的毫克数。

5.8 借助示踪剂研究成果判定停留时间

安娜·克雷别克 (Anne Kleyböcker), GFZ

现状	示踪剂研究有助于检测沼气池中的短路、滞流区和死区。这些因素都会对沼气生产造成很大危害, 并且造成经济损失。向各种底物(污水污泥、生物垃圾等)中添加铯作为示踪剂已成为一种成熟的方法。
相关标准	除铯之外, 氟化钠、氯化锂和放射性同位素也被用作示踪剂。
该方法的应用领域	铯示踪剂可用于各种单一或混合底物。
研究的必要性	使用铯示踪剂不仅具有可观的成本效益, 而且还适用于各种底物。然而, 有必要对具有高浊度的底物进行示踪剂测试, 以确定最低检出限。

概述

必须主要根据微生物的繁殖时间判断消化池中发酵底物的停留时间。如果停留时间短于微生物繁殖一代所需要的时间, 则微生物将会被冲出, 且沼气生产效率也会受到严重影响。在这种情况下, 消化池的类型至关重要。如果受附着物的影响, 生物质在发酵罐中的停留时间比液相在发酵罐中的停留时间更长, 则应参考其他指南。停留时间在很大程度上取决于混合物通过装置的时间长短, 受到进料速度和出料速度的影响。混合物通过装置的时间长短又反过来受发酵罐几何结构的影响。搅拌发酵罐的混合搅拌性能愈好, 底物在发酵罐中的分布就愈好, 非发酵性物质的出料量也就愈低。为实现这一目标, 最为重要的是应当避免料液短路、滞流区及死区现象的发生。为此, 应竭力阻止污泥浮壳层的形成和泡沫的形成(杨克[JANKE], 2008)。此外, 出于生态和经济原因的考虑, 混合搅拌的能耗需求也应尽可能保持在低水平。

可以借助于示踪剂测定并推导停留时间分布函数。此类示踪剂应该能够作为冲击负荷被引入发酵罐中, 并且反应器出口处流体中示踪剂的含量也应该是时间的函数(丹克沃茨[DANCKWERTS], 1953)。为了方便数据分析, 建议采用标准化浓度, 以便能够更好地将示踪法的测定结果与其他方法的测定结果进行比较(烈文斯彼尔[LEVENSPIEL], 1962)。迄今为止, 沼气发酵罐中的示踪剂研究主要围绕氟化钠、氯化锂和放射性同位素进行(安德森[ANDERSON]等人, 1991; 布罗特[BORROTO]等人, 2003; 赫尔特杰[HEERTJES]等人, 1982; 蒙蒂思[MONTETH]与斯蒂芬森[STEPHENSON], 1981; 坦尼[TENNEY]与布德金[BUDZIN], 1972; 怀特[WHITE], 1974)。

平均停留时间 \bar{t} 不仅可以根 据停留时间分布函数来确定, 也可用于料液短路和滞流区的检测。在连续全混式搅拌釜式反应器 (CSTR) 中, 平均停留时间与理论水力停留时间相当。

此外,还可以根据方程 70 (杨克, 2008), 通过计算消化池的容积与单位时间进料量的比值得出理论水力停留时间 (HRT) (杨克, 2008)。

$$\text{HRT} = \frac{V_{\text{reactor}}}{\dot{V}} \quad (70)$$

平均停留时间 \bar{t} 可以借助方程 71, 根据停留时间分布函数 $F(t)$ 来推算 (方程 72, (克劳默, 2004))。而这其中的停留时间分布函数 $F(t)$ 是停留时间分布密度函数 $E(t)$ 的积分 (克劳默, 2004)。

$$\bar{t} = \int (1 - F(t)) dt \quad (71)$$

$$F(t) = \int E(t) dt \quad (72)$$

根据 (克劳默, 2004) 在其文献中提及的观点, 可以根据方程 73 计算多项变量, 其中包括计算用于 $n=1$ 条件下采用 1 个搅拌釜实现理想混合搅拌时的分布密度函数, 以及计算用于 $n=2$ 条件下使用 2 个串联式理想搅拌釜时的分布密度函数。为此, 假设每个搅拌釜都可实现理想的流动模型, 不回流。

$$E(t) = ne^{(-nt)} \frac{(nt)^{n-1}}{(n-1)!} \quad (73)$$

铀示踪剂的发展现状与应用领域

除氟化钠、氯化锂和放射性同位素之外, 适合用作化学示踪剂的还有被用作荧光染料的铀 ($\text{Na}_2\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_5$)。凯斯 (KÄSS, 2004) 的研究表明, 在有机物污染严重的地下水和污水污泥中铀既不会被降解, 也不会被吸附。多项实验室内部测量也已证实了这一说法, 并表明铀也适用于沼气厂。铀的最低检出限取决于所用的底物, 并且在最有利的条件下最低检出限甚至可以低于 $0.002\mu\text{g/L}$ 。

与其他示踪剂相比, 铀示踪技术尤其明显的优点表现在成本效率更高, 因为即便在低浓度下铀也能够被检出, 因此极少量铀足以进行示踪研究。也正因如此, 铀还可在无任何大额支出的情况下被加入到发酵罐中。在分析使用污水污泥和生物废弃物进行发酵的沼气反应器时, 例如, 每 1000 立方米的消化池只需 1 千克铀即可满足示踪研究的要求。此外, 由于仅需使用光纤荧光计来测定铀浓度, 因此铀的浓度测定也具有极佳的成本效益。

方法描述

样品制备、材料及设备

为了确定示踪剂研究中铀的最佳用量，建议从待测消化池的消化液中制备能够满足特定铀含量要求的校准系列。为此，该校准系列必须确保覆盖相应大浓度范围，以便即使在多个水力停留时间之后仍可检测到铀的存在。如果铀浓度与荧光强度成比例，则表明铀对于待测消化液具有良好适用性。在未经处理的污泥中，铀不能在不受干扰的前提下完成测量。因此，需要将发酵污泥样品在 10,000rpm 的转速条件下离心两次，每次 10 分钟。在两次离心操作之间，将样品移入新的容器。随后，使用赫尔墨斯公司(Hermes)的光纤荧光计和光纤传感器检查样品——在没有光线的情况下检测其荧光光强。

开展示踪研究

示踪剂作为冲击负荷被引入工业级的沼气发酵罐中。为了检测料液短路的可能性，应当在加入示踪剂之后不久开始测定消化物中的示踪剂浓度。这一点十分重要。由于沼气消化池中经常出现滞流区，因此示踪剂研究应至少覆盖六个水力停留时间。

分析结果与数据

示踪剂的浓度-时间关系曲线就是停留时间分布密度函数的曲线。对停留时间分布密度函数进行积分，就可得到停留时间分布函数（参见概述章节）。

根据方程 71，可从停留时间分布函数中计算得出平均停留时间。确定停留时间特性的基础是正确推导出停留时间分布密度函数的基础。在此，我们应该借助于理想流动模型（理想搅拌釜型模型、理想搅拌釜多釜串联模型、理想搅拌釜多釜并联模型、流量管模型及各类组合模型）来映射得到的测定数据。这些模型可用于预测和判断滞流区和短路现象的存在。

5.9 砂石测定的工艺技术规范

卡特琳·施特拉赫（Katrin Strach），德国生物质研究中心

现状	迄今为止，该方法已被用于测定纤维含量较低的农业残余物、消化液和生物废弃物中矿物组分的粒度分布。用无砂生物废弃物参照物和石英砂进行评估。（克莱纳特[KRANERT]等人，2002b）
相关标准	根据 DIN 66165 测定散装物料的粒度分布
该方法的应用领域	消化液、液体肥料、固体粪便、干鸡粪和生物废弃物。
该测定方法的局限性	该方法尚未被用于纤维含量较高的物料或者易于集聚的物料。对于湿筛法，可用性的最低限度在 5% 的含砂量下进行测定，上限尚未定义。（克莱纳特等人，2002a 与 2002b）
优势	这是一种简单易行、绿色环保的测定方法。粒度分布可作为评估预期损坏和沉降过程的基础。
缺点与不足	该方法非常耗时。
研究的必要性	该测定方法应使用额外的底物和消化液来测定其最小检出限。

筛分分析是一种用于测定散装物料粒度分布的方法，在标准 DIN 66165 中有明确规定。在这一领域，最常见且最简单易行的分析方法是干筛法。但如果使用易于集聚的底物，则湿筛法的测定准确度会更高。使用湿筛法时，需要通过一组筛网在介质水的帮助下对粒度进行量化。

各个组分存在于由有机组分和无机组分共同构成的混合物中，随后可通过测定煅烧损失来“分离”组分。一系列的筛分后混合物只剩矿物组分，以占总固体的质量百分比表示。根据土壤科学建模计算后，矿物成分根据标准 DIN ISO 11277 进行分类，具体取决于如下粒度：

表 20：矿物成分的粒径分类表（不含可溶性盐）

矿物成分	粒度[微米]
砾石	63,000–2,000
砂	2,000–63
污泥	63–2.0
粘土	2.0–0.2

根据表 20 中的定义，为测定底物中的惰性组分，需要使用最多 7 个筛孔尺寸为 63 至 2,000 微米的分析筛。这些分析筛放置在筛分塔中，其中每个筛分塔又由筛网框架和具有不同筛孔尺寸的筛板组成。可以通过操作机器的控制旋钮调节筛分频率。

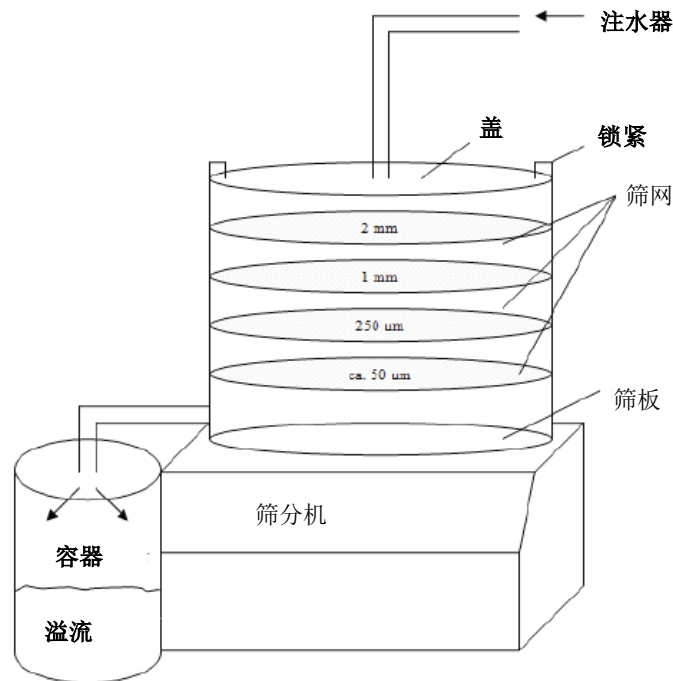


图 66：筛分机的设置（资料来源：施耐德[Schneider], 2010）

湿筛法

使用湿筛法时，在开始筛分之前，应将待测材料转移到含水的悬浮液中，均质化后放置在顶部筛网上。借助注水器，用水冲洗筛分样品，让样品缓慢通过一叠具有不同孔径的分析套筛。在此测试中，所选择的体积流量必须能够确保整个分析筛筛面都被润湿。此外，操作人员还应能够在溢流时控制并设置最大水通量下振动装置的最佳振动频率。之后，对待测样品进行持续漂洗和筛分，直到在筛分塔下方流出的悬浮液在视觉上为澄清透明状且无任何浑浊。

完成筛分后，首先将整套筛网放置在干燥箱中在 $105 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ 的温度条件下烘干 24 小时，然后取出称重并作记录。之后通过小心敲击筛网，将各级筛面滞留的筛出物分别转移到单个烧杯中。在煅烧样品筛出物之后，可通过称重来测定有机组分含量，并可根据方程 74 和 75 计算惰性组分含量。将溢出的悬浮液用一个单独容器承装并称重。采用类似方法，利用部分样品测定样品的惰性组分含量。



图 67：完成湿筛法后的溢流（资料来源：施耐德[Schneider], 2010）

干筛法

使用干筛法时，首先将待测样品放在干燥箱中在 $105 \pm 5^\circ\text{C}$ 的温度条件下烘干 24 小时，然后在马弗炉中在 $550 \pm 5^\circ\text{C}$ 条件下煅烧 3.5 小时。 105°C 条件下的干燥阶段至关重要，因为湿样品的立即煅烧会由于水的瞬时蒸发而产生非常高的温度。从而可能进一步导致膨胀，样品结壳或甚至坩埚破裂损毁。此外，还必须确保样品在坩埚中的均匀分布，以确保样品能够完全干燥和彻底煅烧。待筛出物冷却后，准确称取已准备好的烘干试样并进行均质化。随后，将其放置于分析套筛最顶部的筛网上，并用恰当的频率摇筛不同的时长。随后通过仔细敲打并刷拭筛网，将各个分析筛的筛余试样小心转移到烧杯中。通过逐一称重和计算，测出样品的粒度分布。这种测定方法可直接确定样品中矿物组分的粒度分布；但样品的有机组分只能作为一个整体进行评估。

测定结果的计算

为了计算组分的矿物含量，样品中无机组分的质量被认为与总固体质量有关。通过计算调整无机组分中含有的有机组分杂质，参考范围为 0.9–0.95。该数值取决于有机物料的类型。在测定该数值时，应该从待测样品中提取具有代表性的无矿物成分样品进行测定和煅烧。

$$S_{\text{TS}} = \frac{m_{\text{iOTS}} - (1 - \text{Ref}) \cdot m_{\text{VS}}}{m_{\text{TS}}} \quad (74)$$

S_{TS}	总固体中的纯矿物组分	(%TS)
m_{iOTS}	煅烧后无机总固体的质量	(克)
m_{VS}	煅烧前的挥发性固体质量	(克)
m_{TS}	总固体质量	(克)
Ref	因煅烧而失去的有机组分占比；从过去经验中得的参考范围：0.9–0.95	

如需确定矿物质的总份额，则可对如下各个馏分进行加合：

$$S_{\text{TS tot}} = \sum_1^n S_{\text{TS}} \quad (75)$$

S_{TS}	各个馏分中的砂含量	(%)
$S_{\text{TS tot}}$	总砂含量	(%)

图 68 描绘砂石粒径分布测定结果的示例图。为此检测来自沼气发酵设备消化池中底物与各类样本中的矿物组分含量。（利博储[LIEBETRAU]等人，2011）

该图显示样品总矿物组分中的馏分份额。从该图中可以读出很多细节。例如，显而易见的是，所有被测样品中的粘土和污泥比例都有所增加。

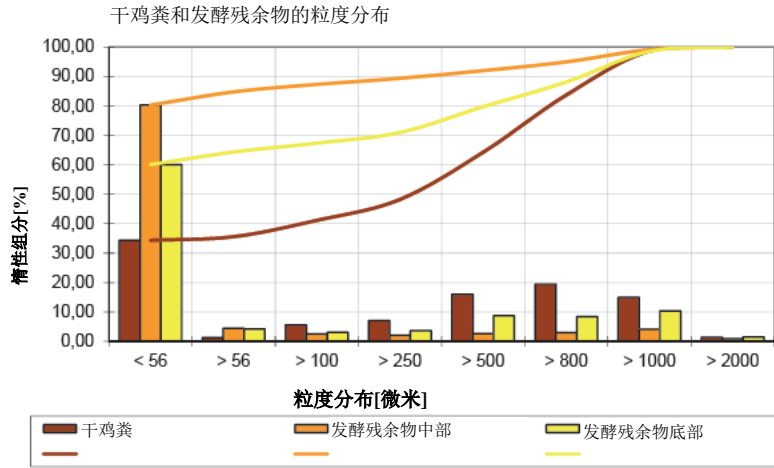


图 68: 砂石粒径分布测定结果直观图 (资料来源: 施耐德[Schneider], 2010)

方法对比

使用干筛法和湿筛法都可实现超过 99% 的回收率。但由于干筛法的操作步骤相对简单易行, 因此误差更小。

两种筛分法都提供了良好的定性数据和可比较的测量结果。从粒径 500 微米开始, 这两种筛分法有可能提供与测试持续时间无关且具定量可比性的测量结果。同时, 当筛分持续时间增加至 30 分钟时, 可在粒径 250 微米处观察到近似结果。原因是随着粒径逐渐减小, 颗粒在分析套筛中的流速逐渐下降。因此, 干筛法适用于通过大量的时间投入来确定惰性组分的占比, 可用于量化最高达 100 微米的各个组分。

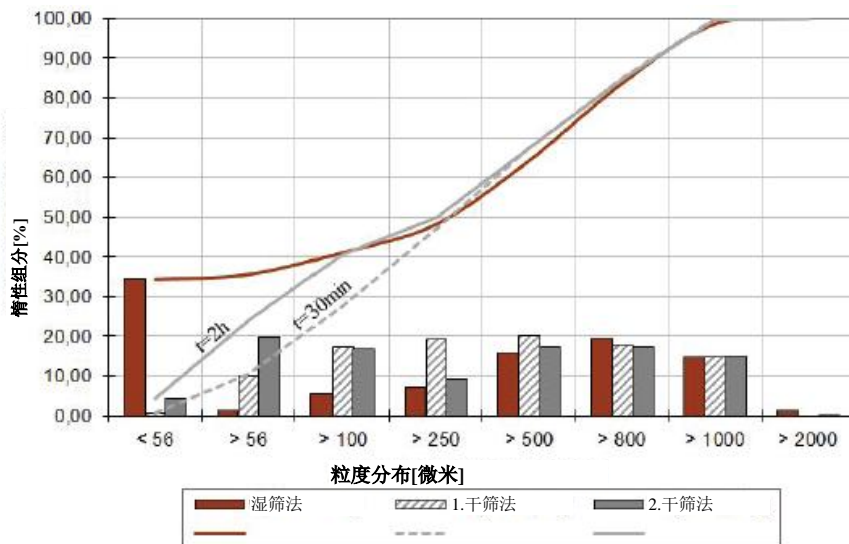


图 69: 不同筛分法的比较 (资料来源: 施耐德[Schneider], 2010)

6 生物学参数的测定方法

6.1 奥伯豪森-罗斯托克-哥廷根活性测试 (ORGA 测试) 技术描述

尼尔斯·恩格勒 (Nils Engler), 罗斯托克大学

现状	作为各类研究项目的一部分, 此测定法已被应用于和/或正在被应用于多个研究领域。目前尚不存在将此测定法应用于常规沼气厂日常运营的可能性, 但该方法是当前研究的热点领域和前沿主题。
相关标准	无
该方法的应用领域	<ul style="list-style-type: none"> ■ 监测消化池中微生物活性指标, 保障消化池微生物的日常维护管理。 ■ 检测底物或发酵液对厌氧降解过程的抑制作用
缺点与不足	<ul style="list-style-type: none"> ■ 检测时间较长 (约 7 天) ■ 不能测定所产沼气的成分
优势	可实现高时间分辨率的连续监测, 因此可详细测定各个分解阶段的生物学参数。
研究的必要性	在测定抑制性底物的生物学参数时: 为确保此测定法在实际生产中的有效利用, 需进一步推导出抑制性底物的实际使用限值。

本节描述的测定方法系由哥廷根应用技术大学可持续能源和环境技术系 (NEUTec) 和罗斯托克大学 (University of Rostock) 废弃物处理与物料管理系 (Department of Waste and Material Flow Management)。本测定法作为 AIF 资助的联合项目的一部分, 受到弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所 (UMSICHT) 的指导。根据三个项目合作伙伴所在的城市, 此测定法被命名为奥伯豪森-罗斯托克-哥廷根活性测试 (Oberhausen/Rostock/Göttinger Activity Test), 简称 ORGA 测试技术。

ORGA 测试技术旨在对使用可再生资源的沼气消化池中微生物菌群的生物活性进行量化分析和比较。其实现方式是, 对标准化边界条件下标准底物的转化过程进行具有高时间分辨率的连续测量。基于标准底物转化的动力学测定, 可以得出关于消化池微生物活性指标的更多差异化信息。此方法所能获得的信息量远超单独使用物料产甲烷潜力测试时所能获得的信息量, 而物料产甲烷潜力试验是现实生产中经典批量试验的常用测定方法。此外, 由于此测定法只需 5 至 7 天试验时间, 因此工厂操作人员能够更快获得所需信息。

此测试法使用由美国安康公司（ANKOM）生产的微生物产气测定仪进行监测和显示。此测定方法的原理是在温度与体积恒定时，混合气体的总压力等于组分气体分压力之和。因此可根据测得的压力增加量判定微生物菌群的产气情况。

根据现实生产中存在的实际问题，可使用不同的标准底物用于 ORGA 测试技术，但这些标准底物都必须满足以下各项要求：

- 可重复性：底物组分已知且可描述
- 测试结果可量化：沼气产气率已知
- 对待测物不会产生任何影响：底物本身不含促进剂或抑制剂
- 具有可降解性：必需营养素的组成与生物质原料沼气厂所用的底物大致相当，且几乎可完全降解

ORGA 测试技术可以使用以下标准化底物：

- 乙酸盐（乙酸）底物可直接用于产甲烷微生物菌群的生物学参数测定。根据乙酸裂解产甲烷的动力学原理，可以推定出产甲烷阶段的相关生物学结论。
- 作为可快速降解的底物，玉米淀粉可用于水解酸化微生物菌群的生物学参数测定。如果使用纯玉米淀粉，甲烷形成的各个阶段在时间上依次连续发生。因此，使用纯玉米淀粉作为基质，可用于分析甲烷发酵的全过程，尤其是从酸化到产甲烷阶段的转变。
- 作为合成式底物复合物，可使用由微晶纤维素、玉米淀粉、葡萄糖、磷酸盐缓冲液及尿素制成的混合物作为底物，并通过调整各组分比例，使得底物复合物的碳氮磷比例大致对应于青贮玉米中的碳氮磷比例。上述复合底物虽然组分复杂，但是具有可重复性的标准底物。

测试方法

测试微生物活性时，应使用有效容积 500 毫升的发酵罐。称量约 15 克挥发性固体的样品，相当于约 200-400 克消化池样品。为确保磁力搅拌器的搅拌性能，必要时可用清水稀释底物。此测定方法需针对每种消化池样品做空白试验、对照试验（使用标准底物的消化池样品），并在适用情况下尝试不同添加方案（酶和微量元素等）。每个试验至少重复三次。将发酵罐放在 38°C 恒温水浴中。每隔 30 分钟测试一次，其中测试系统的时间分辨率可以达到几秒的量级。

使用磁力搅拌器，将发酵罐中内容物每天混合搅拌一次。根据所用底物的挥发性固体含量（kgvs），对比该种样品的空白试验后计算微生物菌群产气率。根据巴斯维尔（BUSWELL, 1952）的研究成果，为显示测试结果，将气体总体积与标准底物的最大理论沼气产率相关联，并绘制成标准化瞬时产气流量曲线图。

因此，此方法所能获得的信息量将远超其他测定法的所获信息量，例如通常在批量试验中使用的物料产甲烷潜力测试。此外，由于所用底物具有良好选择性，因此可以单独分析和评估甲烷生产的各个阶段。

以下标准不仅可用于量化分析消化池中微生物菌群的消化降解能力，还可用于分析比较不同的消化池样品：

- 对于乙酸和合成式底物复合物： t_{50} 是产量达 50% 的最大理论沼气产量所需的时间。
- 对于玉米青贮饲料：此时需使用两项时间标准 t_{40} 和 t_{60} 。这两项时间标准分别对应于沼气实际产量达到最大理论沼气产量的 40% 和 60% 时所需的时间。另外，根据沼气累积产量曲线图中的 s_1 （因水解产生）增量和 s_2 增量（因乙酰生成/甲烷生成产生，单位均为 $[mL/gvs \cdot d]$ 中），可获得关于消化池微生物活性指标的信息。

图 70 描绘的是乙酸和玉米淀粉两种底物的特征性产气曲线图及评估标准。

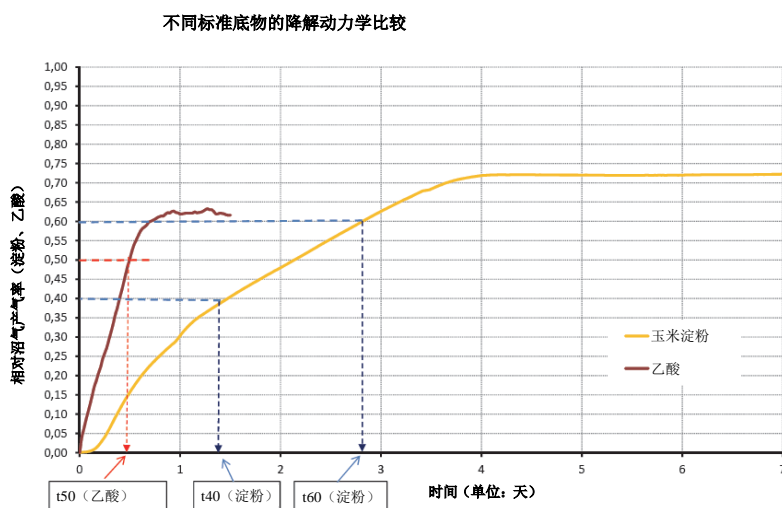


图 70：玉米淀粉和乙酸两种标准底物的典型降解动力学曲线图及评估标准（资料来源：罗斯托克大学）

ORGA 测试技术的开发应用情况

ORGA 测试技术（恩格勒等人，2011）目前尚不成熟。该研究项目的目标在于开发测定方法并将其应用于使用可再生资源的沼气厂，通过优化最佳微量元素添加量进一步提高沼气产量。

该测定法的开发工作已经完成，并且自 2010 年以来，已根据标准化工艺规范的要求在三个项目研究站点投入试点应用。

作为该项目的一部分，研发团队从位于德国梅克伦堡-西波莫尼亚（Mecklenburg-Western Pomerania）、下萨克森州（Lower Saxony）及北莱茵-威斯特法伦州（North Rhine-Westphalia）的大约 40 家沼气厂中提取样品，并采用 ORGA 测试技术进行分析。与此同时，研发团队还对消化池样品进行了全面分析，特别研究了大量元素和微量元素的添加情况。之后，研究团队将采样分析结果纳入工业级沼气厂的优化测试中。在 2011 年第四季度，每个项目研究站点的工业级沼气制气厂都针对大规模测试进行了缜密规划。

在改进后的方案中，ORGA 测试技术也可用于检测潜在的过程抑制剂。目前，该领域的初期研发工作已在有条不紊进行之中。

6.2 产气率测试（批量试验）

马克·林克（Marc Lincke），比约恩·施瓦茨（Björn Schwarz），弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所

现状	此测定法的开发工作业已完成，可供应用。
相关标准	（VDI 4630 2006 指南）；DIN 38414-8；德国农业调查与研究部署协会《方法手册》第七卷《环境分析与产气率测定》第 4.1.1 节
底物类别	适用于任何成分的生物源底物
总固体含量范围：	0%–100%（初始样品中的总固体含量，发酵罐中底物混合物中总固体含量最多为 10%）
粒度	最大长度：5 厘米（否则需要预先粉碎）
该测定方法的局限性	无任何限制，因为待测底物对发酵过程的任何降解抑制亦是分析研究的主题之一
优势	兼具易操作性和耐用性等特征
研究的必要性	需要进一步研究与其他测定法和其他接种物测定结果的可比性（实验室间比较，因为它们已由 KTBL 完成测定）

借助物料产气率测试技术，将能够阐述物料的厌氧可降解性、在最佳条件下可实现的气体生产的数量和质量，并对降解速度进行定性评估。然而，物料产气率测试技术并不能描述底物连续发酵过程的过程稳定性，因为只有较长时间的进料循环之后才会产生抑制或适应效应。

进行物料产气率测试时，可参考相关的 VDI 指南（VDI-4630 2006 指南）。该指南全面探讨了可用设备、测试设置、表征方法和基本计算方法。2012 年，VDI 指南完成了对 2006 年版本的修订工作。此外，德国农业调查与研究部署协会的《方法手册》中描述的方法还阐释了最重要的分析步骤，并通过多个实验室间的运行比较验证了该方法。在下一章节中，作为实施 VDI-4630 指南的一项实例，我们将详细介绍弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所德累斯顿序批式发酵装置的具体设置和沼气产气率的确定方法。

采样与样品制备

与 VDI GUIDELINE 4630 的规则和规定相辅相成的是，只有在未处理的样品无法转移到发酵设备中或初始样品的不均匀性不允许的情况下，才适用固体基质的样品预处理（尤其是切割或压碎）用于发酵测试的代表性部分样品。在这种情况下，必须考虑到沼气产量测试的结果不一定与未处理样品的实际气体产量相对应，因为样品预处理过程可能已经改变了沼气产量。

材料与设备

测试装置（图 71）按照 DIN 38414-8 标准列出的指导原则建模，且包含以下组件：

配有恒温器的水浴装置

- 容积为 1 升的玻璃反应器，其有效容积为 700 毫升
- 微量气体流量计 Milligascounter® MGC-1 V3.0
- 气袋（防扩散，采用 PP 连接）
- 气密性软管，用于连接反应器与微量气体流量计 Milligascounter®与气袋

除恒温器之外，水浴装置的所有组件都已通过气密性和测量精度等领域的全面适用性测试。我们建议针对所有最新设计的测试设备开展气密性和测量精度验证，因为经验表明，即使是市售的零部件在气密性和测量精度等领域也可能存在严重缺陷。

测定方式

此测定法使用公共污水处理厂的活性消化污泥（来自周转）作为接种物。这种消化污泥在取样后应立即加入玻璃反应器（每个反应器 600 克）中，从取样到密封之间的时间间隔不应超过 4 小时。

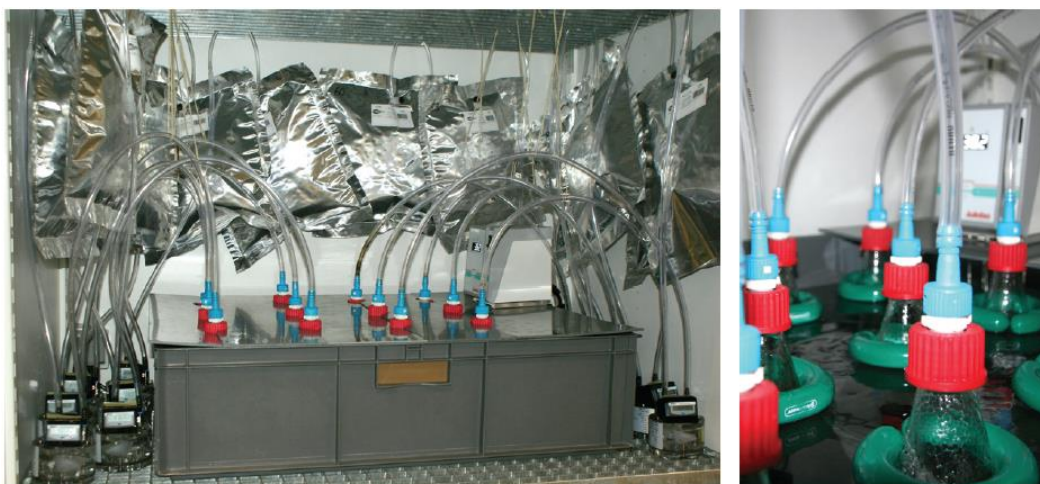


图 71：序批式反应器（容积为 1 升）、水浴、微量气体流量计及气袋（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

当平均总固体含量为 3.7% 且平均挥发性固体含量为总固体含量的 50% 时，可遵照执行 VDI 指南中列出的各项要求（制剂中接种物的有机物含量为 1.5% 至 2.0%），以确保安全。将接种物在 38°C 的恒温条件下进行为期大约 7 天的厌氧恢复。厌氧恢复的目的在于确保各个反应器中气体生产的同步性。在成功启动之后，向各个反应器中加入待分析的底物。根据 VDI 4630 指南中的规定计算所需样品的数量，具体等式如下：

$$\frac{VS_s}{VS_{inoc}} = 0.4 \quad (76)$$

VS_s 底物中挥发性固体的含量 (克)

VS_{inoc} 接种物中挥发性固体的含量 (克)

此后借助漏斗，将物料从反应器开口处直接加入反应器。为验证接种物的生物活性，还在每份制剂中添加微晶纤维素作为底物参照物。为了确定接种物本身的产气潜力，需使用至少三个反应器作为测试对照。这三个反应器应在不添加任何底物的情况下同步运行。不强制性要求用氮气吹扫反应器（容积为 1 升）上部空间，因为迄今为止，用氮气吹扫反应器后并未观察到气体生产出现任何差异。将物料加入反应器后，立即将微量气体流量计归零并安装气袋。每天检查测试一次，并在检查过程中执行如下操作步骤。

- 使用数字气压计测量当前气压
- 使用数字温度计测量当前室温
- 读数并记录沼气产量
- 振摇反应器（手动）（→对于长度极长的样品[例如稻草或草]此方法最有效），
- 检查水浴的液位高度。

在测试至少 30 天并且每天沼气产量小于到该时间节点时沼气总产量的 1% 时，可以中止测试。

此测定法使用德国依姆公司（Eheim）发酵气体分析仪 Visit 04 对所产沼气（气袋中沼气）的组分进行定量测定。该分析仪采用光学技术测定氧气和甲烷的含量，采用电化学技术测定二氧化碳和硫化氢的含量。此方法可测定沼气总产量的平均值，但不能测定沼气的瞬时产气流量。

数据分析

在进一步分析之前，必须将通过微量气体流量计测得的沼气体积换算为标准状态下的沼气体积（方程 77）。

作为 VDI 指南中技术规范的补充,陶瓷技术和系统研究所还考虑了在大气压力出现变化的情况下上部空间体积对微量气体流量计测量值的影响。对于本章节描述的反应器,反应器 (V_{GP}) 中的气相体积为 500 毫升。大气压降低时,上部空间体积变大。大气压升高时,上部空间体积则变小。这导致在测量即将结束时,测量值出现不必要的波动(在沼气产量低时易出现此种波动)。

$$V_{STD} = \left(V_c - V_{c-1} - \left(\frac{V_{GP} \cdot P_{c-1}}{P_c} - V_{GP} \right) \right) \cdot \frac{P_c - P_W + P_L}{P_{STD}} \cdot \frac{T_{STD}}{T_c} + V_{STD-1} \quad (77)$$

V_{STD}	标准状态下的沼气体积	(毫升)
V_c	当前体积读数	(毫升)
V_{c-1}	前一天体积读数(和/或最后一次读数)	(毫升)
V_{GP}	反应器中的气相体积	(毫升)
P_c	当前气压	(毫巴)
P_{c-1}	前天气压(和/或最后一次读数)	(毫巴)
P_W	水压分压(22°C 时 26.4 毫巴)	(毫巴)
P_L	微量气体流量计中测量室上方液柱的压力(2 毫巴)	(毫巴)
P_{STD}	标准压力(1013.25 毫巴)	(毫巴)
T_{STD}	标准温度(273.15 K)	(K)
T_c	当前环境温度	(K)

为确定仅由待分析底物生产的产量,我们从样品的标准化产气体积中减去对照反应器(仅接种底物)的标准化产气体积。为提高待测底物产气率与其他底物产气率的可比性,需要计算待测底物在标准状态下的单位产气率,即根据以下方程,将标准状态下样品的产气体积除以底物中的挥发物固体含量。

$$V_S = \frac{V_{STD}}{VS_s} \quad (78)$$

V_S	标准状态下的单位产量,与挥发性固体有关	(L (STP)/kg _{oDRcond})
V_{STD}	标准状态下样品的产量	(L (STP))
VS_s	底物中的挥发性固体含量(进料)	(千克)

图 72 描绘了不同底物的单位产气率曲线图作为示例。

根据 VDI 指南的要求,为消除来自反应器上部空间的水蒸气、氮气及氧气的影响,需要参照方程 79 对甲烷和二氧化碳的浓度值进行校正。

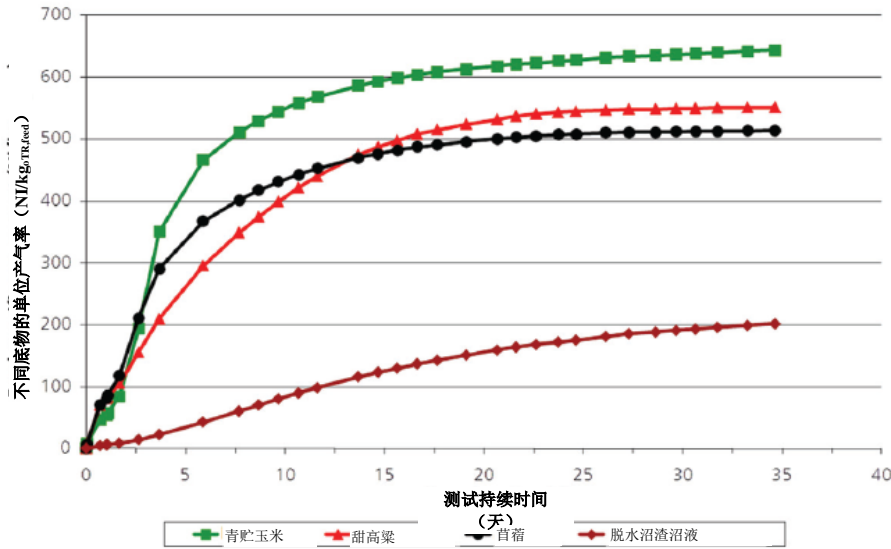


图 72: 批式产气测试 – 不同底物的单位产气率曲线图 (资料来源: 陶瓷技术和系统研究所)

$$C_{\text{corr}} = C_{\text{CH}_4 \text{ or } \text{CO}_2} \cdot \frac{100}{C_{\text{CH}_4} + C_{\text{CO}_2}} \quad (79)$$

C_{corr} 上部空间校正后甲烷或二氧化碳其他的浓度 (%)

C_{CH_4} 甲烷浓度测量值 (%)

C_{CO_2} 二氧化碳浓度测量值 (%)

如果在测定沼气产量的过程中发酵液与所生产的沼气发生接触, 则必须谨记: 气体组分可以部分溶解并因此迁移到发酵液中。例如, 即使对所用密封液进行酸化也无法阻止二氧化碳的纯物理溶解。在极端情况下, 气体组分溶解在密封液中会对气体的数量和质量产生影响。在使用微量气体流量计 Milligascounter® 测定气体体积 (含有少量密封液的气体流量计) 时, 当气体产量偏小时, 此种影响可能很大, 因此应对每个测试装置进行检查, 以便在必要时引入校正因子。

假设在连续运行的反应器中不会产生正向或负向的额外效果, 且能够实现反应器内容物的完全混合状态, 则可以将批量试验的结果转换成连续条件。根据反应器的数量及其水力停留时间的长短, 可以根据搅拌釜理论, 借助工艺工程计算而算出每个反应器的平均产量, 具体因反应器数量及其水力停留时间长短的不同而异。对于停留时间极长的反应器, 必须提前预计在批量试验结束后沼气生产的进一步进展, 否则必须选择更长时间的测试。

6.3 连续发酵测试（一）

马克·林克，比约恩·施瓦茨，弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所

现状	此测定法的开发工作已完成，随时可供使用。
相关标准	VDI 4630 指南（2006）
适用领域	<ul style="list-style-type: none"> ■ 底物类型：任何成分的生物物质底物。总固体含量范围：0 % - 100 %，其中通过添加水或其他液体底物使得投加的底物混合物中总固体含量不超过 15%，具体取决于总固体含量的大小。 ■ 粒径：最大长度 = 3 厘米（如有必要，可做预破碎处理）
该测定方法的局限性	无任何限制，因为待测底物对发酵过程的任何降解抑制亦是分析研究的主题之一
研究的必要性	<ul style="list-style-type: none"> ■ 需要进一步研究与其他测定法测定结果的可比性 ■ 需进一步考虑如何适配工业级沼气厂测定需求的问题（优势在于，陶瓷技术和系统研究所拥有可用的实验室级发酵罐和中试级制气厂[10 立方米]）

借助连续发酵测试技术，可以在下列方面，根据底物容积产气率和沼气质量，就厌氧降解过程的长期可控性和稳定性做出描述：

- 有机负荷和停留时间的影响
- 多级工艺与多相工艺管理
- 抑制剂的浓度和影响
- 营养素和微量元素的影响
- 混合搅拌与进料间隔的影响

由于可用测试设备的带宽和测试目标都极高，因此目前不存在用于连续发酵测试的标准化测定方法。在可行测试设置和连续测试操作步骤方面，VDI 4630 标准提供了一些指引。与产气率测试描述相类似的是，作为示例，本章节随后将描述在弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所实验室级发酵系统中执行准连续发酵测试的各项细节。

采样与样品制备

采样时，必须确保所采集的样品具有充分代表性。



图 73：弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的实验室厌氧消化装置

还必须审慎考虑 VDI 4630 指南中列明的采样流程建议。为确保底物品质的均一性，还需选择合适的贮存方式。合适的贮存方式可包括室温下干燥储存（例如稻草）或室温下储存（例如稻草）或将底物放置在冰箱（例如青贮饲料）中储存，以及易腐败底物（例如生物废弃物组分）的霜冻储存方式。为避免出现运行故障（例如堵塞和缠绕搅拌器），在保存和/或进料之前，必须（使用切割式研磨机或绞碎器）将长纤维底物（例如稻草与草等）粉碎。对于下述测试设备，底物的最大纤维长度不得超过 3 厘米。

材料与设备

实验室级发酵系统主要包含以下部件：

- 不锈钢制反应器（具有良好气密性）
- 加热设备（加热套或配有水加热系统的夹套反应器）
- 中央搅拌器（设有穿过反应器盖的气密通道）
- 用于测量温度和 pH 值的传感器以及（在适用情况下）氧化还原电位
- 配有漏斗的进料口（可密封，具有良好气密性）
- 出料口（用于清洁和清空）
- 配有浸没管的测试开孔
- 抽气喷嘴
- 定量与定性气体评估设备（微量气体流量计 Milligascounter® MGC-1 V3.0）、气袋及气体分析装置）
- 测量与控制设备

根据经验，应在工厂调试期间完成所有系统组件的全面密封性测试，之后还应定期进行此类测试。反应器盖中的搅拌釜管路特别容易发生渗漏。陶瓷技术和系统研究所已完成大型装置（包含搅拌釜与轴封）的测试和验证工作（参见图 74）。



图 74：在弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所开展的连续实验室消化进程

方法

反应器由工业级沼气厂的沼渣沼液启动，或者由公共污水处理厂的消化污泥启动，具体因测试计划的不同而异。为验证反应器的同步性能，应连续数天或数周向各个反应器中投加相同底物。随后，根据测试计划完成底物的转换。

之后，需要根据预期的有机负荷计算必要的进料量。计算过程中应充分考虑底物特性和反应器规格尺寸。额外投加的水分和反应器内部沼渣沼液的液相（沼渣沼液经固液分离后得到的液相）都会对底物的水力停留时间产生影响。考虑到反应器的规格尺寸，还必须审慎选择这些变量，以此确保水力停留时间与测试目标相匹配。此外，还可以通过调节所添加液体的量来调节向反应器中加入的固体含量，从而进一步调节反应器中的总固体含量。由于可能存在的搅拌问题或形成漂浮在液面上的浮渣层，而阻止沼气生产，因此应避免加入固体含量较高的底物（总固体含量 > 10 至 12% ）。该临界值的具体大小主要取决于反应器和搅拌釜的设计。

在默认情况下，应每周七天向发酵罐中投加底物。如果不能在周末投料，则可使用以下经过验证的进料分配方案。这些方案可确保青贮玉米或类似可降解底物能够均匀地生产气体：

表 21：连续发酵测试的进料量分布

星期	星期一	星期二	星期三	星期四	星期五
相对于日进料量平均值的进料量	160 %	80 %	80 %	90 %	90 %

否则，如果每个工作日的进料量相等，则在一周的进料周期中会出现产气峰值骤增的现象，因为前一周进料的底物产生的沼气越来越多，将在一周结束时加起来。此外，周末不进料期间，经过修整后，反应器能够更有效地处理更大的进料负荷。

对于每周七天向发酵罐中投加底物的默认进料方式，应预先称量所需重量的底物并将其转移到烧杯中（不同测试计划所需的底物量各不相同）。在陶瓷技术和系统研究所，操作人员通过反应器盖上的进料漏斗来手动进料。此外，操作人员还需每周从反应器中采集沼渣沼液两次。其目的有二，一是能够产生足够量的沼渣沼液用于后续处理，二是为了最大限度地减小单次工作量。沼渣沼液的抽样量根据待测反应器料液水位的不同而异，但必须确保所有有待比较的反应器的平均料液水位始终维持恒定不变。之后，使用浸没管从发酵罐中抽取样品。然后借助氮气加压风机用氮气产生的正压将样品从反应器中推出。过量抽取的发酵液与进料基质一起再次送回到反应器中。

采样后，应立即参照分析计划对所有进料和出料进行分析。对于不同的反应器规格尺寸，可使用相同的分析计划，甚至更复杂的多级工艺（例如单独的水解预处理装置或者以串联方式连接的发酵罐）也可使用相同的分析计划。

在实验室规模反应器运行期间，使用电子设备记录 pH 值、温度、氧化还原电位和产量。所生产的沼气收集在气袋中，并以不连续方式测试沼气组成成分（甲烷、二氧化碳、硫化氢及氧气）。如需进一步分析，可根据方程 77 至 79 计算沼气项目的 24 小时内的标准体积流量。

中试规模

实验室测试的最大缺点，是因底物粒度与底物质量的限制而导致的测试设置限制。因此，根据待测底物类型而确定的部分底物量并不总是具有代表性。此外，几乎不可能以合适的成本来测试工业规模装置的连续操作效果，例如测试基质的预处理、沼气产量等工艺过程时，很难将成本控制在合理的范围内。然而，得益于发酵测试的中试装置（例如反应容积为 10 立方米），这些实验室测试中的突出弱点可以在一定程度上得到补偿。此外，在样品代表性、辅助制备技术的功能性以及反应器中搅拌釜混合搅拌性能评估等领域，相比实验室测试，中试级测试的测试结果能够更可靠地用于指导生产实践。

作为具有大量不确定性的系统化实验室测试与工业规模应用之间的连接环节，中试设备是工艺开发的重要阶段。

作为示例，图 75 显示弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的发酵测试设备。该中试设备主要包括以下部件：

- 底物预处理容器，配有收集罐、螺杆挤压机和生物挤出机
- 混合罐/单独水解装置
- 配有固体收集罐的螺旋进料器
- 发酵罐，配有发酵底物分布系统、加热系统及控制系统
- 两个加热式消化罐，消化罐总容积为 10 立方米
- 双配置气路，配有两个储气罐和冷凝水收集器
- 气体净化剂（活性炭）



图 75：弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的中试沼气发酵设备

6.4 连续发酵测试（二）

卡特琳·施特拉赫（Katrin Strach），德国生物质研究中心

现状	此测定法的开发工作已基本完成，可供应用。
相关标准	根据 VDI 4630 指南（2006）建模
适用领域	适用于所有生物质底物，总固体含量范围为 0-100%；底物混合物的总固体含量不应超过 35%。
该测定方法的局限性	进料料液的最大粒径取决于消化池的几何形状，即进料模式下的最大有机加载速率。
研究的必要性	应进一步研究扩展至工业级沼气制气厂的可行性；与其他测定法所获测定结果的可比性（例如批量试验）；旨在实现连续饲料的自动进料系统；旨在提高混合搅拌均匀度的新型进料方式；以及测试的可再现性

进行连续发酵测试（此处使用搅拌釜使原料充分混合）的目的在于判别在连续运行模式下生物源底物的发酵性能。为此，可以测定特定条件下物料产气率、气体组成、挥发性固体降解率、工艺中断和/或过程限制条件相关的数据。当测试持续时间足够长（至少是停留时间的 3 倍）时，这些测试可以反映静止状态（即工艺参数的变化为零时的状态）下的系统情况。

为此需开展连续测试，以获得对以下领域的深入见地：

- 以下不同参数下的单位底物产气率
 - 不同有机负荷、水力停留时间及多相和/或多级工艺流程
 - 不同进料方式、混合搅拌方式及发酵温度
 - 受添加剂（例如酶）的影响
 - 应用消化过程
- 抑制因子的累积和影响
- 物料流动、质量平衡以及静止状态下的底物浓度和惰性物质浓度
- 测定有机组分的最大降解程度。

在连续发酵测试中，由于在设置和操作过程中存在的大量可行性方案，因此迄今为止尚未建立标准化测定方法。VDI 4630 指南提供了有关工艺流程选择的具体操作建议，并描述了具体细节。以下章节描述了在实验室规模的连续运行式搅拌釜式反应器中开展连续发酵测试的方法。

底物采样与储存

用于连续发酵测试的底物必须是具有充分代表性的样品；这是确保测试结果有意义的首要条件。除 VDI 4630 指南之外，废弃物行业或水处理技术的相关规定与法规有时也会为底物采样提供良好的操作建议，具体因底物类型的不同而异。为确保底物均一性，必须妥善保存底物。干物质可在室温下干燥储存。针对易腐败变质或挥发性组分含量高的物质，应该经真空处理后，将其密封在透明薄膜中，然后放入冷藏或冷冻装置储存。如采用冷冻储存方式，则必须考虑到发生细胞破裂的可能性，因此可能需要对此类物料进行预处理。否则，进料原则上必须置于冷藏（+4℃）条件下储存。此外，还应尽可能避免在测试中对易于处理的底物进行预处理，以确保测试条件与实际生产条件相匹配。底物物理形状的变化（例如切割或压碎）可导致底物降解程度的变化。

设备与材料

用于连续发酵测试的测试装置应包含以下组件：

■ PVC 反应器（图 76）

- 双壁设计
 - 带漏斗的进料管（浸没式）
 - 浸没式搅拌器轴
 - 用于抽取沼渣沼液的出料口
 - 用于气体排放和压力均衡的集气口
 - 检查孔
- 配有气密性通道盖的搅拌系统或搅拌器
 - 采用循环恒温加热器加热
 - 气体流量计
 - 气袋
 - 气体分析装置
 - 测量与控制设备

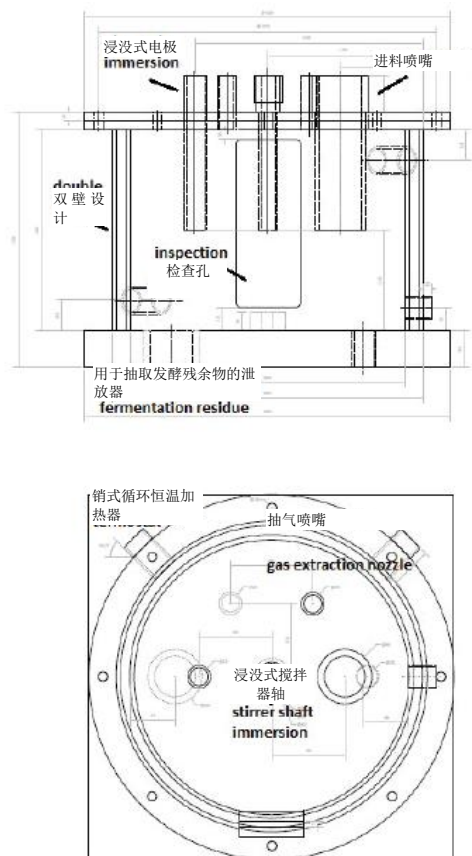


图 76：总容积为 15 升的消化池设备图



Figure 77: Laboratory for continuous fermentation tests at the DBFZ

反应器采用双壁结构设计。反应器壳体中的水通过恒温循环水箱实现加热和回流循环。反应器中安装的搅拌系统为中央搅拌系统。使用桨式搅拌器或斜叶桨式搅拌器确保发酵液的充分混合。科研人员已针对高粘度介质开发出类似的锚式搅拌器模型。测试装置必须具有良好气密性。在调试之前，应对系统进行全方位气密性测试。特别容易泄漏的位点包括反应器盖衬垫、集气口和软管接头。图 77 显示全套测试装置中的六个沼气反应器。

测定方式

反应器应在与嗜温和/或嗜热操作模式相对应的既定温度范围内运行。在 50 至 100 转/分钟的旋转频率范围内对物料进行连续混合搅拌。如使用桨式搅拌器或斜叶桨式搅拌器，则搅拌所需的旋转频率应该更高。更适合含微生物物料的搅拌方式是锚式搅拌器，以缓慢旋转的速度实现物料混合的均质化。

在测试开始之前，向消化池中投加来自沼气厂沼渣沼液/发酵混合物。如有可能，可根据测试计划向消化池中投加与之相类似的底物。理想情况下，沼气制气设备的有机负荷应与测试计划中规定的有机负荷一致。此外，还应根据测试计划中规定的有机负荷和停留时间，每天对底物进行称重。在进料之前，通过位于反应器底部的球形阀进行取样。这些发酵液将被用于全过程分析和/或作为出料妥善处理。为此，必须考虑到在排放管和消化池底板上可能出现的死区，死区内固体组分发生沉积，物料混合效果不良。为获得具有充分代表性的样品，建议首先应将相当数量的发酵混合物送回消化池，然后再抽取样品。每天经由进料漏斗至少手动进料一次。为方便操作人员向消化池中投加干燥底物或长纤维底物，可使用发酵混合物稀释底物。在投加含水量极大的底物时，可借助软管泵以每天多次投加方式完成进料操作。测试过程中，必须确保消化池料液水位在任何情况下都保持恒定。为此，可借助位于检查孔处的刻度进行视检或通过进料管的测量杆进行检查。在沼渣沼液抽回和进料过程中，必须确保系统中压力均衡，以免空气进入或在气体流量计中形成负压。为此，应将装有沼气的气袋连接到位于消化池盖上的旁路上，并暂时断开产量测量装置。为实现良好的过程控制，应每天测定消化池出料的 pH 值（或者最好是在产气过程中连续测定其 pH 值）。

挥发性有机酸、VOA/TIC、总氨氮（TAN）、固体总量/挥发性固体和/或化学需氧量以及单个组分挥发性有机酸等参数应每周记录 1 至 2 次，具体视测试计划和必要性的不同而异。所产生的沼气通过气体流量计，以确定所生产沼气的体积。之后，沼气收集至气袋，并采用过程分析系统自动检查沼气的组成成分。此外，过程分析系统还会测定甲烷、二氧化碳、氧气和氢气的浓度。

根据所需过程状态（在启动阶段或在测试过程中）进行的调试可采用不同方式进行。在大多数测试过程中，这都与有机负载率的增加相关。如果对进料底物的各项性能都已经过深入研究且计算合理准确，则能够以每天 0.1 gVS/L d 的增幅连续增加负荷。在这种情况下，必须时刻注意产气情况和有机酸的浓度，以便能够在工艺过程发生过载时及时采取干预措施。

一项可行的干预措施，是以每天 0.5 gVS/L d 的增幅逐渐提高有机负荷，然后保持稳定，直至工艺参数在大约两周的时间内保持不变。可进行下一轮提升有机负荷的操作。这项干预措施十分耗时。如果向消化池投加恒定数量和组成的底物且料液水位始终保持恒定，则该过程接近静止状态。而在静止状态下，过程参数的变化为零。此时，惰性物质将符合阶跃响应曲线，显示出惰性物质浓度的以下时间变化。

该过程接近静止状态，对应于图 78；为此，可在足够近似的情况下终止测试，具体视测试目标的不同而异。

然而，必须考虑到生物系统也可能对过程中变化显示出延迟响应的特性。因此，很难针对因物质匮乏（例如缺乏微量元素）而引起的过程波动进行时间上的预判。

因阶跃响应曲线（R1 和 R2）而导致搅拌罐内示踪剂浓度的变化；停留时间为 80 天； $C/C_0=1-\exp(-t/t_0)$

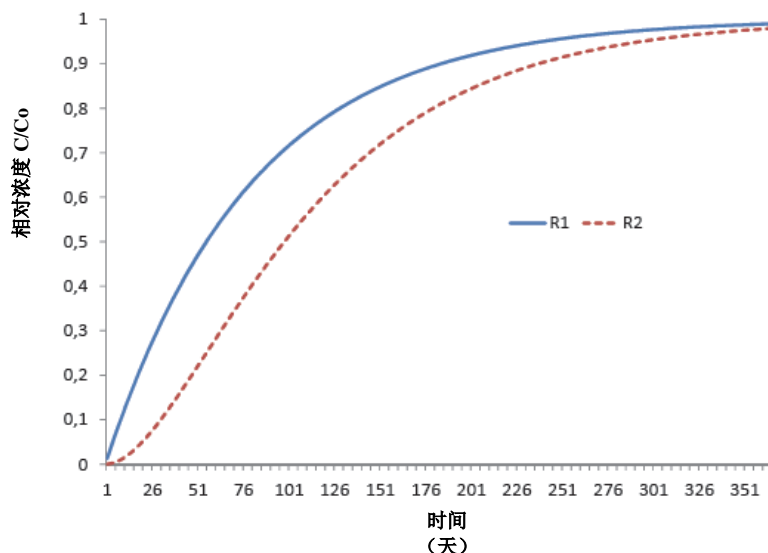


图 78：当停留时间为 80 天时，因阶跃响应曲线（R1 和 R2）而导致搅拌罐内示踪剂浓度的变化（资料来源：德国生物质研究中心）

周末进料

对于沼气的连续生产工艺流程，除正常工作日外，周末和节假日也应正常进料。为精简工作流程，周末期间仅在特殊情况下才从发酵罐中抽取发酵混合物。然后在下一个工作日再次添加料液至正常料液水位。

分析

如果不能确保每天在同一时间测量沼气日产量，则必须每天记录两次气体流量计读数和读数时间，以此计算每天的沼气产量。相邻两次读数之间的时间间隔应至少 30 分钟，且应在每天进料之后不久读取气体流量计的第二次读数。然后可以使用以下方程，将已读取的沼气流量读数换算为 24 小时沼气的标准体积流量。

为此，首先需要计算平均产气率。

$$V = \frac{GM_1 - GM_2}{\Delta t} \quad (80)$$

V 平均产量 (mL/h)

GM₁ 气体流量计的第一次读数平均产量 (毫升)

GM₂ 气体流量计的第二次读数 (毫升)

Δt 第一次与第二次读数之间的时间间隔 (小时)

由于每天的进料时间不尽相同，因此需要考虑到 24 小时内的因进料时间的不同而导致的沼气产气率变化。

$$\Delta t_{24} = 24 - \Delta t_F \quad (81)$$

Δt₂₄ 24 小时时间差 (小时)

Δt_F 在测试日当天的进料时间与测试日前一天的进料时间之差 (小时)

在计算中，可以用安托因 (Antoine) 方程 (比尔沃斯[BIERWERTH], 2011)，将某状态下的湿沼气体积换算成标准状态下 (标准压力 101.325 千帕和标准温度 273.15K) 下干沼气的体积。

$$V_{STD} = (V \cdot \Delta t_{24} + GM_{2-2}) \cdot \frac{\left(\left(\frac{[kPa]}{P_a - 10^{7.19621 - \frac{1730.63}{233.426 + T_a}}} \right) + \Delta p_{GM} \right) \cdot 273.15K}{101.325kPa \cdot (273.15K + T_a)} \quad (82)$$

GM₂₋₂ 根据气体流量计读数，自上次进料后的产量 (毫升)

V_{STD} 标准状态下的沼气体积 (mL (STP)/d)

P_a 环境压力 (千帕)

Δp_{GM} 气体流量计的压力损失 (千帕)

T_a 环境温度 (°C)

为计算总固体降解率，必须综合考虑进料质量、出料质量及总固体含量等要素。由于某些底物和沼渣沼液会含有一些挥发性物质，而在根据 DIN 12880 标准的要求测定底物总固体含量时会丢失的这些挥发性物质，因此需要用挥发性有机酸浓度对总固体含量进行校正。

$$TS_{\text{decomp}} = \frac{(m_{TS, \text{inp}} + c_{\text{inp}}) - (m_{TS, \text{dis}} + c_{\text{dis}})}{(m_{TS, \text{inp}} + c_{\text{inp}}) \cdot 100} \quad (83)$$

TS_{decomp} 总固体降解率 (%)

$m_{TS, \text{dis}}$ 出料的总固体含量 (克)

$m_{TS, \text{inp}}$ 进料的[总固体]含量 (克)

c_{inp} 进料（进料口）中挥发性有机酸的浓度 (g/kgww)

c_{dis} 出料中挥发性有机酸的浓度 (g/kgww)

可以用称重法测定出料的质量（在料液水位始终维持恒定不变的情况下）。此外，还可使用以下方程计算沼渣沼液的生化指标。

$$m_{\text{biogas}} = \left(M_{\text{CH}_4} \cdot \frac{V_{\text{STD}} \cdot c_{\text{CH}_4}}{V_m} \right) + \left(M_{\text{CO}_2} \cdot \frac{V_{\text{STD}} \cdot c_{\text{CO}_2}}{V_m} \right) + \left(M_{\text{H}_2\text{S}} \cdot \frac{V_{\text{STDd}} \cdot c_{\text{H}_2\text{S}}}{V_m} \right) + m_{\text{wv}} \quad (84)$$

m_{biogas} 已生产沼气的质量 (克)

$M_{(x)}$ 相关气体的摩尔质量 (g/mol)

V_m 理想气体的摩尔体积 (L (STP)/mol)

$c_{(x)}$ 相关气体的浓度 (%)

m_{wv} 沼气中水蒸气的质量 (克)

利用进料和出料中的挥发性固体物质含量计算挥发性固体物质的降解率。

$$VS_{\text{decomp}} = \frac{m_{VS, \text{inp}} - m_{VS, \text{dis}}}{m_{VS, \text{inp}} \cdot 100} \quad (85)$$

VS_{decomp} 挥发性固体物质降解率 (%)

$m_{VS, \text{inp}}$ 进料（进料口）中挥发性固体物质含量 (克)

$m_{VS, \text{dis}}$ 出料中挥发性固体物质含量 (克)

总固体含量的校正也会对测定结果产生影响。因此，可以用挥发性有机酸浓度校正挥发性固体含量，以充分考虑到有机物质降解的影响。

$$oS_{\text{decomp}} = \frac{(c_{\text{inp}} + m_{\text{VS, inp}}) - (c_{\text{dis}} + m_{\text{VS, dis}})}{(c_{\text{inp}} + m_{\text{VS, inp}}) \cdot 100} \quad (86)$$

oS_{decomp} 有机物质降解率 (%)

为能对平行测试的实验偏差作出评估，我们使用了平行运行的两个消化池的沼气产量数据。在测试中，我们研究了有机负荷增加时生物质原料发酵性能的变化情况。图 79 显示沼气产量和有机负荷的变化曲线，图 80 则显示同一次测试中的沼气累积产量。此外，我们还重点分析了在 210 天 ($n = 210$) 整个测试期间的沼气产量测定结果。经对比两个反应器沼气产量平均值之后，计算发现平行样的相对标准偏差为沼气日产量的 1.2%。

每个反应器沼气日产量的相对标准偏差的平均值为 6.2%。为此，我们使用自第 126 个测试日 ($n = 84$) 起的测量值。自第 126 个测试日起，沼气系统被认为在稳定状态下运行。如果在测试期间出现明显偏高的相对标准偏差，则可能是系统误差所致。

除了测量装置的测量误差外，连续发酵测试的质量主要取决于测试团队能否获得持续一致的全方位测试支持。

如果需要评估单个（或多个）参照系统的平均沼气产量偏差，则必须使用统计测试方法（例如杜凯氏差距法[Tukey Kramer]）。

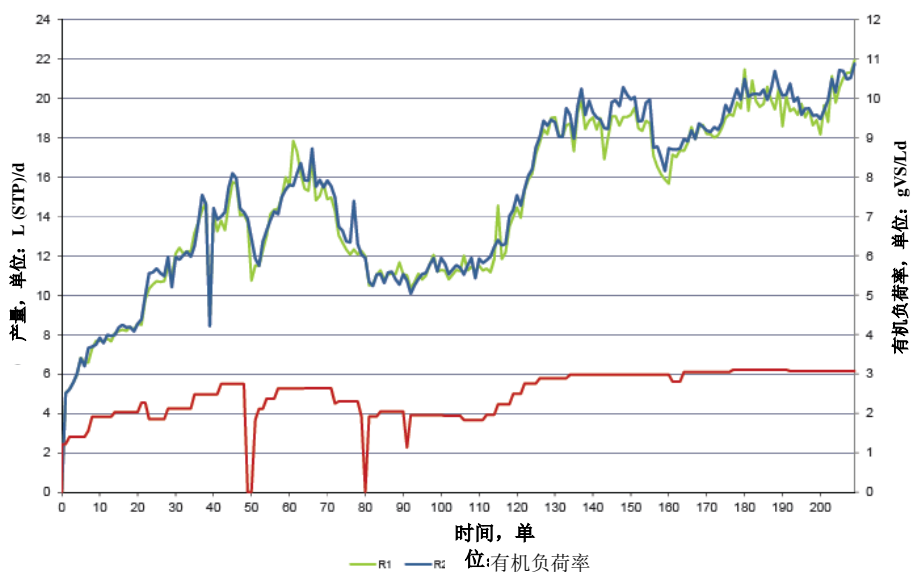


图 79：平行测试中两次连续发酵测试的沼气产量和有机负荷的变化曲线（资料来源：德国生物质研究中心）

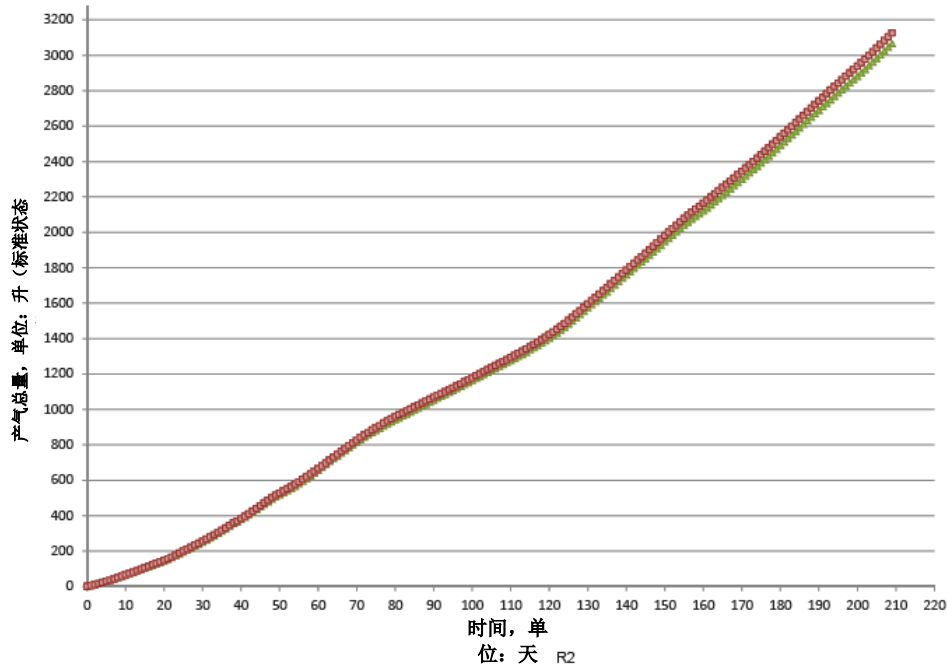


图 80: 平行运行的两个消化池的沼气产量曲线 (资料来源: 德国生物质研究中心)

6.5 微生物测试

托比亚斯·利宁 (Tobias Lienen), 希尔卡·伍德曼 (Hilke Würdemann), 德国地球科学研究中心 (GFZ)

现状

本章节介绍的免培养型 (cultivation-independent) 现代分子生物学技术是一项新兴前沿的检测技术。不过, 这些技术正在不断优化, 且科研人员正着力开发新型高通量测定法, 以帮助人们在更短时间内完成更大数量的样品测试并表征更多的性能特征。

相关标准

DGGE、qPCR 及 FISH 技术的原理具有标准化特征。但是必须根据待测底物混合物的特性调整测试方案。此类分子生物学技术已得到广泛应用。

适用领域

此类生物学技术可应用于不同的底物类型。但由于沼气厂中许多活性微生物尚未被充分表征, 因此在不同程度上影响了此种测试技术的可利用度。这使得解释测试结果和推荐对策变得更加困难。

研究的必要性:

应进一步研究与其他测定法所获测定结果的可比性;

不久前, 业界开发出包括下一代测序技术(NGS)在内的多种高通量测定法, 使得技术人员能够在一次测试中完成样品的定性和定量分析, 从而使同步综合分析成为可能。然而, 微生物与特定表征之间的关联通常并不充分, 因为目前为止人们还未能完成许多细菌和古细菌的培养, 且许多细菌的生物学表征工作尚未完成。尽管如此, 掌握微生物的生理学和生物化学特性对于提高沼气池产气率和揭示工艺中断的原因具有决定性作用。因此, 除免培养型分子生物学技术之外, 还需要培养沼气发酵装置中的微生物并研究其微生物学特性。此外, 为加深对工艺过程的理解, 还需将化学工艺数据和生物工艺数据相关联。这对于优化工艺、提高工艺稳定性和提高沼气产气率都十分重要。

微生物菌群的组成结构和各个菌群的微生物总数都在不同程度上影响沼气池生产的稳定性和持续性, 且有时还成为沼气生产中断的原因。沼气厌氧发酵过程分为水解、酸化、产乙酸和产甲烷四个阶段。在这四个阶段中, 为保障沼气池生产的持续性和稳定性, 必须根据微生物的生存条件和活动规律, 确保与各个阶段相适配的各种微生物得到最佳的生长条件。然而, 从环境样品中培养单个微生物菌群不仅耗时费力, 而且价格高昂。为尽快获得关于微生物菌群组成和微生物数量的数据, 可使用分子生物学技术。此类生物学技术包括“指纹”分析(例如 PCR-DGGE[聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳]技术)和定量分析技术(例如荧光原位杂交[FISH]技术或定量聚合酶链反应[qPCR]测定技术)。除了将在下文中详尽介绍的三项技术之外, 许多其他分子生物技术也允许人们以简单的检测方法获得精确的微生物检测结果(里特曼[RITTMANN]等人, 2008)。

聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳

聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)技术可用于环境样品的分子生物学筛选, 例如分析沼气反应池样品的生态群落(勒姆[LERM]等人, 2012)。在使用 PCR-DGGE 分析技术时, 首先需要从样品中分离出含有特定碱基序列的完整 DNA(脱氧核糖核酸)。为此, 可选用不同技术来分离 DNA, 这些技术采用不同的方法完成细胞裂解。细胞裂解方法可包括热裂解(对细胞进行加热处理)、机械裂解(通过陶瓷小球)或化学(使用试剂)裂解。

聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳分析技术通常使用市售的 DNA 提取试剂盒,但这些试剂盒必须遵循既定的协议。然而在大多数情况下,这些协议需要进一步优化,优化措施通常取决于样品和待测微生物的类型(魏斯[WEISS]等人,2007)。该分析技术通过聚合酶链式反应,体外扩增整个 DNA 的特定片段。这些片段特别适用于鉴定微生物菌种和研究微生物菌种的特性。随后,将经扩增的 DNA 片段放在变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳,用以分离同源双链和异源双链。该凝胶含有变性剂尿素,尿素梯度必须根据待测微生物的种类和特性进行调整。凝胶与电场相连。由于 DNA 分子带有负电荷,因此它们在凝胶电泳中会向正极方向迁移。由于 DNA 片段的碱基序列的存在, DNA 双链会或多或少地发生变性,并且 DNA 片段在变性凝胶中电泳时的迁移距离(迁移率)与碱基对的对数成反比,因此通过已知大小的标准物移动的距离与未知片段的移动距离进行比较,便可测出未知片段的大小。电泳结束时,扩增产物会在凝胶上形成相互分开的条带图谱。在理想情况下,凝胶上每一个条带对应于一个单独的菌种。之后可以对条带进行测序,通过与互联网上可自由访问的序列数据库(例如局部比对搜索工具, BLAST)中相关序列的比对,可以鉴别微生物和/或其最近种属的种类。此种关联关系有助于推导出不同微生物种类在消化池中的作用及其对工艺稳定性的重要性。

实时荧光定量 PCR 技术

实时荧光定量 PCR 技术与上述聚合酶链反应电泳技术的原理相同。实时荧光定量 PCR 技术也需要体外扩增 DNA 中的特定片段。与仅可用于半定量分析的常规 PCR 技术不同的是,实时荧光定量 PCR 技术可以定量分析 DNA 的扩增产物,从而精准测定来自特定微生物的 DNA 基因表达量。为此,需要在 PCR 反应体系中加入可以和双链 DNA 特异性结合的荧光染料。或者,也可不加荧光染料,而在 PCR 反应体系中加入序列特异性探针。在 PCR 反应体系中 DNA 起始模板的数量越多,则检测到扩增产物所需时长越短,因此 PCR 反应体系也可用于模板量的比较。PCR 技术既可用于绝对定量分析(即测定上述某个核酸序列的拷贝数,即绝对量值),又可通过添加内标物进行相对定量分析。在对未知模板进行相对定量分析时,目标微生物的 DNA 拷贝数与内参序列的 DNA 拷贝数相关。内标法定量 PCR 技术也可识别标本提取过程中的微小变化。通过对靶基因序列和无关内标序列进行同步扩增,实现对靶基因的相对定量。实时荧光定量 PCR 技术非常适合用于定量比较不同样品中表征微生物的具体数量。除 DNA 之外,实时荧光定量 PCR 技术还定量分析给定数量的样品中 RNA(核糖核酸)的量(即拷贝数)。如果能够检测到微生物,则 RNA 拷贝数的测定可能具有一定价值,但不确定这些 RNA 分子是否也具有代谢活性,也无法确定是仅引入了 DNA 还是引入了 DNA 或 RNA 的混合物。RNA 是具有活性的生物大分子,是生物体内生命现象的表征。微生物数量和活性的变化可能是工艺中断的原因或者是工艺中断的表征。例如,产甲烷菌活性降低会直接影响沼气产生并导致产气率降低。

荧光原位杂交

除上述两项技术外,荧光原位杂交(FISH)可用于分析微生物的数量和微生物群落的代谢活性。荧光原位杂交技术是将与荧光染料偶联的特异性探针直接原位杂交到微生物的核糖体 RNA(rRNA)上。之后,再用荧光显微镜测定细胞数目。荧光原位杂交技术主要用于检测具有代谢活性的细胞,原因在于 rRNA 含量与代谢活性相关。借助于针对特定基因或染色体上特定片段的特异性探针,荧光原位杂交技术可用于研究在不同工艺条件下的微生物生物群落结构和多样性。

活性检测是评估生物学进程的重要参数，因为在不利条件下，微生物活性变化比相对细胞数量变化更为灵敏。细胞分裂速率放缓的原因是微生物代谢活性的降低。在连续运行的反应器（例如许多沼气厂的反应器都处于连续运行状态）中，受洗脱过程的影响，微生物代谢活性的降低会迅速导致细胞数量的减少。

6.6 发酵残余物产气潜力/产甲烷潜力的测定

汉斯·奥克斯纳（Hans Oechsner），霍恩海姆大学国家农业工程与生物能源研究所（State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy, University of Hohenheim）

状态:	此测定法已通过测试。目前正在开发相关标准，该标准将构成 VDI 4630 指南（格雷杜克[GRÜNDRUCK], 2014）的一部分。为验证此测定法，目前正在进行实验室间比较。
相关标准	VDI 4630
底物	此测定法适用于固体和液体沼渣沼液。
该测定方法的局限性	与甲烷产量相关的设定有时不够科学，因为其会对沼气厂的消化物质量流量和沼气产量进行预估。
优势:	易于实施
研究的必要性	需要进一步研究在露天储存沼渣沼液（即发酵残渣）时发酵残余物产气潜力与排放之间的关系；需精准定义底物的质量平衡。

目前，许多沼气工程使用可再生生物资源作为发酵原料（即用于发酵的底物）。这些沼气工程致力于探求能够在实现经济可行性的同时，最大化利用原料产气潜力的方法。沼气工程根据所用原料的特性选择发酵工艺（即装置设计和操作模式）。不同的装置设计（例如单级发酵和双级发酵）和运行参数设置（例如 pH 值、温度、有机负载及停留时间等）会有着显著不同的原料利用率。

通过测定沼气工程中发酵残余物的产气潜力，可以回答以下问题：

- 在沼渣沼液离开沼气工程气密性装置之后，底物中有多少产沼气潜力或产甲烷潜力未被充分利用？
- 沼渣沼液储存单元的封盖能够带来多少经济效益（如有）？
- 沼渣沼液残余物的最大排放潜力有多大？沼渣沼液残余物会对环境产生什么影响？如需了解更多信息，请参见 VDI 3475 指南第 4 部分。

可在不同温度下培养沼渣沼液样品，具体因研究目的的不同而异：

- 为了测定可供利用的产气潜力（即从经济效益领域考虑），建议在嗜温菌最适合生长温度（ $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ ）或嗜热菌最适合生长温度（ $50\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）下发酵沼渣沼液。如有可能，应根据作为沼渣沼液样品采样点的发酵罐的操作温度选择沼渣沼液发酵的温度范围。在类似温度下发酵可使沼渣沼液迅速产气，其产气速度将与作为沼渣沼液样品采样点的发酵罐中料液产气速度相当。
- 根据 VDI 3475 标准第 4 部分的规定，也可通过在 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 温度下发酵沼渣沼液估算发酵残余物的产气潜力。此外，由于沼渣沼液被贮存在敞开式冷藏罐中，因此可借助发酵残余物产气潜力测定排放潜力。为此，假设沼渣沼液储存单元中的温度低于发酵罐中的温度。然而，目前没有任何科学证据表明发酵残余物产气潜力的测定值与被评估沼气厂中沼渣沼液的实际排放量之间存在密切关系。

从沼气厂采集样品和收集数据

为测定发酵残余物的产气潜力，必须从沼气工程中采集沼渣沼液样品。为保证从沼气厂中采集的样品具有足够的代表性，采样过程需要持之以恒且必须遵循下述原则。

在完成最后发酵阶段后从发酵罐中提取的沼渣沼液可能具有非均质性，并且也可能随时间的变化而产生生化性质的变化，具体因操作模式和所用原料的不同而异。因此，采样不应局限于某个特定的时间节点，而应采取每天多次采样（例如一天三次）的方式。此外，采样频率最好为每周多天。如果因技术原因而无法实施每周多天或每天多次的采样频率，则在采样之前必须充分混合搅拌发酵罐中料液，以确保料液的充分均质化。此外，还可分析来自固体发酵装置的沼渣和来自液体发酵罐的新鲜沼渣（去除沼液后的沼渣）。然而，在分析来自液体发酵罐的新鲜沼渣时，为准确描述沼气工程中沼渣沼液的产气潜力，还必须详尽记录底物流量。取出样品后，必须立即用冷却设备将沼渣沼液样品冷却至 4°C 左右。该冷却步骤可有效防止沼渣沼液的进一步降解。之后，将在不同日期或不同时间节点采集的沼渣沼液样品混合均匀，形成累积样品。如果样品中含有纤维组分，可采用粗切或破碎方式对样品进行预处理，以此确保样品具有充分代表性和均质化程度且适合用于发酵测试。

发酵残余物产气潜力的判定基础，通常是在稳定状态下的沼气产量和沼气工程的甲烷产气率。因此，除了对沼渣沼液样品进行分析之外，还必须记录沼气工程的沼气产量和甲烷产气率。此外，在沼渣沼液分析过程中必须将沼渣沼液用量纳入考量。

因此，有必要测定从待测发酵罐中溢出或抽取的沼渣沼液量（即溢出的发酵混合物及发酵残余物）。发酵混合物的样品（即沼渣沼液）代表长时间投料后发酵罐中混合物的性状。在使用搅拌釜式反应器的情况下，在大约三个停留时间之后，料液颗粒将处于近似静止状态。因此，建议读取三个停留时间的数据，并在此基础上计算每天沼气产量和沼渣沼液产生量的平均值。

如果测量装置不能对该参数进行定量分析，则可通过计算确定发酵混合物/沼渣沼液的体积。例如，记录进料底物的质量（即被投加到沼气发酵设备中的底物质量流量）和沼气产量（质量）。之后，将进料底物质量减去沼气产量（质量），就可得到发酵罐内容物/沼渣沼液量（参见下文）。在计算过程中，不应忽视因沼气生产而导致的质量损失，因为这种质量损失可能相对比例较大。例如，在使用青贮玉米为发酵原料时，这种质量损失有时甚至会占到进料质量流量的30%。

发酵方法

成功采集到具有充分代表性的沼渣沼液样品后，应分析样品的总固体含量(TS)、挥发性固体含量(VS)、挥发性脂肪酸(VFA)含量及pH值等数据。然后将所需量的沼渣沼液投加到发酵测试装置中，但不投加接种物。应对每种沼渣沼液样品重复发酵测试至少三次。

如果在固液分离后需要分析来自固态消化设备的沼液和来自液态消化装置的沼渣，则应向沼渣或沼液中添加自来水，以使混合物的总固体含量降至10%以下。为了在发酵测试装置中获得具有最佳可发酵性和可搅拌性的混合物，必须向沼渣或沼液中添加水分。还需将发酵测试装置加热至所需温度。不仅如此，如产量测试(批量试验)中所述，应在整个发酵测试期间保持恒定的温度和均质化条件(参见第6.2节)。沼气产量应量化为体积和其中的甲烷含量，后者可提供有关沼气产量随时间的变化信息。如VDI 3475指南中所述，用于确定发酵残余物产气潜力的发酵测试应在规定的60天内完成。

分析

此处的数据分析方式与批式发酵测试的数据分析方式相类似。由于未投加接种物，因此数据分析步骤相对简单。分析时，应绘制沼气产量变化曲线图，以显示整个测试期间单位沼气产气率/单位甲烷产气率的变化情况。

沼渣沼液的甲烷产气率（单位为L（标准状态）甲烷/kg VS）小于原料/原料底物的甲烷产气率。此外，还计算了作为沼渣沼液样品采样点的沼气制气装置的沼气日产量平均值，使得整套分析流程更加完备。目前，尚缺乏功能强大的可靠系统来测定所有沼气厂的沼气产量和质量。

不过,也可根据日均发电量来评估沼气工程的甲烷产量。后者必须与热电联产发电装置的效率结合考虑,以获得每天使用的甲烷量。然而,由于上述估算中未考虑通入废气燃烧器的气体量,使得上述方法所预测的发酵残余物产气潜力大于实际值。

应从待测沼气工程中收集以下数据:

- 在三个停留时间内的沼气工程沼气产率/甲烷产率[单位为立方米(标准状态)甲烷/天]。为此,需在沼气工程记录相关数据(例如标准状态下的沼气体积和甲烷含量)。当然,也可通过记录每日发电量[kWh/d]估算每天的甲烷产量。为估算甲烷日产量[单位:立方米(标准状态)甲烷/天],应把发电量数据和热电联产发电装置的电效率结合考虑。
- 每天从最后一个厌氧发酵罐/消化液储存单元中排出的沼渣沼液及其挥发性固体含量[单位:t发酵残余物*VS[%]/100]。可以通过每天的底物进料量(即液体和固体底物的质量)减去每天的沼气产量(质量)来估算质量流量。

$$m_D = m_S - m_{BG} \quad [m^3] \quad (87)$$

m_D 每天沼渣沼液的平均质量流量 (kg/d)

m_S 每天进料底物的平均质量流量 (kg/d)

m_{BG} 每天所生产沼气的平均质量流量 ($m_{BG} = V_{BG} * \rho_{BG}$) (kg/d)

V_{BG} 沼气产气率,标准状态下每天所生产沼气的体积 (m^3 (STP)/d)

ρ_{BG} 沼气密度(=1.25 kg/m³,在甲烷含量为55%、干沼气及标准状态下) (kg/m³)

之后,将这些数据与发酵测试中测定的以下值相关联:从残余物产气潜力分析得出的单位甲烷产气率[单位:立方米(标准状态下)甲烷/kg VS]。

$$V_{RG} = V_{SRG} \cdot VS_{RG} \quad [m^3] \quad (88)$$

V_{RG} 每天沼气制气厂沼渣沼液的平均甲烷产气潜力 (m^3 (STP)/d)

V_{SRG} 从残余物产气潜力分析得出的单位甲烷产气率 (m^3 (STP)/kg VS)

VS_{RG} 每天离开沼气制气厂最后一个气密型反应器的挥发性固体含量平均值 (kg/d)

由此,可以使用以下公式推导出沼气制气厂发酵残余物的产气潜力[单位:%]:

$$\text{RGP} = \frac{V_{\text{RG}}}{V_{\text{BGP}}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (89)$$

RGP 发酵残余物产气潜力 (%)

V_{BGP} 沼气制气厂甲烷日产量平均值 (m^3 (STP)/d)

6.7 测定底物经氢氧化钠处理后的最大理论产气量

比约恩·施瓦茨, 弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所

现状	本章节描述的方法开发依据是污水污泥监管部门的规定 (米勒 [MÜLLER] 等人, 2000 年发布), 通过分析可溶性的化学需氧量来确定污水污泥的最大降解潜力。为此, 将样品用 1 摩尔/升氢氧化钠溶液以 1:1 的比例稀释, 并在 90°C 下反应 10 分钟。此测定法经调整后被陶瓷技术和系统研究所用于植物源底物, 目前尚处于进一步开发验证状态。
适用领域	此方法可用于测定最大降解潜力 (可溶性化学需氧量的释放), 也可用于测定发酵底物 (例如可再生资源、残余物 [例如稻草] 或沼渣沼液) 的最大理论沼气产量。
优势	此测定法可测定厌氧发酵技术下底物的最大降解潜力和/或产气潜力, 但不能测定生物学上不可降解的组分 (例如木质素)。此方法有效去除了底物结构中的各项不利因素, 并且使所有可生物降解的底物都可用于降解反应。此测定法简单易行, 可用作发酵对比测试的预处理方案 (技术成本相对较低)。
研究的必要性	在模型底物测试中, 人们已经发现: 在某些特定的底物框架条件下, 可产气物质的损失是因降解方式而引起。原因可能是在降解过程中生成了生物学上不可降解的中间产物。对于现实生产中的真实底物, 有鉴于底物组分的非均质性, 上述效果难以预计。为消除这些不确定因素, 需进行系统化研究, 同时还应对材料成分和结构进行分析。

设备与化学制剂

- 分析天平
- 热板磁力搅拌器，包括磁力搅拌棒
- pH 计
- 烧杯
- 实验室通风橱
- 浓度为 1 摩尔/升的氢氧化钠溶液
- 浓度为 1 摩尔/升的盐酸溶液（用于中和-也可使用其他化学制剂）
- 蒸馏水

测定方式

为测定可溶性的化学需氧量，除需记录空烧杯的质量之外，在测定化学需氧量之前，还必须准确记录所有已称重的材料以及最终重量，以推算蒸发效果和稀释效果。

为测定已完全降解的样品的产气潜力，样品用量应该与序批式反应器（用于产气率测试）的规格尺寸相匹配，以避免不必要的样品裂解和损失。在这种情况下，只需准确称量并记录样品的用量。原因在于，待添加化学制剂和所有蒸发损失都不会对产气率测试的结果产生任何影响。

在烧杯中混合样品和浓度为 1 摩尔/升氢氧化钠溶液，混合比例为向每 14 克氢氧化钠溶液中加入含 1 克挥发性固体的发酵底物（例如，向 63.2 克氢氧化钠溶液[1 摩尔/升]中加入 16.8 克树叶[总固体含量为 31.7%，挥发性固体含量为 84.4% TS]）。

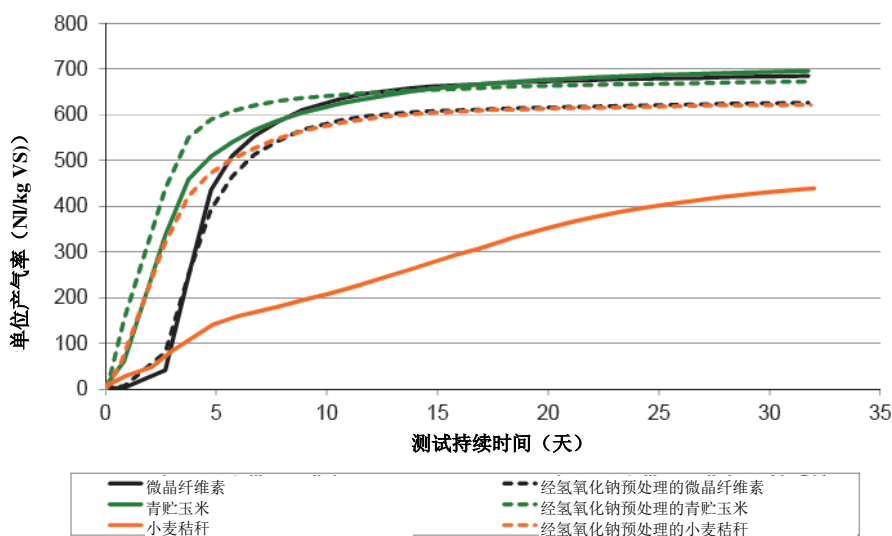


图 81：使用氢氧化钠预处理前后的样品产气率变化图（资料来源：陶瓷技术和系统研究所）

使用氢氧化钠预处理前后的样品产气率变化图（资料来源：为改善制剂的可搅拌性，可向制剂中添加蒸馏水（例如 20 克蒸馏水）。在连续搅拌状态下，将烧杯放置在热板磁力搅拌器上大约 15 分钟，加热至至少 90°C。之后，将温度调至 90-95°C，加热 20 分钟。在此降解过程中，使用具有良好热稳定性和湿度稳定性的烧杯盖盖住烧杯，以使蒸发损失降至最小。降解过程中产生的蒸汽可能有害健康，因此应确保及时排气（建议在通风橱下完成测试）。之后，将制剂冷却至室温，并用浓度为 1 摩尔/升盐酸中和至 pH 值达 6 至 8。

之后，用 0.45 微米滤膜对样品进行加压过滤，并放入比色皿中对可溶性化学需氧量进行分析。

为测定底物产气率，将全部制剂及时转移到序批式反应器中。为将损失降至最小，可使用少量蒸馏水冲洗容器。

样本测定结果及问题

通过分析产气率变化曲线图，可以判定是否应该且值得对待测底物进行预处理。例如，在使用氢氧化钠溶液对底物进行化学预处理（降解底物）后，在 30 天的停留时间之后，仅在图 81 中观察到青贮玉米的产气速度有所提升，但产气率并未改变。这一测试结果与大量的青贮玉米预处理测试结果基本一致。在这些测试中，在实验室发酵测试的理想条件下，氢氧化钠化学预处理技术并未大幅增加青贮玉米的产气率。另一方面，对秸秆进行化学降解处理有可能大幅提高产气速度和产气率。这说明化学分解预处理技术可用于提高含木质纤维素的发酵残余物的产气潜力。

但一般来说，在解释氢氧化钠化学预处理的分解效果领域仍存在诸多不确定因素。因为对于特定底物类型而言，与未作分解预处理的情况相比，氢氧化钠化学处理大幅降低了这些底物的产气率。其中的一个实例便是微晶纤维素，如图 81 中所描述。在使用氢氧化钠溶液进行降解预处理之后，微晶纤维素底物的产气率呈现出大约 10% 的降幅，同样的情况也出现在预处理时间较短的情形和氢氧化钠溶液利用率较低的情形。当降解期间产生的凝结蒸汽被重新冷凝进入反应系统中时，也会出现同样的结果。原因可能是在降解期间，这些底物或其组分被转化为不再可生物降解的中间产物。当使用氢氧化钠溶液预处理蛋白胨（蛋白质模型底物）和葡萄糖时，也得到了产气率分别降低 15% 和 50% 的结果。目前尚未针对这一问题开展系统化研究工作，因此不能判定产气率下降会在何种程度上影响现实生产中的真实底物。

7 计算和评估方法（描述工艺流程的参数/元参数）

7.1 SWOT 分析法

克里斯托弗·霍伊布纳（Christof Heußner），奥利弗·库格斯塔特（Oliver Kugelstadt），托拜厄斯·巴尔（Tobias Bahr），克劳斯·弗里克（Klaus Fricke），布伦瑞克工业大学

SWOT 分析法（S-优势，W-劣势，O-机会，T-威胁）是一种源于战略管理领域的工具，同时也用于形成性评价和质量发展。该分析法用于从组织或企业的优势或劣势（内部视角）与机会和风险（外部视角）中推导出合适的备选战略解决方案，以实现先前定义的目标，并清楚地展示目标。内部分析的目的是能够识别公司（此处指工艺流程）的优势和劣势。这些优势和劣势源自被审查单位的能力、技能（和/或技术能力）和资源。

在外部分析过程中，研究该单位的远/近环境。只有通过与环境（和/或框架条件）进行协调，才能在评估之后对优势和劣势加权，并将其转化为行动选择（罗姆布利瑟[LOMBRISER]与阿普拉纳尔普[ABPLANALP] 1998）。

分析的目的在于，确定在何种程度上采用现有技术和方法来利用可利用的生物量是合适的，并且需考虑当前情况的背景和预计想要达到的目的。因此，基于对现有生物质的能量和物质利用，能够对当前和未来需求做出反应。通过重新修改上述 SWOT 分析法的子领域来实现此目标。

SW 部分（优势和劣势）针对内部因素。这些因素包括被审查方法的技术选择和发展潜力。这方面有许多发展形式，这些形式基本上源自各种情况的特定情形。不过，由于观察视角的原因，这些特定情形也有许多共性。因此，事先识别决定性因素（所谓的关键/主要成功因素）（帕纳吉奥图[PANAGIOTOU] 2003）有助于优劣分析。针对这些因素检查优势和劣势，在进行实际分析之前定义这些因素或目标。在此过程中，必须选择具体、非抽象目标。诸如提高能效这样的抽象目标，必须基于测试结果作具体表述，并且必须依照现有参考文献和自行评估来进行评价（罗姆布利瑟与阿普拉纳尔普 1998）。此外，必须确保所有识别的优势和劣势都是相对的。只有通过对照其他方法或利用选项进行基准测试才有意义。在能效方面，该方法与传统 SWOT 分析法不同——该方法适用于多种技术解决方案和工艺流程。因此，更重要的是找到一个合适的基准，根据此基准，可对各个工艺流程的发展状态（特别是能效）进行分类。

为此，有必要对 SWOT 分析结果的主观因素进行客观化。

1. 将各自工艺流程与市场上评估结果最佳的工程进行比较（实际比较）；
2. 通过组合市场上现有多套设备评估结果最佳的子工艺流程，将其与假设的最佳实践工程进行比较（假设比较 - 技术状态）；
3. 考虑到最新的研究状态，通过优化子工艺流程的理想组合，将各个工艺流程与假设的最佳实践工程进行比较（假设比较 - 研究状态）；
4. 使用假设的理论方法比较各自工艺流程。以能量含量作为目标参数（效率为 100 %）——基本利用变量（热利用、材料利用、发酵、乙醇化）的探索性比较

OT 部分（机会和威胁）包括由各自工艺流程的一般和特定环境导致的趋势和变化。若要被视为外部因素，它们必须是公司（此处指设备运营商或技术提供商）对其没有任何直接影响的因素。例如，可以是法规、限值或资助计划（罗姆布利瑟与阿普拉纳尔普 1998）：

为内部和外部分析定义了标准。即使在分析生物质利用方面不同工艺流程（例如堆肥、发酵、热利用）的情况下，这些标准也能确保方法的标准化和可比较方法的响应。表 22 是高阶标准汇编。这些标准又由从属标准完善细化（参见研发潜力与生态框架条件）。在收集标准期间，经常会出现以下问题：在何种程度上，根据单项标准的重要性的和/或标准相对于分析目标的重要性，对标准进行分类；此外，众多标准使得后续分析更加困难。在标准分类方面，华威大学的 SWOT 分析法可作为典范分析（戴森[DYSON] 2004）。该分析法汇总优势、劣势、机会和威胁，然后用相应的分值尺度对其进行评估。例如，如果某项标准未达到一定分值，则将其从标准目录中删除。

从实际的 SWOT 分析法本身来看，并不确定或实施具体措施，而是首先只描述与最佳情景相关的状态，并在随后步骤中制定策略。为了将这些战略方法转变为具体措施，通常需要具体的行动计划（戴森 2004）。待审查的设备技术复杂，处理阶段和利用水平各不相同。为了识别尽可能有效的优化措施，加工商有权将各个工艺步骤（如适用：单个聚集体）与技术状态进行比较，并推导出优化潜力。在进行 SWOT 分析的同时，在设备所在地获取开展此项工作所需的数据，将具体数值分组，并在评价指标中进行总结。

表 22: SWOT 分析法内部和外部标准目录工作草案 (部分)

标准目录优势/劣势分析	标准目录机会/风险分析
<ul style="list-style-type: none"> ■ 一般工艺流程特点: <ul style="list-style-type: none"> ● 温度 ● 压力 ● 腐蚀性 ● 残留物 ● 热集成潜力 ■ 供应潜力 (产品、服务) ■ 分配 (收集和分配) ■ 市场传播 ■ 价格和条件 ■ 采购 (离析物、助剂和运行资源) ■ 财务 ■ 人事 ■ 管理和组织 ■ 研发潜力: <ul style="list-style-type: none"> ● 研发投入金额 ● 研发技术专长 ● 技术设备 ● 专利和许可证 ● 获取外部研发来源/合作的机会 	<ul style="list-style-type: none"> ■ 市场结构 ■ 竞争 ■ 法定/国家框架条件 ■ 社会框架条件 ■ 原材料采购 (价格和供应) ■ 能源价格 ■ 其他经济条件 ■ 技术/工艺开发 ■ 生态框架条件: <ul style="list-style-type: none"> ● 空气质量管理 ● 水污染控制 ● 土壤保持 ● 废物处置和避免 ● 能源利用 ● 原材料利用

7.2 设备/工艺流程指标计算 (各个工艺步骤的优化潜力)

克里斯托弗·霍伊布纳 (Christof Heußner), 奥利弗·库格斯塔特 (Oliver Kugelstadt), 托拜厄斯·巴尔 (Tobias Bahr), 克劳斯·弗里克 (Klaus Fricke), 布伦瑞克工业大学

设备和工艺指标用于评估和比较各个工艺流程区域、设备组件或处理概念, 从而为与处理目标相关的优化潜力提供支撑。为此, 记录并加权发酵和堆肥设备的特定能耗。

根据记录的数据, 单独评估不同工程 (A 部分)。为此, 有必要将工程中的工艺步骤细分为几个主要的工艺阶段, 以便在其他工艺步骤之外进行单独描述 (B 部分)。例如, 确定进料区域结束和分选开始的位置。

将分离工艺步骤的数据标准化为功能单位 (例如 1 毫克总固体含量), 以确保可比性, 并且推导出具体指标 (例如具体热和/或电能需求)。由于预计大型工程的具体能耗低于小型工程, 因此首先进行设备生产能力的分类, 以确定可比性并避免结果失真。在记录基础数据之后进行最终分类。

单独审查工程中与批量生产能力无关的部分。其中包括房间和任何不能单独、直接分配给设备运行的建筑物, 如工厂的消防队、行政部门、中央称重站、食堂、员工楼等。

在质量平衡方面, 考虑基于设备类型产生的质量流量。例如, 其中包括工艺用水和废气以及已处理底物的输入和输出 (C 部分)。此外, 记录与工艺流程特别相关的个别物质 (特殊的宝贵原料或有害物质)

及所生成的有利用价值的物质（例如堆肥和其他肥料代用品），供后续分析。原因在于：在替代或使用大量能源和化石资源的工业产品的情况下，由于能源/原材料节约和/或消耗，上述物质对各自设备或工艺流程的生命周期评估效率构成影响。在能量平衡方面，单独记录单个聚集体或工艺步骤的热能、电能和化学能的消耗数据。

将 A–C 部分中测定的数据编译成数据矩阵。根据此矩阵，测定每个质量和能量平衡的最小值和最大值。因此，记录的所有工程中气体产量的最低值被用作气体生产潜力的最差条件，最高值被用作最佳条件。利用这些最小值和最大值，可以对每个工艺步骤计算能量和/或质量指标。通过该指标，能够对所审查工艺步骤的能量和/或质量平衡结果进行分类，并将其与其他设备采用的相同工艺流程的能量和/或质量平衡结果进行比较（D 部分）。即使对于相同工程和相同工艺流程，也可能实现不同能效，具体取决于当前负载或输入原料的质量等因素。这些工艺流程或许具有不同的“最小负载能力”，并且可能在负载减少的条件下变得非常低效。例如，在输入原料的数量和/或质量具有明显季节性的情况下，这一点关系重大。在评估中也会将这些差异纳入考量。

在下一步中，将能量和质量指标汇总成工艺流程指标。根据该指标，既可以比较其他工程中的同一工艺流程的能效，也可以与同一工程的其他工艺流程进行相对比较（E 部分）。通过分析，一方面能够确定工程内部是否需要优化，另一方面能够比较不同工程中的同一工艺流程。最后，根据计算出的工艺流程指标得到工程的整体指标（F 部分）。根据工程指标，可以对所有系统进行统一分类。在此过程中，可以利用模型比较不同类型的工程（例如生物废弃物发酵、堆肥）。模型经专门设计。利用每个工艺步骤的能量和质量平衡的最小值和最大值，能够实现独立于分析设备类型的标准化。

由于每个工艺步骤都与其他工程中的相同工艺步骤进行了比较，所以具有很少或大量技术设备的系统在细节上仍可彼此比较。在评价指标的计算中，考虑了更小或更简单工程的特定指标的数量较少。根据分析范围的不同，可能在单个集合体的层面上记录工程各个部分的能量和质量平衡，因此可能具有以往未达到的分析敏锐度和深度。

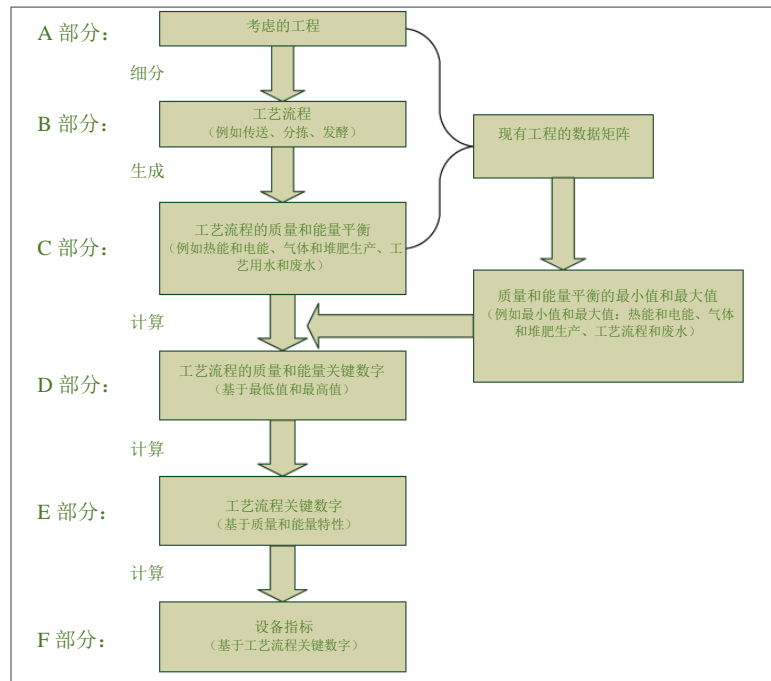


图 82: 设备指标测定示意图 (资料来源: 布伦瑞克工业大学)

用于实现标准化的最大值是取自数据矩阵的实际最佳实践值, 参见图 82。在理想临界案例考量的意义上, 测定能量和质量指标的实际最大值可由假设最大值取代——后者根据理论考量和最新研究结果而测定, 但目前尚未在实践中实施。不过基于此, 能够估计研究现状实施过程中可能实现的最佳进展。

这种模拟方法也可用于开发具有最新技术水平的工程 (最佳实践方法)。为此, 对每个能量和质量指标假设最大值 (根据数据矩阵, 参见图 83), 以此计算最大工艺流程指标和/或工程指标。与该指标相比, 可以估计每个工程的优化潜力, 因为在此模拟情形下的最大值由真实的现有值组成。不过, 在不久的将来, 可纳入相关工厂组件的当前假设但实际上可实现的能效 (研究状态), 从而扩展考虑范围。

利用该模型的另一个重要选择是优化单个工程。借助该模型, 可测定哪个工程具有最大优化潜力。

不同工艺流程通过标准化变得彼此相当，因此能够完成上述工作。指标越高，该工艺流程的优化成本越高。

数据库	例如 X 设备、Y 设备
根据工艺阶段和变量分配数据	例如传送 = A；发酵罐 = B； 气体净化 = C
工艺阶段的质量和能量平衡，标准化为 1 Mg _{Input} ； 变量分配	例如耗水量/Mg = α ； $KW_{el}/Mg = \beta$ ； $kW_{therm}/Mg = \gamma$ ； 产气量/Mg = δ
基于整个数据库确定质量和能量平衡的最小值/最大值	例如 $\alpha_{min}/\alpha_{max}$ ； β_{min}/β_{max}
计算被审查工程的相应质量和能量指标	例如 $\alpha_n = (\alpha_{act} - \alpha_{min}) / (\alpha_{max} - \alpha_{min})$ $n =$ 工艺阶段的变量 $\alpha_{act} =$ 相应工程备的具体实际值 $act =$ 实际数
计算被审查工程相应工艺阶段的工艺流程关键数字	例如 $A_{tot} = (\alpha_a + \beta_a + \gamma_a) / n$ 平衡步骤 $tot =$ 总计
计算被审查工程的评价指数 (EI)	例如 $EI_x = (A_{tot} + B_{tot} + C_{tot}) / n$ 工艺阶段

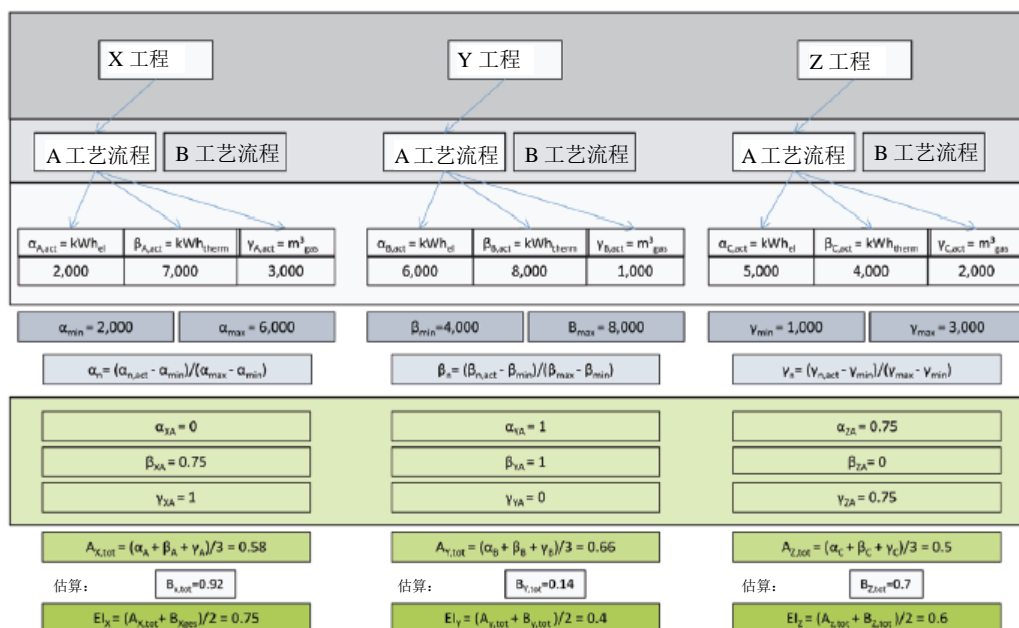


图 83: 关于设备指标 (两个数字) 计算的数学描述 (资料来源: 布伦瑞克工业大学)

7.3 有机肥对土壤腐殖质供应影响的测定

多琳·泽科勒 (Doreen Zirkler) 和彼得·多米尼克 (Peter Dominik), 柏林工业大学

状态	用于测定有机肥对土壤腐殖质供应的影响的方法 (实验室实验) 以 ISO 16072 标准: 土壤质量 - 土壤微生物呼吸的实验室测定方法 (2001) 为模型。
相关标准	ISO 10381-6:1993, 土壤质量 - 取样 - 评定实验室有氧微生物工艺用土壤的采集、处理和存贮的指南 ISO 11274:1998, 土壤质量 - 水分保持特性的测定 ISO 11465, 土壤质量-土壤生物的干物质和水含量的测定-重量法 ISO 4796, 实验室玻璃器皿
该方法的应用领域	适用于所有有机肥和陆地土壤。应选择具有与肥料不同的 $\delta^{13}\text{C}$ 信号的土壤。
该方法的局限性	自然条件下存在的植物根系会改变土壤化学特性和土壤生物类群, 这些因素对有机物的分解具有重要影响。在呼吸实验中不考虑这个方面。关于肥料的腐殖质长时间保留在土壤中所需的培养时间跨度, 学术界存在争议。
优点	与德国农业调查与研究部署协会 (VDLUFA) 方法相比, 呼吸法的优点在于, 有机肥对土壤腐殖质供应的影响不仅必须通过长期田间试验获得 (其中许多其他因素也起着重要作用), 而且可以针对给定的肥料和相应的土壤具体测定。此外, 还可以测试迄今为止尚未列入德国农业调查与研究部署协会意见书的新型有机肥料。与田间试验相比, 呼吸法节省时间和成本。
研究的必要性	通过对植物根系的模拟, 可以改进此方法。目前正在进行试验, 以测试离子交换剂作为植物根系替代品的集成情况。此外, 还应开发和研究呼吸实验中根系分泌物的模拟过程。

腐殖质供应对土壤肥力起着重要作用，可以增加植物的养分供应，并且提高土壤的蓄水能力和团聚体稳定性（VDLUFA 2004）。在作物生产中，腐殖质分解程度因耕作或撒石灰等农业措施而不同，但也取决于作物类型的具体情况，如土壤覆盖持续时间。与天然植被相反，虽然收割过程将生物质从土壤中移除，但是可将有机残留物（例如收割残留物、浆液、粪肥、堆肥）以及沼液沼渣输回田地里，以补偿这种不足。

如果有机肥提供的数量不足或有机质太容易降解，则土壤腐殖质供应仍然不足，土壤肥力下降。如果有有机肥提供太多容易降解且富含营养的有机质，则可能发生不希望出现的效果，例如营养物浸出或挥发（例如氮）（同上）。可通过多种方式测试有机肥对土壤腐殖质供应的贡献程度。

德国农业调查与研究部署协会方法

德国农业调查与研究部署协会方法（2004）旨在估算田地的有机质供应量，并在必要时用有机肥补偿不足。腐殖质平衡法将腐殖质动态视为平衡，即包含输入和输出。为此，以 $\text{kg humus-C ha}^{-1}\text{a}^{-1}$ 规定不同作物和栽培类型的腐殖质需求。该值可为正（腐殖质增加）或负（腐殖质消耗）。此类值的推导基于长期测试和专家知识（DOMINIK et al., 2009）。如果值为负值，则必须通过有机肥的腐殖质再生来补偿负值。德国农业调查与研究部署协会意见书中还提供各种有机肥的相应腐殖质再生数值。这些数值以 $\text{kg humus-C (底物湿重)}^{-1}$ 表示。这些腐殖质再生数值可用于估算有机肥对土壤腐殖质供应的影响。尽管以单位 ($\text{kg C}_{\text{org}} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$) 来表示，但无法从腐殖质平衡中推断出腐殖质储量的实际变化，因为该方法既未考虑当地条件，如土壤和气候类型，也未考虑以前的土地利用情况。此外，腐殖质储量的变化并非线性，而是以渐进方式趋向于新的平衡。因此，尽管腐殖质正平衡，但特定位置可能表现出腐殖质储量减少。德国农业调查与研究部署协会方法无法应用于生态农业。针对生态农业，LEITHOLD 与 HÜLSBERGEN（1998）开发了腐殖质单位（HU）方法。他们表示，作物的腐殖质消耗水平高于德国农业调查与研究部署协会的对应值，因为在生态农业中未使用矿质氮矿物肥料，并且必须通过土壤有机质（腐殖质）的矿化来确保植物的氮供应。因此，对补偿再生有效的有机肥的需求更高（联邦环境署 2008）。

田间试验测定

测定有机肥引起的腐殖质含量变化的最准确方法是长期田间试验。田间试验考虑农业实践的所有影响（如作物轮作、耕作、播种、收割和天气条件）。在田间试验中，在相同试验条件下，在不同田间小区中施用不同（量）的肥料，并测定腐殖质含量的变化。

由于可耕种土壤的腐殖质含量也会随着时间推移而局部变化——每年收割残留物的供应和分解最高可占腐殖质储量的 10%——必须连续多年测量该参数，以便就腐殖质含量及其方向的变化给出可靠结果。在每个耕作和气候状况稳定的土地利用系统中，将在更长时期内建立腐殖质供应与分解之间的平衡，即稳定的腐殖质含量。定量说明要求测量至少持续 20-30 年。因此，该方法的成本变得非常高昂，并且不适合对新型有机肥（例如来自可再生资源的沼气残留物）的效果进行短期预测。

实验室实验测定

在实验室规模的呼吸实验中，可通过设置最适合微生物的温度缩短矿化时间。获得与田间一年内相同的矿化效率所需的天数被称为生物活性时间（BAT）。可借助土壤的精细部分、年平均气温和年降水量计算该数值（FRANKO 与 OELSCHLÄGEL 1995）。

为了检测激发效应，用于培养的土壤应当具有不同于有机肥的 $\delta^{13}\text{C}$ 信号。土壤与肥料相互混合，通过调整使含水量达到最大持水量的 40-60%，并将其装入可密封容器中。这些容器集成了一个包含碱（氢氧化钾，KOH）的小开口容器（图 84）。土壤/肥料混合物排放的二氧化碳在碱中转化为碳酸盐离子。通过安装在碱中的电极测量由此产生的电导率的升幅，后者转化为排放的二氧化碳。在培养期间，将容器置于恒温不透光的水浴中。

如果没有呼吸计可用，也可通过滴定碱测定释放的二氧化碳量。为此，首先用氯化钡（ BaCl_2 ）将 CO_3^{2-} 沉淀为碳酸钡。用滴定装置将剩余的碱滴定至 pH 7，或在加入酚酞后用盐酸（HCl）手动滴定至 pH 7。从土壤/肥料样品的碱中的氢氧根离子量中减去对照物（不施肥的培养土）的碱在滴定期间中和的氢氧根离子量。随后可计算出转化为二氧化碳的量。

可测定碱中排放的二氧化碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 信号，随后计算混合物含量，以此获得土壤和肥料在二氧化碳排放中的所占份额。培养前肥料的碳量（通过元素分析测量）与肥料排放的碳量之间的差值对应的是肥料添加到土壤中的碳量。与因子 1.72 相乘，得出相应的腐殖质含量（舍费尔 [SCHEFFER] 与沙驰斯贝儿 [SCHACHTSCHABEL] 2002）。 $\delta^{13}\text{C}$ 分析还能够进一步揭示肥料是否正在触发所谓的激发效应，即通过施用肥料是否导致比对照物中数量更多的矿化土壤碳。如果不能获得具有与肥料不同的 $\delta^{13}\text{C}$ 信号的土壤，则无法定量测定所排放二氧化碳的来源（土壤和沼气残留物）。在这种情况下，计算土壤/肥料样品释放的碳量与对照物释放的碳量之间的差值。

最后，从培养前肥料的碳量中减去该结果，并乘以因子 1.72（见上文）。通过这种方式不能识别任何已经发生的激发效应。关于确定有机肥对腐殖质供应的影响，一个问题是：在肥料不再快速分解，而被视为长期“腐殖质有效”之前所需的矿化时间方面，学术界存在争议。为了实现可比性和结果的近似分类，建议在实验中纳入一到两种经过充分研究的肥料（如粪肥）作为参考（多米尼克等人 2009）。

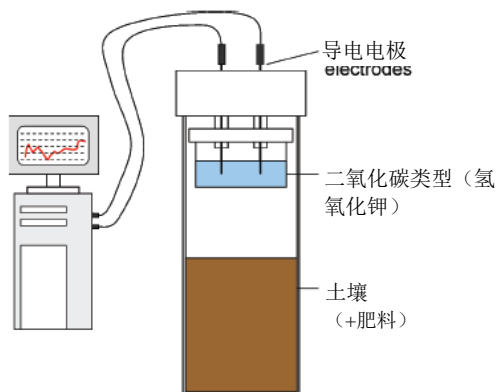


图 84：呼吸计测量单元示例

7.4 沼气工程的质量平衡

尤尔根·普罗特（Jürgen Pröter），约瑟芬·霍夫曼（Josephine Hofman），德国生物质研究中心；尤尔根·库比（Jürgen Kube），Agraferm 技术股份公司（Agraferm Technologies AG）

由于利用沼气工程生产能源的重要性日益提升，对描述沼气工艺流程的要求越来越高。在这方面，对潜在沼气产量的估算也成为一项重要工作，该数字是评估沼气工程的最重要标准之一。

在过程工程工艺的呈现和评估方面存在不同方法。例如，质量平衡（物料平衡）为根据以下因素评估设备运行提供了机会：所用底物的各自数量和组成、过程工程工艺参数以及所涉微生物的代谢活动。除了预测沼气产率或残余气体潜力外，通过质量平衡，还能够优化过程控制，并为确定沼气工程的实际规模或经济状况奠定基础。

直接、准确、全面的质量平衡贴合实际，但通常无法实施，原因在于无法通过合理努力测量进出的物质流以及动力学反应，或者有时缺失技术基础。不过，目前已有多种方法用以估算实际设备运行中的最大沼气潜力或实际沼气产量。

基于基本考量因素，沼气工程质量平衡的不同方法、选项和不确定性详述如下。

质量平衡的基本要素

为了能够创建完全质量平衡，必须在最初规定平衡空间。在本节简短介绍中，平衡或系统边界将只包含一个反应器（图 85）。不过，在各自应用的情况下，可将此处描述的方法应用于包括底物贮存或多个消化器的整体设备设计。

投入系统的物质一般包括所利用的底物和共发酵的底物以及外源添加剂（微量元素、酶或用于固定硫化氢的制剂）和水。产生的沼气和沼渣沼液作为排出物质从此工艺流程分离。如果发生沼渣沼液的再循环，可能较为明智的做法是将回流控制在系统边界内，不必额外平衡再循环。除了跨越系统边界的直接传输外，各组物质的不同生化和物理化学转化反应对沼气工程的质量平衡具有决定性的影响。

基于这些基本考量因素，连续反应器固定运行中的总质量平衡可用公式表示为：

$$\frac{dm}{dt} = 0 = \underbrace{\text{进料物质} - \text{排出物质}}_{\text{通过系统边界的传输}} \pm \underbrace{\text{物质转化}}_{\text{生化反应}} \quad (90)$$

因此，在这些条件下，无法做出关于反应器的启停或在不同负荷水平下动态运行的陈述。

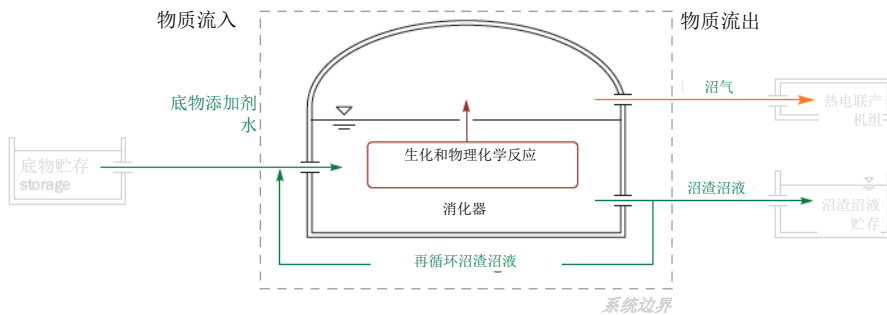


图 85：发酵罐内的质量平衡（资料来源：德国生物质研究中心）

供应的物质

底物

所投入底物的材料特性是沼气工程质量平衡的核心要素。不同的底物不仅包含有机成分，还含有水以及无机和不可发酵成分。对于粗略的质量平衡，通常可以忽略底物中溶解的气体。

因此，在不同底物表征方面的误差主要发生在采样以及个别测量方法的确定和解释中。在这一点上，存在截然不同的指标，以便能够评估和平衡不同底物：

湿重 (WW)

根据投入和排出的湿重 (WW) 以及相应的沼气产量，能够实现有意义的质量平衡。由于避免了以下列出的许多底物表征和物料转化问题，因此湿重成为工业规模的沼气工程中实践平衡方面的稳健、合理的指标。

挥发性固体含量 (VS)

根据标准化方法测定挥发性固体含量 (第 3.1 章)。在高挥发性底物成分比例较高的情况下，必须根据魏斯巴赫公式进行总固体含量校正 (第 3.2 章)。此外，挥发性固体的确含有不可发酵成分，因此为计算特定底物的沼气产气潜力，有必要进一步估算此类成分。

可发酵挥发性固体含量 (FVS)

可发酵挥发性固体含量 (FVS) 描述厌氧条件下实际可降解的总固体含量，可根据魏斯巴赫公式 (2008, 2009) 对选定的底物进行第一近似估算。由于只有实际可发酵的底物组分存在底物的物料转化 (沼气生产)，，因此对不可发酵底物组分的估算是合理质量平衡的先决条件。从根本上说，必须在实践中进一步加强这一指标的计算、解释和利用。迄今为止，仍然缺乏在实际条件下对可发酵底物组分进行分析测定的标准化方法。

进料分析 (Weender 与 van Soest 分析)

进料分析 (参见第 2 章“定义”以及第 4.7–4.12 章) 描述了基于碳水化合物 (结构物质和细胞内含物)、蛋白质以及脂肪的不同组成的各种底物，因此通常为不同类别营养素的化学计量分解途径的差异化描述奠定基础。除了由于不同的样品制备和分析方法而降低测量结果的可比性外，对各个组分的实际可发酵份额的评估在这方面也具有决定性的重要意义。

化学需氧量 (COD)

化学需氧量 (COD) 表示对各自样品的有机化合物进行完全氧化所需的氧量。与挥发性固体含量类似，化学需氧量是有机底物组分的计量单位，但通常用于废水分析领域中高度稀释样品的评估。在具有高比例挥发性物质的高度稀释底物（例如渗滤液）的厌氧消化过程中，依靠化学需氧量也可能是明智之举，因为在这方面基于总固体含量的测定显然没有意义。

总碳 (TC)

总碳 (TC) 含量描述的是来自底物的所有无机和有机化合物的碳的总和。类似于化学需氧量 (COD)，总有机碳 (TOC) 经常用于表征废水分析领域中的有机底物份额。依靠于所使用的底物和方法，根据相对于质量平衡的主要目标和各自优缺点选择将要使用的分析参数非常重要。

添加剂

在实际工程中，微量元素混合物、铁制剂或酶等添加剂用于沼气产气过程的稳定、脱硫或优化。由于所用制剂的量通常很小 (<底物进料总量的 0.1%)，因此通常可以忽略投入物质中的重量比例。但是，这些添加剂能够改变相关微生物的活性和降解速度，因此可能对物料转化工艺流程中动力学描述中的微生物生长限制和/或抑制过程具有决定性影响。

水

如果为发酵过程提供额外的水以确保进料底物或发酵罐中底物的流动能力，则必须将其计入物料平衡中。在此，底物所含水的质量已经包含在进料底物的湿重中，并可基于各自总固体含量通过计算而除去，以建立水平衡。

排出物质

沼气

在平衡所产生的沼气体积时，应当明确沼气的测量点以及测量条件（温度和压力）。由于潮湿的沼气从反应器排出，必须确保在测量位置的上游已经将气体干燥并需要测量气体温度。通常，气体温度将接近测量现场的环境温度，因此与消化器温度显著不同。在不同情况下，应当依照标准条件校正所测量的沼气体积，并在适用情况下校正干沼气体积（蒸汽校正）（STP）。

从反应工程的角度来看，实际产生的沼气含量与测得的气体体积流量之间可能存在差异。这种差异可能归因于：一部分生成的沼气溶解在底物悬浮液中。因此，液相中的气体浓度直接取决于气体的分压和特定物质的亨利常数。温度和液体中溶解物质的含量还决定了气体溶解度。

沼渣沼液（发酵残留物）

在表征沼渣沼液的特性时，必须考虑到沼渣沼液不只由无机物和水组成，另外还含有不可利用且不可转化的挥发性固体以及新形成的细菌生物质。此外，沼渣沼液还包含一部分以溶解形式产生的沼气。沼渣沼液（无机挥发性固体或灰分）中所含盐的质量大致相当于所投入的盐的质量。这一点完全适用于所有重金属。在对这些物质的分析中，如果知道进料底物的质量，则能够推导出沼渣沼液的质量。从根本上说，业已讨论的底物评估的分析方法可用于表征沼渣沼液不同组分的特性。

物料转化

除了表征进料和出料的特性外，针对不同底物组分的物料转化的描述也是质量平衡的中心要素。

在这种情况下，沼气产量既受底物产气潜力的影响，也受相关微生物的动态生长条件的影响，因此这两个要素的测定对于平衡过程的现实映射具有决定性作用。但是，只有基于详细的测量方法和动力学建模方法才可能全面描述单个降解路径和中间产物，所以实践中很少使用这些科学的平衡方法，而且由于多层依赖关系也不适用于面向实践的工艺流程评价（作为本简介的一部分）。

然而，在无限制且连续的（固定式）反应器运行中，简化计算方法和平衡方法也可用于实践工艺流程的描述。因此，下文忽略个别中间产物的差异化分解，只考虑有机底物转化为沼气的整体反应（*brutto* 化学计量和动力学）。然而，在各自应用的情况下，必须意识到限制生长的中间产物或抑制剂可能会严重抑制厌氧消化过程，从而可能严重影响平衡或使平衡的意义相对化。

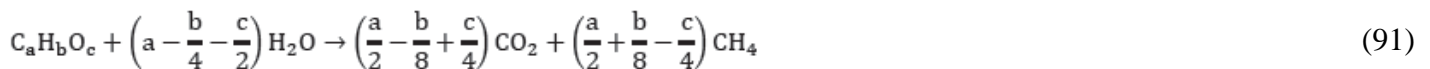
化学计量比（沼气[产气]潜力）

沼气（产气）潜力即底物在厌氧消化过程中的最大沼气产量，因此，考虑到不同的工艺条件（停留时间和反应动力学），不能将其误认为在实际工程运行过程中能够实现的实际沼气产量。

原则上, 可通过实验性批量试验确定(参见第6.2章), 也可根据化学计量比计算确定沼气(产气)潜力。但是, 由于不同试验条件(接种物/接种剂的活性)和理论考量(模型底物)存在显著差异, 因此迄今为止, 实用的分析方法尚不具备可比性和/或透明性。从根本上说, 存在不同的化学计量方法来估算基于单个可发酵营养组分的沼气产气潜力。

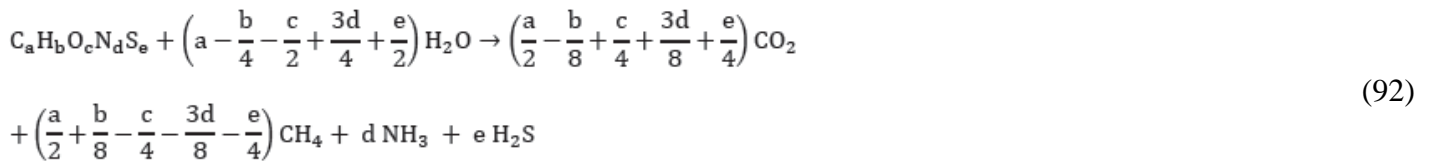
巴斯维尔[BUSWELL]与穆勒[MÜLLER]

可用(巴斯维尔与穆勒 1952)的“简化”反应方程(氧化反应)描述有机物的厌氧降解。基于各底物组分和纯物质的化学计量公式得出各个系数, 可计算出沼气产量(甲烷和二氧化碳)以及所需水的份额。此方法未考虑所产生的细菌生物物质。



BOYLE[波义耳]

波义耳(1976)从巴斯维尔与穆勒(1952)的反应方程出发, 通过加入氮和硫组分扩展了化学计量方程。这样, 除了二氧化碳和甲烷之外, 还可计算出沼气(和溶液)中氨和硫化氢的比例。此外, 现在计算还可应用于含有氮和硫的底物组分, 如蛋白质和氨基酸。此方法仍未考虑所产生的细菌生物物质。

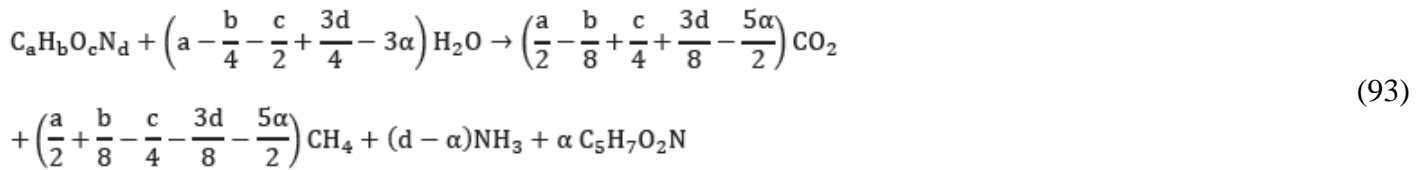


McCARTY[麦卡蒂]

为了另外描述产生的细菌生物物质的份额, 可通过生物质的经验式 $C_5H_7O_2N$ 扩展波义耳(1976)的反应方程, 该方程基于帕沃洛斯塔西斯[PAVLOSTATHIS]与希拉尔多-戈麦斯[GIRALDO-GOMEZ](1991)的麦卡蒂方程(1972)建模。其中, 化学计量产率系数 α 表示被用于产生细菌生物物质的底物的量(方程93)。

除了介绍性例子, 还存在全面化学计量平衡, 其中描述厌氧消化的不同中间产物的差异化分解(安吉利达奇[ANGELIDAKI]等人 1999; 巴特斯通[BATSTONE]等人 2002)。

此处，所有方法都依赖于对投入的底物进行分类，基于化学计量式可将各个底物组分表征的尽可能接近实际，并且还可通过分析加以确定。



$$\text{Mit } \alpha = Y \cdot \frac{M_S}{M_X} \left[\frac{\text{生物质摩尔量}}{\text{基质摩尔量}} \right]$$

Y = 产率系数 [千克生物质/千克底物]

M_S = 底物摩尔量 [kg/mol]

M_X = 生物质摩尔量 [kg/mol]

由于采用不同的模型底物和测试方法，文献中的典型营养成分存在不同的沼气产气潜力，表 23。

表 23：可发酵的营养成分的沼气（产气）潜力（魏斯巴赫 2009）

	(WEISSBACH 2009) ^a		(WEILAND 2001)		(VDI GUIDELINE 4630 2006) ^b		(BASERGA 1998)	
	沼气 [L (STP)/kg]	甲烷 [%]	沼气 [L (STP)/kg]	甲烷 [%]	沼气 [L(STP)/kg]	甲烷 [%]	沼气 [L(STP)/kg]	甲烷 [%]
碳水化合物	787–796	50.0–51.1	700–800	50–55	750	50	790	50
脂肪	1,340–1,360	70.5–71.3	1,000–1,250	68–73	1,390	72	1,250	68
蛋白质	714–883	50.9–51.4	600–700	70–75	800	60	700	71

^a 计算粮食和谷物

^b ... “未考虑发酵底物中细菌生物质的产生”（VDI 指南 4630 2006）

从根本上说，仅仅基于可发酵底物的实际量计算整个沼气（产气）潜力具有决定性意义。在此，利用经典进料值表中的消化因子进行的计算所提供的结果通常非常不准确，因此必须根据魏斯巴赫公式（2008, 2009），基于不可发酵部分确定可发酵底物组分。还必须对额外产生的细菌生物质带来的沼气潜力进行校正，具体取决于所使用的化学计量比。

反应动力学

对于厌氧消化的不同分解阶段对微生物生长动力学进行全面和差异化，需要考虑复杂的模型因素（安吉利达奇等人 1999；巴特斯通等人 2002）。

相反，在无干扰的情况下，也可以基于简单的一级反应动力学计算沼气产量。

因此，任何底物组分的浓度取决于反应常数以及连续、固定式反应器运行中的相应停留时间：

$$c = \frac{c_{in}}{1 + k \cdot \text{HRT}} \left[\frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right] \quad (94)$$

c_{in} 进料底物浓度 (kg/m³)

k 一级反应速率常数 (1/d)

HRT 水力停留时间 (d)

对于（不同的）发酵底物、测试条件和模型，文献中存在许多不同且有时相互矛盾的动力学常数，因此开发系统性且以实践为导向的不同底物和/或其组分的代表性动力学参数的选择和计算（识别）是非常重要的。

总结

质量平衡提供了多种选择，能够以此评估或预测沼气工程中的底物分解。为了完整描述厌氧消化过程，需要综合模型方法，而上述方法已经可以用于有意义且（更重要的是）以实践为导向的物料平衡。以魏斯巴赫（WEISSBACH）底物评估的研究作为起点，对以下问题仍然存在很大的研究需求：

- 开发用于计算可发酵挥发性固体含量（FVS）和单个底物组分含量的标准化、实验或分析方法
- 开发用于实践相关的复杂底物的表征和/或化学计量描述（化学式）的合适方法
- 对比用于测试不同底物的沼气（产气）潜力的实验（批示实验）和理论（化学计量）方法
- 不同分解方法对沼气潜力和降解动力学的影响
- 运用简化的动力学建模方法，描述实验室规模的基础反应工程和工艺流程以及转移（升级）至沼气工程的实际运行
- 关于识别实践相关底物的简单分解反应（一级）的动力学参数的实验测试系列
- 基于反应工程和微生物测试，微生物（接种物）活性对标准化批示试验的意义和可比性的影响和量化
- 产生和/或死亡的细菌数量及其对沼气工程质量平衡的影响
- 产生的气体成分（二氧化碳）溶解度的影响

因此，未来重要的做法，是通过进一步的理论和实践研究，将这些基本方法包括在标准化且以实践为导向的质量平衡方法中，以便借助反应工程平衡方法改进沼气工程的评估、优化和规模调整，并使其接近实际。

质量平衡示例（魏因里希[WEINRICH] 2014）

总之，基于单级沼气工程（500 Kwe1）中玉米青贮饲料的单一发酵实例，提出了简单的质量平衡原理（魏

因里希 2014)。所用玉米青贮饲料的底物特性对应于德国生物质研究中心 (DBFZ) 各种分析的平均分析值, 表 24。

根据一般做法, 玉米青贮饲料的总固体通过分离再循环形式的工艺之后, 用水或淡水进行稀释, 以确保物料在消化器中的可泵性和可搅性, 图 86。

表 24: 用于计算示例的玉米青贮饲料的底物特性 (魏斯巴赫 2009)

参数	符号	数值	计量单位
总固体含量	TS	33.5	% WW
有机干物质 (挥发性固体)	VS	95.6	% TS
可发酵有机干物质/挥发性固体 ^a	FVS	78.5	% TS
无氮提取物	NFE	626.1	g/kgTS
粗纤维	CFI	221	g/kgTS
粗蛋白质	CP	78.8	g/kgTS
粗脂肪	CF	29.6	g/kgTS
粗灰	CA	44.5	g/kgTS

^a 根据魏斯巴赫公式 (2008) 用粗灰和粗纤维计算

假设 5% 的可发酵挥发性固体被混入细菌生物质中, 根据巴斯维尔与穆勒对粮食和谷物进行的化学计量计算可知, 每吨可发酵挥发性固体的产气潜力平均为 809 立方米沼气和 420 立方米甲烷 (魏斯巴赫 2009)。相应的水进入沼气的化学计量集成率为 11.25%。基于进料底物的可发酵成分, 可以明确计算可发酵挥发性固体的具体转化率以及在固定设备运行的情况下产生的发酵产物 (沼气和沼渣沼液) 的数量和特性, 表 25。

因此，质量平衡提供了多种选择，能够以此评估或预测沼气工程中的底物分解。为了详细描述分解过程和中间产物的特性，可能需要综合模型方法和测量情景，而上述方法已经可以用于有意义、稳健并且（更重要的是）以实践为导向的平衡。

表 25：沼气工程质量平衡的计算公式（魏因里希 2014）

沼气工艺流程中可发酵挥发性固体转化率 η 的计算方法	
沼气产气量：	$\eta = \frac{\dot{V}_B}{\dot{m}_S \cdot TS_S \cdot FVS_S \cdot Y_{FVS}}$
残余产气潜能：	$\eta = \frac{TS_S \cdot FVS_S \cdot Y_{FVS} - Y_D}{TS_S \cdot FVS_S \cdot Y_{FVS} \cdot (1 - Y_D \cdot \rho_B)}$
反应动力学：	$\eta = \frac{k \cdot HRT}{1 + k \cdot HRT}$
沼渣沼液中的挥发性固体：	$\eta = \frac{1}{FVS_S \cdot (1 - f_X)} \cdot \left(1 - \frac{1 - VS_S}{1 - VS_D}\right)$
沼渣沼液中的总固体：	$\eta = \frac{1}{FVS_S \cdot [1 - f_X - TS_D \cdot (1 - f_X + f_W)]} \cdot \left(1 - \frac{TS_S}{TS_D}\right)$
发酵产物的生成量和性质计算	
$\dot{V}_B = \frac{\dot{m}_S \cdot TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X + f_W)}{\rho_B} = \dot{m}_S \cdot TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot Y_{FVS}$	
$Y_D = \frac{TS_S \cdot FVS_S \cdot (1 - \eta) \cdot (1 - f_X + f_W)}{[1 - TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X + f_W)] \cdot \rho_B} = \frac{TS_S \cdot FVS_S \cdot (1 - \eta) \cdot Y_{FVS}}{1 - TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot Y_{FVS} \cdot \rho_B}$	
$\dot{m}_D = \dot{m}_S \cdot [1 - TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X + f_W)] = \dot{m}_S \cdot (1 - TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot Y_{FVS} \cdot \rho_B)$	
$VS_D = \frac{VS_S - FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X)}{1 - FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X)}$	
$TS_D = \frac{TS_S - TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X)}{1 - TS_S \cdot FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X + f_W)}$	
$FVS_D = \frac{FVS_S \cdot (1 - \eta)}{1 - FVS_S \cdot \eta \cdot (1 - f_X)}$	

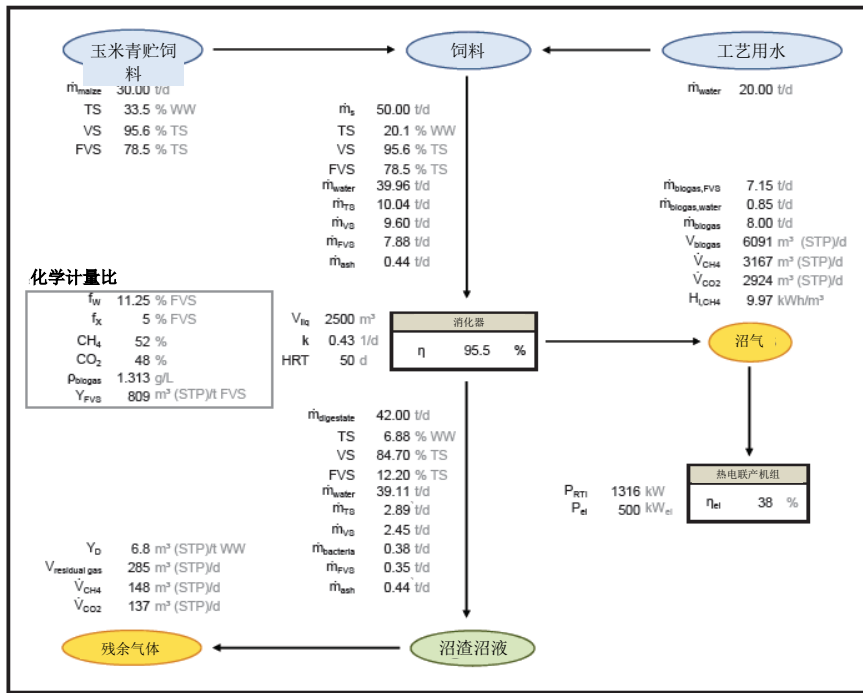


图 86: 玉米青贮饲料单一发酵的简单质量平衡的计算方案 (魏因里希 2014)

图目录

图1:	标准溶液混合物 (C2至C6) 与单标苯甲醛的样品色谱图	39
图2:	使用离子色谱技术测定挥发性有机酸组分的色谱图	41
图3:	使用高效液相色谱技术测定挥发性有机酸组分的色谱图	42
图4:	气相色谱-质谱仪	44
图5:	样品色谱图, 醛、醇、酮及挥发性脂肪酸等组分含量的测定	44
图6:	在示差折光检测器上使用的所有标准混合溶液样品色谱图	49
图7:	在检测器波长为280纳米处5-羟甲基糠醛与糠醛的样品图	49
图8:	物质间关系图	53
图9:	样品色谱图: 糖标准物分析	56
图10:	来自沼气工程水解槽的液体样品色谱图	56
图11:	使用三床热解析管进行挥发性有机化合物采样的示意图	73
图12:	热解吸过程及后续分析示意图	73
图13:	取自废弃物发酵厂的沼气样品色谱图	76
图14:	甲基环四硅氧烷 (D4) 的定量测定法	76
图15:	电流型氢传感器	78
图16:	用于测定沼气介质中溶解气体的测量系统	78
图17:	在线测定沼气工程中溶解氢与溶解氧的含量, 箭头标记处为进料时间	79
图18:	在沼气实验室系统中在线测定沼气工程中溶解氢与溶解氧的含量; 随着有机负荷率的不断提升, 该实验室系统的微生物群所受的胁迫不断增大; 进料时间用箭头表示, 进料量被指定为有机负荷率	79
图19:	开放式生物过滤器的气体采样	83
图20:	在开放式堆肥点使用风道测定方法 (风洞) 测定气体排放情况	83
图21:	光学遥感法测定沼气工程的总排放量所用设备图, 左侧为激光光谱仪, 右侧为反射模块, 上部为气象站	89
图22:	路径积分浓度与路径平均浓度的信息示意图	91
图23:	粒度分析基本原理	96
图24:	等效投影面积径 (X_{EQPC})	98
图25:	未经处理的青贮玉米的累积粒度分布 $Q_3(x)$	99
图26:	用于测定液体混合物发泡潜能的泡沫发生装置示意图	101
图27:	采用泡沫发生模型的泡沫发生装置	102
图28:	莱比锡泡沫特性测试仪	103
图29:	已标示各组件名称的测试设置详图	104
图30:	同轴圆桶测量单元	106
图31:	双间隙测量单元	107
图32:	以污水污泥为例比较不同的测定方法	109
图33:	不同测定方法的比较: 所用底物为由污水污泥、脂肪和生物源残余物组成的混合物	109
图34:	输入功率与四叶片式搅拌器雷诺数的函数依赖关系示例	110

图35:	长纤维底物组分缠绕搅拌器轴	111
图36:	不同测定方法的比较: 所用底物为青贮玉米和粗黑麦粉组成的混合物	111
图37:	固体粘附在球体表面上	112
图38:	层流管流程示意图	112
图39:	根据纤维长度测定流体粘度的方法	115
图40:	用于测量发酵底物的两款旋转粘度计: 配备圆筒测量装置的ViscoTester 550旋转粘度计(左)和配备FL10叶片搅拌器的旋转粘度计ViscoTester 550旋转粘度计(右)	115
图41:	发酵罐内容物的粘度变化曲线	117
图42:	因产生涡流和长纤维组分缠绕搅拌器轴而导致的测量误差	118
图43:	基于Metzner-Otto方法的流体粘度测定法	119
图44:	测定高浓度纤维悬浮液中表观粘度的测试台	119
图45:	用于粘度测量的搅拌单元性能特征	120
图46:	表观粘度取决于沼气工程水解产物的转速	121
图47:	使用ViscoPakt®实验室用搅拌器测定低粘度材料系统粘度时测试结果失真汇总图	121
图48:	底物缠绕叶片搅拌器并产生涡流	123
图49:	叶片测速仪的传感器端, 可用于测量工业级沼气制气设备中的速度; 由弗劳恩霍夫环境、安全和能源技术研究所制造	125
图50:	用于传感器冲洗和密封的锁止腔示例	125
图51:	发酵底物和代用基质流变特性的比较	126
图52:	粒子图像测速仪的系统组件	127
图53:	恒温测速仪的测量电桥	129
图54:	用于校准和确定薄膜传感器常数的牵引通道	129
图55:	不同的传感器变体	130
图56:	使用电阻层析成像技术可视化比较两种液体的混合过程	131
图57:	弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的过程层析成像(ITS系统为P2+系统)	132
图58:	弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的电阻层析成像系统组件示意图, 示意图中圆柱形发酵罐的高径比为1, 可操作8个传感器平面。	132
图59:	电阻层析成像技术的测量原理	133
图60:	圆柱形发酵罐内(设有五个传感器平面)混合搅拌过程的可视化: 反应池的二维断层图(左)和三维示意图(右)	134
图61:	取决于发酵罐几何结构的平均混合质量	135
图62:	使用两个浸没式混合搅拌器测得的悬浮液速度曲线(左)。悬浮液中含有黄原胶和麦秆(右)	135
图63:	萎缩芽孢杆菌的营养细胞、内生孢子和孢子(1,000 x) (f. l. t. r.)	138
图64:	萎缩芽孢杆菌孢子粉作为最终产品	139
图65:	用标准I营养琼脂表面法检测萎缩芽孢杆菌	140
图66:	筛分机的设置	147
图67:	完成湿筛法后的溢流	147
图68:	砂石粒径分布测定结果直观图	149
图69:	不同筛分法的比较	149

图70:	玉米淀粉和乙酸两种标准底物的典型降解动力学曲线图及评估标准	152
图71:	序批式反应器（容积为1升）、水浴、微量气体流量计及气袋，弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所	154
图72:	序批式产气测试 – 不同底物的单位产气率曲线图	157
图73:	弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的实验室厌氧消化装置	158
图74:	在弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所开展的连续实验室消化进程	159
图75:	弗劳恩霍夫陶瓷技术和系统研究所的中试沼气发酵设备	161
图76:	总容积为15升的消化池设备图	163
图77:	德国生物质研究中心的连续发酵测试	164
图78:	当停留时间为80天时，因阶跃响应曲线（R1和R2）而导致搅拌罐内示踪剂浓度的变化	165
图79:	平行测试中两次连续发酵测试的沼气产量和有机负荷的变化曲线	168
图80:	平行运行的两个消化池的沼气产量曲线	169
图81:	使用氢氧化钠预处理前后的样品产气率变化图	177
图82:	设备指标测定示意图	183
图83:	关于设备指标（两个数字）计算的数学描述	184
图84:	呼吸计测量单元示例	188
图85:	发酵罐的质量平衡	189
图86:	玉米青贮饲料单一发酵的简单质量平衡的计算方案	198

表目录

表1:	未校正总固体含量以及所检查样品的pH值范围	30
表2:	仪器校准方法	37
表3:	气相色谱仪的技术规格（气相色谱仪主机为安捷伦[Agilent] 7980A）	38
表4:	顶空进样系统的技术规格（主机为美国铂金埃尔默Turbo Matrix 110）	38
表5:	离子色谱法中分离参数的设定	41
表6:	高效液相色谱（HPLC）中的分离参数	41
表7:	组分清单	45
表8:	仪器校准方法	48
表9:	高效液相色谱仪的设置（岛津公司）	48
表10:	高效液相色谱仪参数列表	51
表11:	分析物参数表（包括保留时间、校准范围、检出限、最低定量限及检测器）	52
表12:	萃取装置的程序	63
表13:	粗纤维含量的测定方法	65
表14:	酸性洗涤纤维含量的测定方法	68
表15:	中性洗涤纤维含量的测定方法	71
表16:	气相色谱仪-质谱仪的典型检测条件	75
表17:	测定方法列表	85
表18:	在联合国政府间气候变化专门委员会的《第四次评估报告》（AR4）、《第三次评估报告》（TAR）及《第二次评估报告》（SAR）中列示的100年期间甲烷与一氧化二氮全球升温潜能值比较表	88
表19:	测量系统在测定底物流变特性中的适用性取决于颗粒结构	114
表20:	矿物成分的粒径分类表（不含可溶性盐）	146
表21:	连续发酵测试的进料量分布	160
表22:	SWOT分析法内部和外部标准目录工作草案（部分）	181
表23:	可发酵的营养成分的沼气（产气）潜力	194
表24:	用于计算示例的玉米青贮饲料的底物特性	196
表25:	沼气工程质量平衡的计算公式	197

Table of literature

- ANDERSON G, CAMPOS C, CHERNICHARO L, SMITH L (1991): Evaluation of the inhibitory effects of lithium when used as a tracer for anaerobic digesters. In: *Water Research*, Vol. 25, No. 7, pp. 755–760
- ANGELIDAKI I, ELLEGAARD L, AHRING BK (1999): A comprehensive model of anaerobic bioconversion of complex substrates to biogas. In: *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 63, No. 3, pp. 363–372
- BANEMANN D (2012): Mündliche Mitteilung 29.9.2012 [Oral communication, 2012, Sep 26]
- BARKER SB & SUMMERSON WH (1941): The Colorimetric Determination of Lactic Acid in Biological Material. In: *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 135, S. 535–554
- BATSTONE DJ, KELLER J, ANGELIDAKI I, KALYUZHNY S, PAVLOSTATHIS SG, ROZZI A, SANDERS W, SIEGRIST H, VAVLIN V (2002): The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). In: *Water Science & Technology*, Vol. 45, No. 10, pp. 65–73
- BIERWERTH W (2011): Tabellenbuch Chemietechnik: Daten, Formeln, Normen, vergleichende Betrachtungen [Table book chemistry technology: Data, formulars, standards]. 8th ed., Haan-Gruiten: Verlag Europa-Lehrmittel – ISBN 978-3-8085-7088-3
- BioAbfV (1998): Verordnung über die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden (Bioabfallverordnung – BioAbfV) [Ordinance regarding the utilisation of biowastes on agriculturally, silviculturally and horticulturally utilised soils (Biowastes Ordinance – BioAbfV)]
- BioAbfV (2007): Novellierung der BioAbfV, Anhang 2 [Amendment to BioAbfV, Appendix 2]
- BORROTO J, DOMINGUEZ J, GRIFFITH J, FICK M, LECLERC J (2003): Technetium-99 m as a tracer for the liquid RTD measurement in opaque anaerobic digester: Application in a sugar wastewater treatment plant. In: *Chemical Engineering and Processing*, Vol. 42, No. 11, pp. 857–865
- BOYLE WC (1976): Energy Recovery from Sanitary Landfills – a review. In: *Microbial Energy Conversion*. Schlegel HG & Barnea J (Eds.), Oxford: Pergamon Press
- BREHMER M & KRAUME M (2011a): Rheological properties of substrates for the biogas production from renewable resources, poster at congress "Progress in Biogas II", March 30–31, Stuttgart
- BREHMER M & KRAUME M (2011b): Rheologische Charakterisierung von Gärsubstraten [Rheological characterization of fermenting substrates], talk at colloquium "14. Köthener Rührerkolloquium", June 16, Köthen
- BREHMER M, EPPINGER T, KRAUME M (2011c): Fluiddynamische Untersuchungen zur Optimierung von Biogasanlagen [Fluid-dynamic tests regarding the optimisation of biogas plants], talk at congress "4. biogas – expo & congress", Oct 26–27, Offenburg
- BUCHAUER K (1998): A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to wastewater and sludge treatment processes. In: *Water SA*, Vol. 24, No. 1, pp. 49–56
- BURCHARD CH, GROCHE D, ZERRES HP (2001): Handbuch einfacher Messungen und Untersuchungen auf Klärwerken [Handbook of simple measurements and investigation in wastewater treatment plants], 10th ed., ATV-DVWK (Eds.), München: Hirthammer – ISBN 3-921288-25-8
- BUSWELL AM & MUELLER HF (1952): Mechanism of Methane Fermentation. In: *Industrial & Engineering Chemistry*, Vol. 44, No. 3, pp. 550–552 – DOI: 10.1021/ie50507a033
- CRENNA BP, FLESCHE TK, WILSON JD (2008): Influence of source–sensor geometry on multi-source emission rate estimates. In: *Atmospheric Environment*, Vol. 42, No. 32, pp. 7373–7383
- CRUWYS JA, DINSDALE RM, HAWKES FR, HAWKES DL (2002): Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. In: *Journal of Chromatography A*, Vol. 945, No. 1–2, pp. 195–209

- DANCKWERTS PV (1953): Continuous flow systems – distribution of residence times. In: *Chemical Engineering Science*, Vol. 2, pp. 1–13
- DEBATIN K (1997): Experimentelle Strömungsmechanik, ergänzendes Skript zur Vorlesung [Experimental flow mechanics, supplemental script to the lecture]. KIT, Institut für Strömungsmechanik
- DEERBERG G, GRÄN-HEEDFELD J, HENNIG T, DUDLIK A (2009): Strömungs- und Wärmetransportoptimierung in Biogasanlagen – Abschlussbericht [Optimization of fluid flow and heat transfer in biogas plants – final report]. Oberhausen: Fraunhofer UMSICHT
- DIN 38414-19 (1999): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung: Schlamm und Sedimente (S) – Bestimmung der wasserdampfvlüchtigen organischen Säuren (S 19) [German standard methods for the examination of water, waste water and sludge: Sludge and sediments (S) – Determination of the steam-volatile organic acids (S19)]. Berlin: DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Beuth Verlag
- DIN EN 12880:2001-02 (2001a): Charakterisierung von Schlämmen – Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehalts; Deutsche Fassung EN 12880:2000 [Characterization of sludges – Determination of dry residue and water content; German version EN 12880:2000]. Berlin: DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Beuth Verlag
- DIN EN 12879:2001-02 (2001b): Charakterisierung von Schlämmen – Bestimmung des Glühverlustes der Trockenmasse; Deutsche Fassung EN 12879:2000 [German standard methods for the characterization of sludges – Determination of the loss on ignition of dry mass]. Berlin: DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Beuth Verlag
- DIN 38409-7 (2005): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung: Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (H) – Bestimmung der Säure- und Basekapazität (H7) [German standard methods for the examination of water, waste water and sludge: Parameters characterizing effects and substances (H) – Determination of acid and base-neutralizing capacities (H7)]. Berlin: DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Beuth Verlag
- DOMINIK P, JÄGER N, SÄNGER A, FLESSA, H (2009): Wie wirken NaWaRo-Gärreste auf den organischen Bodenkohlenstoff? [What impact do digestates from renewable resources have on the organic soil carbon?] In: *Biogas in der Landwirtschaft – Stand und Perspektiven*, Vol. 32, Weimar: KTBL/FNR Biogas Kongress
- DUMAS JB (Ed.) (1831): *Annales de Chimie et de Physique [Annals of Chemistry and Physics]*, Vol. 47
- DYSON R (2004): Strategic development and SWOT analysis at the University of Warwick. In: *European Journal of Operational Research*, Vol. 152, No. 3, pp. 631–640
- ECKELMANN H (1997): Einführung in die Strömungsmesstechnik [Introduction to flow measurement engineering], In: *Leitfäden der angewandten Mathematik und Mechanik*, Vol. 74, Stuttgart: Teubner – ISBN 3-519-02379-2
- ENGLER N, MERRETIG-BRUNS U, FEHER A, FRITZ TH, NELLES M (2011): Der ORGA-Test: Entwicklung eines Testverfahrens zur praxisnahen Beurteilung der Fermenterbiologie in NawaRo-Biogasanlagen [The ORGA Test: Development of a test method for the practise-focused assessment of the digester biology in renewable resources biogas plants]. In: *Gülfower Fachgespräche*, Vol. 35, Gülfow: FNR (Ed.)
- FLESCH TK, WILSON D, HARPER LA, CRENNNA BP, SHARPE RR (2004): Deducing Ground-to-Air Emissions from Observed Trace Gas Concentrations: A Field Trial. In: *Journal of Applied Meteorology*, Vol. 43, No. 3, pp. 487–502
- FLESCH TK, WILSON D, HARPER LA, CRENNNA BP (2005): Estimating gas emissions from a farm with an inverse-dispersion technique. In: *Atmospheric Environment*, Vol. 39, No. 27, pp. 4863–4874
- FLESCH TK, WILSON D, HARPER LA (2005): Deducing Ground-to-Air Emissions from Observed Trace Gas Concentrations: A Field Trial with Wind Disturbance. In: *Journal of Applied Meteorology*, Vol. 44, No. 4, pp. 475–484

- FLESCH TK, DESJARDINS RL, WORTH D (2011): Fugitive methane emissions from an agricultural biodigester. In: *Biomass and Bioenergy*, Vol. 35, No. 9, pp. 3927–3935
- FLESCH TK, WILSON JD, YEE E (1995): Backward-time Lagrangian stochastic dispersion models and their application to estimate gaseous emissions. In: *Journal of Applied Meteorology*, Vol. 34, No. 6, pp. 1320–1332
- FOKEN T (2003): *Angewandte Meteorologie: Mikrometeorologische Methoden* [Applied meteorology: Micro-meteorological methods]. Berlin: Springer Verlag – ISBN 978-3-540-38202-7
- FRANKO U, OELSCHLÄGEL B (1995): Einfluss von Klima und Textur auf die biologische Aktivität beim Umsatz der organischen Bodensubstanz [Impact of climate and texture on the biological activity in the conversion of organic soil substance]. In: *Archiv für Acker- und Pflanzenbau und Bodenkunde*, Vol. 39, pp. 155–163
- GAO Z, DESJARDINS RL, FLESCH TK (2010): Assessment of the uncertainty of using an inverse-dispersion technique to measure methane emissions from animals in a barn and in a small pen. In: *Atmospheric Environment*, Vol. 44, No. 26, pp. 3128–3134
- GÖRTZ G & MEISSAUER G (Inventors) (2003): Verfahren zur Bestimmung flüchtiger Fettsäuren (VFA) in anaeroben Fermentaten [Methods for the determination of volatile fatty acids (VFA) in anaerobic fermentates]. Patent DE10134658C2, Schmack Biogas AG (Applicant)
- HEERTJES P, KUIJVENHOVEN L, VAN DEN MEER R (1982): Fluid flow pattern in upflow reactors for anaerobic treatment of beet sugar factory wastewater. In: *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 24, No. 2, pp. 443–459
- HERWIG H (2006): *Strömungsmechanik* [Flow mechanics]. 2nd ed., Berlin: Springer Verlag – ISBN 978-3-540-32441-6
- ITS (2009): *Industrial Tomography Systems PLC.: p2+ Electrical Resistance Tomography System – User´s manual*. Manchester
- IPCC (1996): *Climate Change 1995: The Science of Climate Change*. In: *2nd Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Houghton JT, Meira Filho LG, Callander BA, Harris N, Kattenberg A and Maskell K (Eds.), Cambridge: Cambridge University Press
- IPCC (2001): *Climate Change 2001: The Scientific Basis*. In: *3rd Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ, Noguer M, van der Linden PY, Dai X, Maskell K, and Johnson CA (Eds.), Cambridge: Cambridge University Press
- IPCC (2007): *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. In: *4th Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M and Miller, HL (Eds.), Cambridge: Cambridge University Press
- IPCC (2013): *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. In: *5th Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Stocker TF, Qin D, Plattner G-K, Tignor M, Allen SK, Boschung J, Nauels A, Xia Y, Bex V and Midgley PM (Eds.), Cambridge: Cambridge University Press
- JANKE HD (2008): *Umweltbiotechnik – Grundlagen und Verfahren* [Environmental biological engineering – Fundamentals and processes], 2nd ed., Stuttgart: Ulmer Verlag – ISBN 9783825283803
- KÄSS, W.: *Lehrbuch der Hydrogeologie Vol. 9 – Geohydrologische Markierungstechnik* [Textbook of hydrogeology Vol. 9 – Geohydrological marking technology]. 2nd ed., Berlin: Bornträger Verlag – ISBN 9783443010508
- KNOCH A (1997): Einfluß des nicht-newtonschen Fließverhaltens auf die charakteristischen Größen eines Rührprozesses [Impact of the non-Newtonian flow behaviour on the characteristic parameters of a stirring process]. In: *Chemie Ingenieur Technik*, Vol. 69, No. 10, pp. 1426–1432
- KRANERT M, GRAUL S, HILLEBRECHT K (2002a): *Entwicklung eines Verfahrens zur Sandgehaltsbestimmung in Bioabfällen und Restmüll*, FH Braunschweig, Forschungsbericht unveröffentlicht [Development of a method for the determination of the sand content in bio-wastes and residual waste, University of Applied Sciences Braunschweig, research report unpublished]

- KRANERT M, GRAUL S, HILLEBRECHT K (2002b): Untersuchung zur Bestimmung von Mineralgehalten in Bioabfällen und Gärückständen [Analysis regarding the determination of the mineral contents of bio-wastes and digestates]. In: *Müll und Abfall*, Vol. 02, No. 11, pp. 612–617
- KRAUME M (2004): Transportvorgänge in der Verfahrenstechnik: Grundlagen und apparative Umsetzung [Transport processes in process engineering: Fundamentals and instrumental implementation], 1st ed., Berlin: Springer Verlag – ISBN 978-3-642-18936-4
- LAVISION (2014): Particle Image Velocimetry (PIV). URL <http://www.lavision.de/de/techniques/piv.php>
- LEE QF (2009): Electrical Resistance Tomography (ERT). Advanced Chemical Technology Centre. [Cross-reference: Presentation from 2009: www.chmltech.com/ert/ert.pps]
- LEITHOLD G, HÜLSBERGEN KJ (1998): Humusbilanzierung im ökologischen Landbau [Humus balancing in ecological farming]. In: *Ökologie und Landbau*, Vol. 105, pp. 32–35
- LERM S, KLEYBÖCKER A, MIETHLING-GRAFF R, VIETH-HILLEBRAND A, ALAWI M, KASINA M, LIEBRICH M, WÜRDEMANN H (2012): Archaeal community composition affects the function of anaerobic co-digesters in response to organic overload. In: *Waste Management*, Vol. 32, No. 3, pp. 389–399
- LEVENSPIEL O (1962): Chemical Reaction Engineering, New York: Wiley and Sons
- LI BW & ANDREWS KW (1986): Separation of trimethylsilylated oximes of monosaccharides by capillary gas-liquid chromatography. In: *Chromatographia*, Vol. 21, No. 10, S. 596–598
- LIEBETRAU J, STRACH K, SCHNEIDER M (2011): Anaerobe Behandlung von Hühnerkot – prozessbiologische und stoffliche Randbedingungen [Anaerobic treatment of chicken droppings – process-biological and material framework conditions]. In: *Biogas aus Abfällen und Reststoffen*, Vol. 81., pp. 137–146, Dresden: Eigenverlag des Forums für Abfallwirtschaft und Altlasten – ISBN 978-3-934253-73-5
- LOMAS CG (1986): Fundamentals of hot wire anemometry. 1st ed., Cambridge: Cambridge University Press
- LOMBRISER R, ABPLANALP PA (1998): Strategisches Management: Visionen entwickeln, Strategien umsetzen, Erfolgspotentiale aufbauen [Strategic management: developing visions, implementing strategies, creating success potentials]. 2nd ed., Zürich: Versus Verlag – ISBN 9783908143598
- MALKIN AY, ISAYEV AI (2005): Rheology: Concepts, Methods, And Applications. Canada: Chem Tec Publishing – ISBN 978-1895198331
- McCARTY PL (1972): Energetics of organic matter degradation. In: *Water Pollution Microbiology*, Mitchell R (Ed.), pp. 91–118, New York: Wiley & Sons
- McGINN SM, FLESCHE TK, HARPER LA, BEAUCHEMIN KA (2006): An Approach for Measuring Methane Emissions from Whole Farms. In: *Journal of Environment Quality*, Vol. 35, No. 1, p. 14–20
- METZNER AB & OTTO RE (1957): Agitation of non-Newtonian fluids. In: *AIChE Journal*, Vol. 3, No. 1, pp. 3–10
- MEZGER T (2006): Das Rheologie Handbuch [The Rheology Handbook]. 2nd ed., Hannover: Vincentz Network Verlag – ISBN 3-87870-175-6
- MOELLER L & GÖRSCH K (2015a): Foam formation in full-scale biogas plants processing biogenic waste. In: *Energy, Sustainability and Society*, Vol. 5, No. 1
- MOELLER L, EISMANN F, WISSMANN D, NÄGELE HJ, ZIELONKA S, MÜLLER RA, ZEHNSDORF A (2015b): Innovative test method for the estimation of the foaming tendency of substrates for biogas plants. In: *Waste Management*, Vol. 41, pp. 39–49
- MONTEITH, H.; STEPHENSON, J.: Mixing efficiencies in full-scale anaerobic digesters by tracer methods. In: *Journal Water Pollution Control Federation* Vol. 53 (1981), No. 1, Pg. 78-84
- MOSHAGE U (2004): Rheologie kommunaler Klärschlämme. Messmethoden und Praxisrelevanz [Rheology of communal sewage sludges. Measurement methods and practical relevance]. Dissertation at Institut für Siedlungswasserwirtschaft, TU Braunschweig, Heft 72

- MÜLLER J, TIEHM A, EDER B, GÜNTHER W, HRUSCHKA H, KOPP J, KUNZ PM, OTTE-WITTE R, SCHMELZ KG, SEILER K (2000): Verfahren und Anwendungsgebiete der mechanischen Klärschlammdeintegration [Procedures and application fields of mechanical sewage sludge disintegration]. In: *KA - Wasserwirtschaft, Abwasser, Abfall*, Vol. 47, No. 4, pp. 570–576
- MUKENGELE M & OECHSNER H (2007): Einfluss der Silierung auf den spezifischen Methanertrag bei Mais [Impact of silaging on the specific methane yield of maize]. In: *Landtechnik*, Vol. 62, No. 1, pp. 20–21
- NITSCHKE W, BRUNN A (2006): Strömungsmesstechnik [Flow measurement engineering], 2nd ed., Berlin: Springer Verlag – ISBN 978-3-540-20990-4
- PANAGIOTOU G (2003): Bringing SWOT into Focus. In: *Business Strategy Review*, Vol. 14, No. 2, pp. 8–10
- PAUSS A, ANDRE G, PERRIER M, GUIOT, SR (1990): Liquid-to-Gas Mass Transfer in Anaerobic Processes: Inevitable Transfer Limitations of Methane and Hydrogen in the Biomethanation Process. In: *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 56, No. 6, pp. 1636–1644
- PAVLOSTATHIS SG & GIRALDO-GOMEZ E (1991): Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. In: *Critical Reviews in Environmental Control*, Vol. 21, No. 5–6, pp. 411–490
- PAWLOWSKI J (2004): Prozessbeziehungen bei nichtnewtonschen Stoffen – Kritik des Metzner-Otto-Konzeptes [Process relations of non-newtonian substances – critique of the Metzner-Otto-concept]. In: *Chemie Ingenieur Technik* Vol. 76, No. 7, S. 910–914
- RITTMANN BE, KRAJMALNIK-BROWN R, HALDEN RU (2008): Pre-genomic, genomic and post-genomic study of microbial communities involved in bioenergy. In: *Nature Reviews Microbiology*, Vol. 6, No. 8, pp. 604–612
- ROSS RD & ELLIS LM (1992): Laboratory – scale investigation of foaming in anaerobic digesters. *Water Environment Research*, Vol. 64, No. 2, pp. 154–162
- SCHAEFFER F & SCHACHTSCHABEL P: Lehrbuch der Bodenkunde [Textbook of soil science]. 15th ed., Berlin: Spektrum Akademischer Verlag – ISBN 3-8274-1324-9
- SCHELTER M, ZOSEL J, BERTHOLD F, OELSSNER W, GUTH U (2011): Measurement of Dissolved Gases in Anaerobic Biogenic Media. In: *Proceedings SENSOR 2011*, pp. 654–658 – ISBN 978-3-9810993-9-3
- SCHNEIDER M (2010): Limitierungen bei der Vergärung von Hühnertrockenkot als Monosubstrat [Limitations in the fermenting of dry chicken droppings as mono substrate], Bachelor's Thesis at HTWK Leipzig [Leipzig University of Applied Sciences]
- SCHÜRSMANN G (2007): Inverse Ausbreitungsmodellierung zur Emissionsratenbestimmung heterogener Flächenquellen [Inverse dispersion modeling for emission release evaluation of heterogeneous diffuse sources]. Dissertation an der Universität Augsburg, 2007
- STRUBELT C (2013): Mündliche Mitteilung [Oral communication] 14.10.2013
- TA LUFT (2002): Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft [Technical Instructions on Air Quality Control] – 1. Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Bundes-Immissionsschutzgesetz, In: 4. *BImSchV* [Federal Emissions Protection Act]
- TENNEY M & BUDZIN G (1972): How good is your mixing? In: *Water and Wastes Engineering*, Vol. 9, No. 5, pp. 57–59
- TÜRK M (1987): Zum Fließverhalten von Güllemischungen [Regarding the flow behaviour of liquid manure mixtures]. In: *Agrartechnik*, Vol. 37, No. 2
- UMWELTBUNDESAMT [FEDERAL ENVIRONMENTAL AGENCY] (2008): Bodenschutz beim Anbau nachwachsender Rohstoffe [Soil conservation in the cultivation of renewable resources], Dessau-Roßlau
- VDI-RICHTLINIE 2469 Blatt 1 (2005): Messen gasförmiger Emissionen – Messen von Distickstoffmonoxid – Manuelles gaschromatographisches Verfahren [Determination of gaseous emissions – Measurement of nitrous oxide – Manual gas chromatographic method]. Düsseldorf: Beuth Verlag

- VDI-RICHTLINIE 3469 Blatt 1 (2007): Emissionsminderung – Herstellung und Verarbeitung von faserhaltigen Materialien – Faserförmige Stäube – Grundlagen, Überblick [Reduction of emissions – Production and processing of fibrous materials – Fibrous dusts – Basics, overview]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDI-RICHTLINIE 3475 Blatt 4 (2010): Emissionsminderung – Biogasanlagen in der Landwirtschaft – Vergärung von Energiepflanzen und Wirtschaftsdünger [Reduction of emissions – Biogas plants in agriculture – Fermentation of energy crops and farm manure]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDI-RICHTLINIE 3481 Blatt 3 (1995): Messen gasförmiger Emissionen – Messen von flüchtigen organischen Verbindungen, insbesondere von Lösungsmitteln, mit dem Flammen-Ionisations-Detektor [Determination of gaseous emissions – Measurement of volatile organic compounds, particularly of solvents, by flame ionization detector]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDI-RICHTLINIE 3481 Blatt 4 (2007): Messen gasförmiger Emissionen – Messen der Konzentrationen von Gesamt-C und Methan-C mit dem Flammenionisationsdetektor [Determination of gaseous emissions – Measurement of overall-C and methane-C concentrations by flame ionization detector]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDI-RICHTLINIE 3945 Blatt 3 (2000): Umweltmeteorologie – Atmosphärische Ausbreitungsmodelle – Partikelmodell [Environmental meteorology – Atmospheric dispersion models – Particle model]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDI-RICHTLINIE 4285 Blatt 1 (2005): Messtechnische Bestimmung der Emissionen diffuser Quellen – Grundlagen [Metrological determination of emissions from diffuse sources – Basics]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDI-RICHTLINIE 4630 (2006): Vergärung organischer Stoffe – Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche [Fermentation of organic substances – substrate characterisation, sampling, data collection, fermentation tests]. Düsseldorf: Beuth Verlag
- VDLUFÄ (1988): Methodenhandbuch Band III – Die chemische Untersuchung von Futtermitteln [Method Handbook Vol. III – The chemical analysis of feedstuffs]. 3rd ed., Darmstadt – ISBN 978-3-941273-14-6
- VDLUFÄ (2004): Humusbilanzierung – Methode zur Beurteilung und Bemessung der Humusversorgung von Ackerland [Method for the assessment and sizing of the humus supply for arable land]. Bonn
- VESALA T, KLUUN N, RANNIK Ü, RINNEN J, SOGACHEV A, MARKKANEN T, SABELFELD K, FOKEN TH, LECLERC MY (2008): Flux and Concentration Footprint Modelling: State of the Art. In: *Environmental Pollution*, Vol. 152, pp. 653–666
- WEILAND P (2001): Grundlagen der Methangärung – Biologie und Substrate [Basics of methane fermentation – biology and substrates]. In: *Biogas als regenerative Energie – Stand und Perspektiven (VDI-Bericht)*, No. 1620, Düsseldorf: VDI Verlag
- WANG Y, ZHANG Y, WANG J, MENG L (2009): Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. In: *Biomass and Bioenergy*, Vol. 33, No. 5, pp. 848–853
- WEINRICH S, WEISSBACH F, PRÖTER J, LIEBETRAU J, NELLES M (2014): Massenbilanzierung von Biogasanlagen: Möglichkeiten und Herausforderungen zur Effizienzbewertung von Biogasanlagen [Mass balancing of biogas plants: Opportunities and challenges for efficiency determination of biogas plants]. In: *Tagungsband 8. Rostocker Bioenergieforum*, pp. 369–379 – ISBN 978-3-86009-412-9
- WEISS A, JÉRÔME V, FREITAG R (2007): Comparison of strategies for the isolation of PCR-compatible, genomic DNA from a municipal biogas plants. In: *Journal of Chromatography B*, Vol. 853, No. 1–2, pp. 190–197
- WEISSBACH F (2008): Zur Bewertung des Gasbildungspotenzials von nachwachsenden Rohstoffen. In: *Landtechnik*, Vol. 63, No. 6, S. 356–358

- WEISSBACH F (2009): Die Bewertung von nachwachsenden Rohstoffen für die Biogasgewinnung – Teil I: Das Gasbildungspotenzial der fermentierbaren Nährstoffe [Determination of renewable feed-stocks for biogas generation, Part 1] In: *Pflanzenbauwissenschaften*, Vol. 13, No. 2, pp. 72–85 – ISSN 1431-8857
- WEISSBACH F (2011): The future of forage conservation. In: *Proceedings II International Symposium on Forage Quality and Conservation*. Sao Pedro, Brazil, pp. 319–363
- WEISSBACH F & KUHLE S (1995): Stoffverluste bei der Bestimmung des Trockenmassegehaltes von Silagen und Grünfütter: Entstehende Fehler und Möglichkeiten der Korrektur. [Material losses in the determination of the dry matter content of silage and soilage] In: *Übersichten Tierernährung*, Vol. 23, pp. 189–214
- WEISSBACH F & STRUBELT C (2008a): Die Korrektur des Trockensubstanzgehaltes von Maissilagen als Substrat für Biogasanlagen [The correction of the total solids content of maize silages as substrate for biogas plants]. In: *Landtechnik*, Vol. 63, No. 2, pp. 82–83
- WEISSBACH F & STRUBELT C (2008b): Die Korrektur des Trockensubstanzgehaltes von Grassilagen als Substrat für Biogasanlagen [The correction of the total solids content of grass silages as substrate for biogas plants]. In: *Landtechnik*, Vol. 63, No. 4, pp. 210–211
- WEISSBACH F & STRUBELT C (2008c): Die Korrektur des Trockensubstanzgehaltes von Zuckerrübensilagen als Substrat für Biogasanlagen [The correction of the total solids content of sugar-beet silages as substrate for biogas plants]. In: *Landtechnik*, Vol. 63, No. 6, pp. 354–355
- WHITE K (1974): The use of radioactive tracers to study mixing and residence-time distributions in systems exhibiting three-dimensional dispersion. In: *1st European Conference on Mixing and Centrifugal Separation*, Churchill College, Cambridge, England
- WILKINSON WL (1960): *Non-Newtonian fluids: Fluid mechanics, mixing and heat transfer*. London: Pergamon Press
- WILSON JD, SAWFORD BL (1996): Review of Lagrangian stochastic models for trajectories in the turbulent atmosphere. In: *Boundary-Layer Meteorology*, Vol. 78, No. 1, S. 191–210



www.energetische-biomassenutzung.de

ISSN: 2689-9190

© 2019

Funded by/项目委托



Federal Ministry
for Economic Affairs
and Energy

Project management/项目管理



Projektträger Jülich
Forschungszentrum Jülich

Support team/项目支持



on the basis of a decision
by the German Bundestag