

生物扰动下海底沉积物-水界面溶解氧二维观测方法

李 栋, 姜子可, 于新生, 黄 颂

(中国海洋大学 海洋地球科学学院, 海底科学与探测技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

摘要: 沉积物-水界面(SWI)是生物地球化学循环的主要界面, 界面上溶解氧(DO)的分布实时测量对于了解生物扰动的复杂作用和生物地球化学循环过程有着重要意义。为了探索生物扰动作用对 SWI 微小溶解氧二维分布的影响作用, 本文以八乙基卟啉铂为荧光指示剂, 掺杂香豆素(Macrolex Yellow 10GN)作为荧光素能量供体, 以聚苯乙烯为基质制作了光学平面传感膜。以发光二极管(LED)为激励光源, 结合彩色相机, 构建了基于比率法的二维溶解氧观测系统, 系统能够以 0.36 mm 的空间分辨率对 SWI 的溶解氧分布连续观测, 实验室内的模拟实验结果表明, 底栖沙蚕掘穴扰动可使局部沉积物溶解氧质量比提高 3~4 $\mu\text{g/g}$ 。该研究填补了国内基于比率法的平面光学溶解氧传感器研究领域的空白。

关键词: 沉积物-水界面; 平面光学传感器; 生物扰动; 比率法

中图分类号: P67 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)05-0089-06

doi: 10.11759/hyhx20130502002

沉积物-水界面作为在物理、化学、生物特征等方面差异性显著的环境边界^[1], 是生物地球化学循环和生态系统耦合发生的重要区域。该界面上发生的生物扰动, 特别是沉积食性大型动物通过掘穴、摄取食物、迁移等生命活动引起的一系列物理、化学和微生物过程活动^[2], 改变原有的沉积结构, 改变了沉积物的粒径、孔隙度、渗透性等物理性质, 加速了孔隙水与上覆水之间的物质交换和能量流动, 改变了沉积物-水界面营养盐、金属元素以及有机物的传输通量和转化过程, 以及沉积物的早期成岩和沉积记录^[3]。因此生物扰动是控制和调节水相与沉积相之间物质输送和交换的重要途径^[4], 在陆海相互作用、氮、磷循环研究以及评价沉积环境中占据重要地位^[5], 同时也对海底有机物生产和降解起到影响作用, 具备重要的研究价值^[6]。

生物扰动和生物灌溉机理在全球海洋通量和陆海相互作用等研究领域受到极大重视, 但是受现场观测手段的限制, 生物掘穴引起的沉积物孔隙水的动态变化过程缺少连续的定量化观测资料。传统的碘量法溶解氧测量方法需要现场采集水样, 然后将待测水样在实验室内滴定, 需要耗费大量人工时间, 效率低, 且不能反映真实的环境^[7]; 电极式电化学探头法自身耗氧, 易氧化, 使用寿命短^[8]; 光纤化学传感器与微电极化学传感器均为针对环境中的单个点进行测量, 如要进行剖面测量, 需要复杂的控制辅助装置, 不利于高时空分辨率连续测量的应用。新型

的平面光学氧传感器采用数字 CCD 对整个观测区域一次性成像, 记录二维空间变化可以实现空间上的高分辨率连续测量, 在空间尺度上可以提供微米级分辨率, 在时间尺度上可以达到秒级, 因此自 20 世纪 90 年代成为新型的沉积物-水界面原位光学测量手段^[9-10]。

目前平面光学传感器采用荧光光强、荧光寿命和荧光相位三种参数的测量方法, 其中荧光寿命测量方法不易受外界干扰, 但实验装置复杂昂贵^[11]; 基于荧光光强测量方法易受实验环境(杂光、激励光源光通量不稳定等)的影响^[12]; 荧光相位测量虽然受外界影响较小, 但是需要锁相发声器等复杂的电子控制设施^[13]。如果可以利用不受溶解氧淬灭作用影响的其他荧光作为参照, 则可以通过比值(指示剂荧光/荧光素)来去除部分干扰的影响, 以期可以获得同基于荧光寿命测量方法相近的较好的试验效果。本研究以八乙基卟啉铂为荧光指示剂, 掺杂香豆素作为荧光素能量供体, 以聚苯乙烯为基质制作了光学平面传感膜。以发光二极管(LED)为激励光源, 结合彩色相机, 构建了基于比率法的二维溶解氧观测

收稿日期: 2013-05-02; 修回日期: 2014-04-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(41176089); 国家“973”计划(2013CB429704)

作者简介: 李栋(1987-), 男, 山东莱芜人, 硕士, 研究方向为海洋地质及原位观测方法, E-mail: wwwlidong@126.com; 于新生, 通信作者, 电话: 0532-66782913, E-mail: xsyu@ouc.edu.cn

系统, 实现了沉积物-海水界面溶解氧二维分布的高时空分辨率观测, 为研究生物扰动下的沉积物-水界面的微观环境下溶解氧的扩散及有机物早期成岩作用提供定量化的数据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

平面传感膜: 选用八乙基卟啉铂(PtOEP)为荧光指示剂, 采用惠普 C3875A 打印膜作为支撑膜(厚度为 100 μm, 具有较高的透明特性), 将 PtOEP、香豆素染料、聚苯乙烯, 按照重量百分比 1%/1%/4% 的比例溶解于三氯甲烷中形成均匀的液体^[14], 然后采用涂膜器(英国易高刀片式涂膜器)将制备的液体涂

布在支撑膜表面形成厚度约为 20 μm 的膜, 溶剂挥发后形成厚度<2 μm 的平面传感膜。所制备的传感膜光谱特性如图 1 所示, 主要包含光源反射光(F)、荧光素发射荧光(M)和荧光指示剂发射荧光(P)三个部分波长范围不同的现象。利用彩色 CCD 相机的贝叶斯分光原理, 可以从 RGB 图像中分别提取荧光指示剂发射荧光光谱(位于 600~700 nm, 反映为 R 值)和荧光素发射荧光光谱(一部分位于 500~600 nm, 反映为 G 值)信息, 从而省却了在镜头前安置不同滤光片的机构, 简化了实验装置。

实验沉积物与海水: 取自青岛市石老人海滩潮间带下缘的细粒沉积物 2 个 15 cm 高的柱状样, 同时在柱状样附近采集海水用于模拟实验中海底环境。

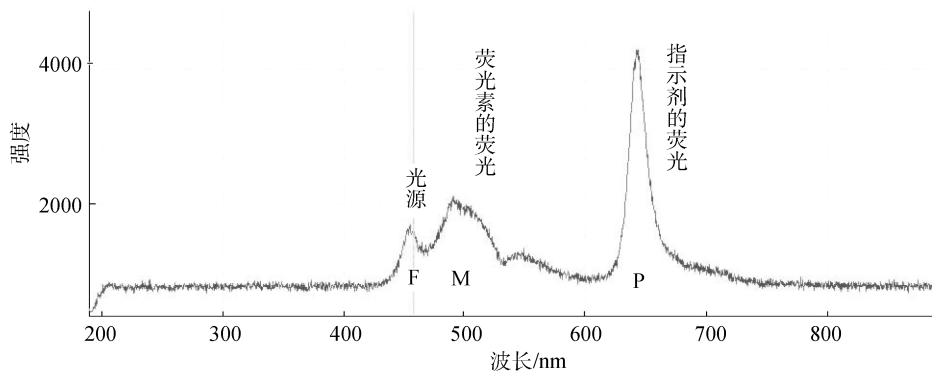


图 1 传感膜光谱分布图

Fig. 1 Spectral distribution of camera received light

实验用沙蚕: 在市场上购置活性较好、健康的青岛本地沿海沙蚕, 长度为 5~7 cm。

1.2 传感膜校准方法

平面光学氧传感器的溶解氧测量的原理是利用溶解氧对荧光染料的荧光淬灭效应, 荧光淬灭剂的含量与荧光衰减效果符合 Stern-Volmer (SV)方程^[15]:

$$\frac{I}{I_0} = \frac{\tau}{\tau_0} = \frac{1}{1 + K_{SV} [O_2]} \quad (1)$$

其中 I_0 、 τ_0 表示在无氧情况下($[O_2]=0$)的平均荧光光强或寿命, I 、 τ 表示在特定 $[O_2]$ 下的最大荧光光强或寿命, K_{SV} 为与特定淬灭剂种类相关的 Stern-Volmer 常数。当溶解氧含量上升时, 荧光的光强减弱, 寿命缩短。

利用手持式溶解氧测量仪(YSI-DO200 型)对实验水槽中的海水的溶解氧含量进行测量, 将其作为标准。校准实验采用向人工海水中按一定比例通入

纯氧配合添加无水亚硫酸钠粉末的方法, 使得溶解氧含量逐渐改变, 然后采集图像。为了尽量保持溶解氧分布的均匀, 观测水槽内的海水经过充分的搅拌, 并且稳定 10 s 后再进行观测记录, 获取不同溶解氧含量的测量记录, 然后根据测量点绘制 SV 方程曲线。

利用富士 1821 型相机和笔记本电脑作为采集和记录装置, 选择中心波长为 460 nm 的蓝色 LED 作为激励光源, 采用石英玻璃制作了 15 cm×15 cm×15 cm (长×宽×高)的观测实验水槽, 将所制备的平面传感膜用胶粘到石英观测窗口上, 实验平台如图 2(b)所示。

根据基于放射性同位素的初步研究, 海底沉积物中的生物扰动的平均深度为 9.8 cm±4.5 cm, 最深可达 30 cm^[16-17]。因此模拟实验以深度 10 cm 的沉积物作为观测范围。将采集的青岛市石老人海滩潮间带柱状样放入实验水槽中, 使得沉积物在箱体高度约为 10 cm, 然后倒入厚度约为 5 cm 取自同一地

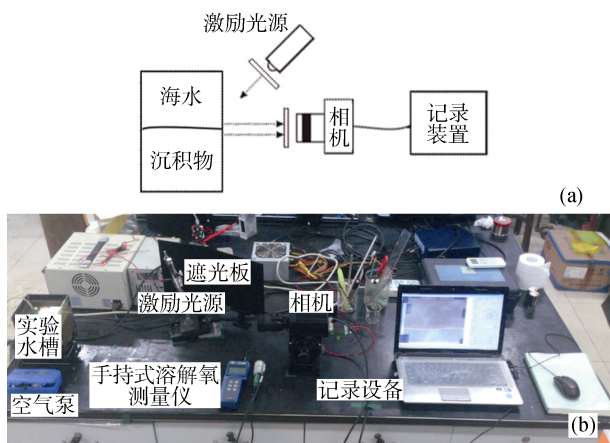


图 2 实验装置结构

Fig. 2 Structure of measuring system

(a) 基于滤光片的测量系统结构示意图; (b) 实验采用的基于荧光比色法的实验装置

(a) Schematic diagram of measuring system structure with optical filters; (b) Experimental system based on fluorescence ratiometric method

点的水槽。在距离传感膜约 1 cm 左右的位置平行地向沉积物中插入蓝色隔板(100 mm×40 mm), 水槽放置于上述校准实验中标识的位置, 并静置 24 h, 使物质交换达到初步平衡。在隔板与传感膜之间放入沙蚕, 并利用空气泵向海水中通入空气维持其生命活动, 对沉积物-水界面进行时序观测, 记录了沙蚕活动对沉积物结构的影响过程。

1.3 图像分析方法

利用 Matlab 工具开发了图像处理程序, 首先对采集的 3~5 帧记录图像进行平均, 然后进行 3×3 中值滤波, 以去除椒盐噪声及其他干扰, 然后利用每个像素的校准数值进行溶解氧含量的计算, 其结果以二维色彩显示。

2 结果和讨论

2.1 传感膜校准

理想情况由 SV 方程给出, 而实际制作的传感膜不可能达到荧光指示剂分子全部发生荧光淬灭效应, 设定其中未参与部分的比例为 A , 则参与部分为 $1 - A$, 那么可以得到以下方程:

$$\frac{I}{I_0} = \frac{1-A}{1+K_{SV}[O_2]} + A, \quad (0 < A < 1) \quad (2)$$

其中 I_0 表示在无氧情况下 ($[O_2] = 0$) 的平均荧光光强, I 表示在特定 $[O_2]$ 下的平均荧光光强(包含发生荧光淬灭效应的部分和未发生荧光淬灭效应的部

分)。涂膜方式制作的传感膜由于指示剂浓度相对较大, 涂层较厚, 导致 A 始终大于 0。

对于采用比率法进行的荧光光强测量, (2)式中所用的光强实为 $I = I_p/I_M$ 、 $I_0 = I_{p_0}/I_{M_0}$ 则公式(2)可以改写为:

$$\frac{I_p/I_M}{I_{p_0}/I_{M_0}} = \frac{1-A}{1+K_{SV}[O_2]} + A, \quad (0 < A < 1) \quad (3)$$

其中, I_{p_0}/I_{M_0} 表示在无氧条件下 ($[O_2] = 0$) 荧光指示剂与掺杂剂发射荧光平均光强之比, I_p/I_M 表示在特定氧气浓度下荧光指示剂与掺杂剂发射荧光的平均光强之比。

于实验室内在不同溶解氧含量下进行校准, 获得校准曲线如图 3 所示, 横坐标为溶解氧与溶剂的质量比, 纵坐标为像素光强比 I/I_0 , 其中, $A = 0.5056$ (标准偏差 0.0070), $K_{SV} = 0.3734$ (标准偏差 0.0197), 表示自制传感膜中平均 50.56% 的指示剂受到了荧光淬灭效应的影响。可以通过改善荧光指示剂的包埋方法和工艺来提高荧光涂层的网格结构和降低传感膜厚度, 进一步提高传感膜的性能, 使其更加疏松多孔且厚度更小, 从而使 A 值缩小。

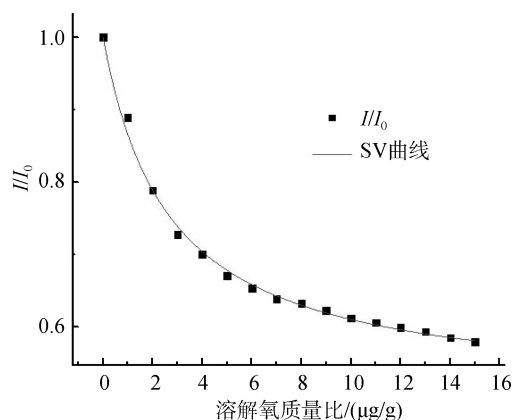


图 3 传感膜校准曲线(室温 11°C 下)

Fig. 3 Calibration curve under 11°C

2.2 实验结果

利用以上的校准结果, 在实验水槽中进行了生物扰动观测, 通过对沙蚕掘穴下的沉积物-海水界面的观测图像进行计算处理, 获得沙蚕掘穴过程的溶解氧二维分布变化, 如图 4 所示, 图像对应区域为 79.5 mm×85 mm, 单个像素点为 0.36 mm×0.36 mm。

观测结果表明, 沉积物普遍表现为贫氧, 溶解氧质量比接近于 0; 界面以上的海水中富含溶解氧, 质量

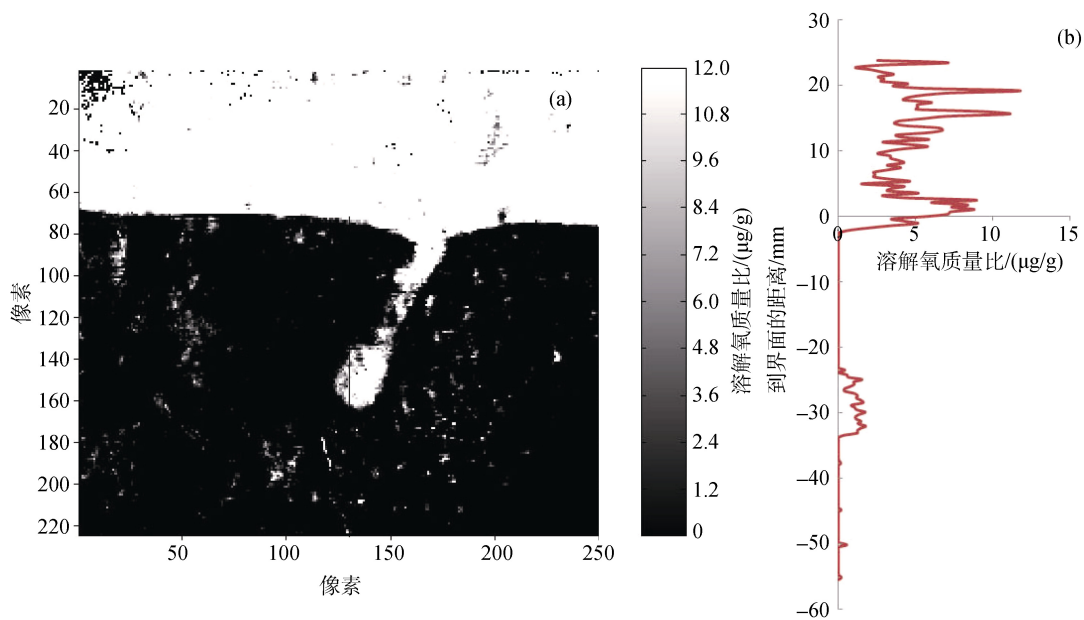


图4 生物扰动下沉积物-水界面溶解氧分布图

Fig. 4 Distribution of dissolved oxygen (DO) at sediment-water interface (SWI) with bioturbation

(a)为沉积物-海水界面二维剖面图; (b)为分布图中横坐标为131像素处(黑线位置)的溶解氧质量比垂直梯度变化

(a) 2-dimension cross-sectional view of DO at SWI; (b) vertical gradient of DO concentration at 131st column in (a), location as shown in black line

比在 5~6 μg/g, 在沉积物与海水界面存在较为清晰的界面。沙蚕掘穴区域引起上覆水灌溉到洞穴中, 使得洞穴中心溶解氧质量比从 0 上升至 4~5 μg/g; 在洞穴边缘形成一个海水扩散区, 其溶解氧含量变化为 2~3 μg/g。

共持续 638 s, 在像素点(139, 139)位置由于沙蚕扰动下引起溶解氧质量比由 3.7 μg/g 减小到 0.4 μg/g, 基本为线性变化, 如图 5(b)所示。一方面是由于沉积物中的微生物呼吸作用消耗水体中的氧, 另一方面是沉积的迁移, 逐渐将洞穴填补。而对比与界面以上的海水中溶解氧的含量变化甚微, 可以得知, 后者起到了主要作用。

从图 4(a)沙蚕掘穴到图 5(b)洞穴填埋的变化过程

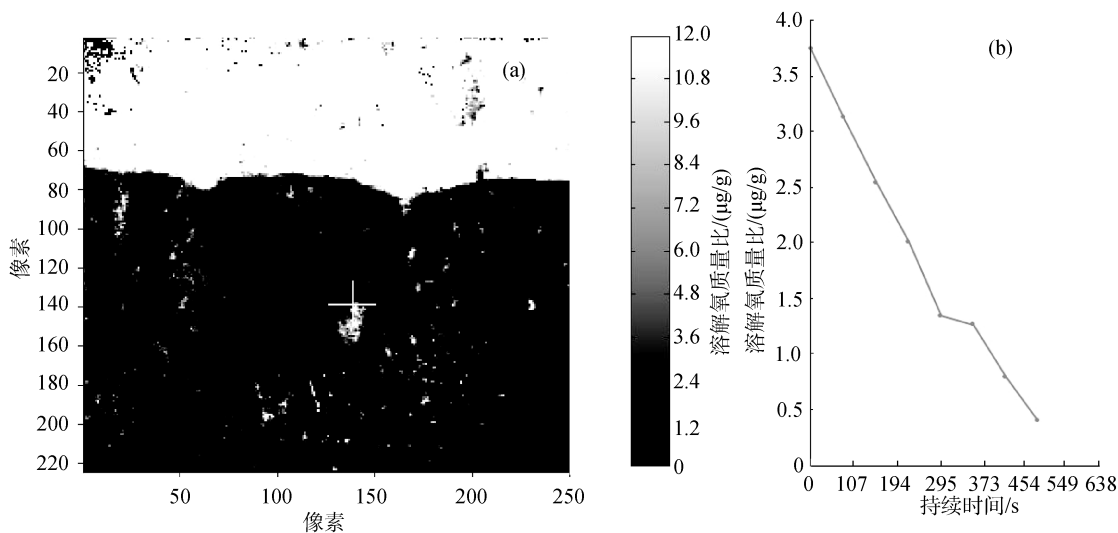


图5 生物扰动下沉积物-水界面溶解氧随时间的变化

Fig. 5 DO concentration changes with time

其中(a)为 10 min 后溶解氧分布图; (b)为像素点(139, 139)处(十字中心点)的溶解氧随时间变化记录

(a) DO distribution taken 10 minutes after bioturbation process; (b) Changes of DO concentration over time at the point (139, 139) in (a)

2.3 结合实际应用的讨论

该传感器在室内模拟环境下获得了良好的测量效果,但如果要运用到野外环境中去尚需要更多的工作。譬如:扩散边界层是沉积物-水界面扩散通量的瓶颈,其厚度一般小于1 mm^[18],本传感器可以通过进一步提高空间分辨率至0.1 mm为其提供二维分布数据支持。传感器应放置于底栖生物密度大、水流稳定、时间变化小等环境相对稳定且研究资料较为充足的区域,以便于进行补偿和误差分析。

采用嵌入式采集模块如 PC104 平台或者 ARM 平台,合适的硬件接口支持,通过严格控制时序,可以实现传感器的微型化和测量结果的及时显示,对于传感器的产品化是不可缺少的。

3 结语

本文介绍了一种基于聚苯乙烯网格膜的溶解氧传感系统,对生物扰动下沉积物-水界面溶解氧分布进行了在线实时观测研究,根据二维平面监测图像的荧光强度定量分析溶解氧在沉积物中的扩散通量变化。实验结果表明沙蚕挖掘产生一系列沉积颗粒的混合作用,增加沉积物与上覆水的交换从而产生沉积物中溶解氧的扩散通量增加,表现为在生物扰动区域溶解氧质量比升高 3~5 μg/g,对改变沉积物异质性有着重要影响。平面光学氧传感器具有较高的时空空间分辨率,对定量研究生物扰动过程引起的沉积物溶解氧通量变化及对沉积物异质性的作用具有实际应用意义。

参考文献:

- [1] 王永平,朱广伟,洪大林.沉水植物对沉积物-水界面环境特征的影响[J].环境科学研究,2012,25(10):133-139.
- [2] König B.Improvement of optical planar oxygen sensors and application in marine environments[D]. Germany: University of Bremen,2007.
- [3] Berner R A, Westrich J T. Bioturbation and the early diagenesis of carbon and sulfur[J]. American Journal of Science,1985,285(3):193-206.
- [4] 戴国华,刘新会.影响沉积物-水界面持久性有机污染物迁移行为的因素研究[J].环境化学,2011,30(1):224-230.
- [5] 王东启,陈振楼,许世远.长江口沉积物-水界面无机氮交换通量的模拟测定[J].海洋科学,2008,32(5):10-16.
- [6] Kristensen E, Blackburn T H. The fate of organic carbon and nitrogen in experimental marine sediment systems: influence of bioturbation and anoxia[J]. Journal of Marine Research,1987,45(1):231-257.
- [7] 梁秀丽,潘忠泉,王爱萍.碘量法测定水中溶解氧[J].化学分析计量,2008,17(2):54-56.
- [8] 彭晓彤,周怀阳.溶解氧传感器探测技术及应用中的若干问题[J].海洋科学,2003,27(8):30-33.
- [9] Bacon J R, Demas J N. Determination of oxygen concentrations by luminescence quenching of a polymer-immobilized transition-metal complex[J]. Analytical Chemistry,1987,59(23):2780-2785.
- [10] Glud R N, Ramsing N B, Gundersen J K, et al. Planar optodes: a new tool for fine scale measurements of two-dimensional O₂ distribution in benthic communities[J]. Marine Ecology-Progress Series,1996,140:217-226.
- [11] Oguri K, Kitazato H, Glud R N. Platinum octaethylporphyrin based planar optodes combined with an UV-LED excitation light source: An ideal tool for high-resolution O₂ imaging in O₂ depleted environments[J]. Marine Chemistry,2006,100(1):95-107.
- [12] 刘技峰.平面光学氧传感器研究[D].青岛:中国海洋大学,2009.
- [13] Chu Chenshane, Lo Y L. 2D full-field measurement of oxygen concentration based on the phase fluorometry technique that uses the four-frame integrating-bucket method[J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2010,147(1):310-315.
- [14] Larsen M, Borisov S M, Grunwald B, et al. A simple and inexpensive high resolution color ratiometric planar optode imaging approach: application to oxygen and pH sensing[J]. Limnol Oceanogr: Methods,2011,9:348-360.
- [15] Holst G, Grunwald B. Luminescence lifetime imaging with transparent oxygen optodes[J]. Sensors and Actuators B: Chemical,2001,74(1):78-90.
- [16] Boudreau B P. Mean mixed depth of sediments: The wherefore and the why[J]. Limnology and Oceanogr-

- aphy, 1998, 43(3): 524-526. 418-426.
- [17] Smith C R, Rabouille C. What controls the mixed-layer depth in deep-sea sediments? The importance of POC flux[J]. *Limnology and Oceanography*, 2002, 47(2): [18] 汪嘉宁, 赵亮, 魏皓. 潮滩动力过程影响下扩散边界层和沉积物-水界面扩散通量的变化[J]. *科学通报*, 2012, 57(8): 656-665.

Two-dimensional dissolved oxygen distribution at bioturbated sediment-water interface (SWI)

LI Dong, JIANG Zi-ke, YU Xin-sheng, HUANG Song

(College of Marine Geoscience, Ocean University of China, Key Laboratory of Marine Science and Detection Technology of Ministry of Education, Qingdao 266100, China)

Received: May, 2, 2013

Key words: sediment-water interface (SWI); planar optode; bioturbation mechanism; ratiometric method

Abstract: As the main interface of bio-geochemical circles, sediment-water interface (SWI) is one of the important research areas. The concentration and distribution of dissolved oxygen (DO) at SWI is of great significance to better understand the mechanism of bioturbation and biogeochemical circling. The sensor film utilizing Platinum(II)-octaethylporphyrin (PtOEP), Macrolex Yellow 10GN, and Polystyrene were used as fluorescence indicator, donor, and matrix respectively. Planar optode was successfully developed with blue-LED as excitation light, color camera as image captor, and a self-made sensor film, showing good performance in the study. With the planar optode described above, an elevation of $3 \times 10^{-6} \sim 4 \times 10^{-6}$ of dissolved oxygen concentration was observed at bioturbation areas, with a spatial resolution of 0.36 mm. Abnormal points are analyzed at last.

(本文编辑: 刘珊珊 李晓燕)