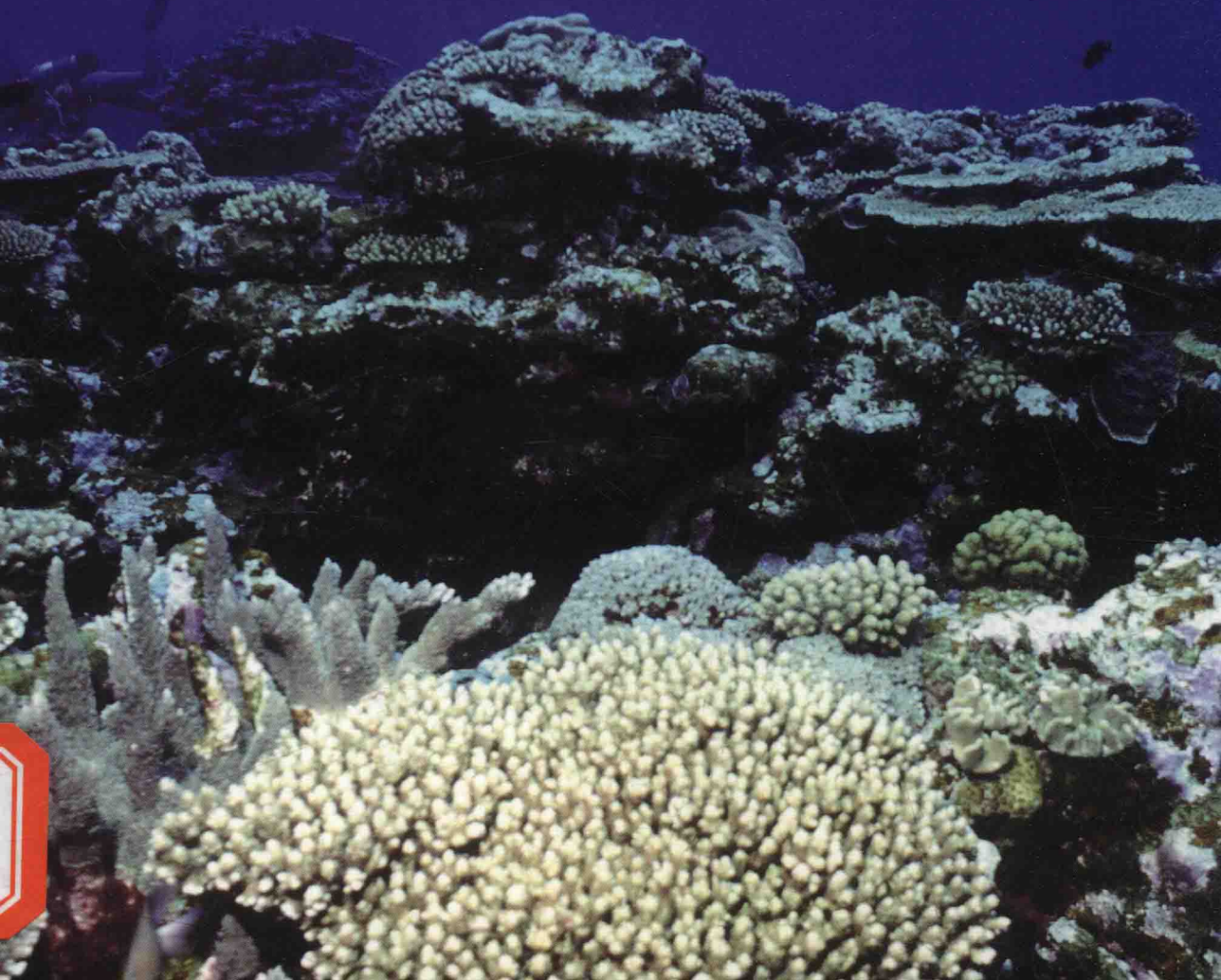


水域环境生理学研究方法

Research Methods in Aquatic Environmental Physiology

高坤山 主编



科学出版社

水域环境生理学研究方法

Research Methods in Aquatic Environmental Physiology

高坤山 主编



科学出版社

北京

内 容 简 介

水域环境生理学, 主要探讨水生生物对环境变化的生理学响应, 是解析生态系统过程变化及其演变机制的基础。本书主要介绍了水域初级生产者和次级生产者的环境生理学研究方法, 着重于环境变化与生理过程关系的研究, 并简述了相关的生化与分子生物学方法。

本书可供水域环境生理学、生态学相关领域的研究生、教师和科研人员阅读参考。

章节引用:

章节作者. 2018. 章节名称[M]//高坤山. 水域环境生理学研究方法. 北京: 科学出版社: 页码范围.

图书在版编目(CIP)数据

水域环境生理学研究方法 / 高坤山主编. —北京: 科学出版社, 2018.6
ISBN 978-7-03-057400-8

I. ①水… II. ①高… III. ①水环境-环境生理学-研究方法
IV. ①X143

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 096198 号

责任编辑: 王海光 / 责任校对: 郑金红

责任印制: 张 伟 / 封面设计: 刘新新

科 学 出 版 社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京虎彩文化传播有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 6 月第一次印刷 印张: 14 3/4

字数: 342 000

定价: 108.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《水域环境生理学研究方法》编著者名单

(按姓氏汉语拼音排序)

- 陈善文 汕头大学, swchen@stu.edu.cn
- 陈雄文 湖北师范大学, xwcheng@email.hbnu.edu.cn
- 成慧敏 华中师范大学, usccheng@gmail.com
- 戴国政 华中师范大学, daigz@mail.ccnu.edu.cn
- 董云伟 厦门大学, dongyw@xmu.edu.cn
- 冯媛媛 天津科技大学, yfeng@tust.edu.cn
- 付飞雪 美国南加利福尼亚大学, ffu@usc.edu
- 高 光 淮海工学院, biogaoguang@126.com
- 高坤山 厦门大学, ksgao@xmu.edu.cn
- 关万春 温州医科大学, gwc@wmu.edu.cn
- 韩国栋 厦门大学, hangd@xmu.edu.cn
- 韩志国 慧诺瑞德(北京)科技有限公司, david.han@phenotrait.com
- 胡晗华 中国科学院水生生物研究所, hanhuahu@ihb.ac.cn
- 黄开耀 中国科学院水生生物研究所, huangky@ihb.ac.cn
- 姜海波 华中师范大学, haibojiang@mail.ccnu.edu.cn
- 金 鹏 广州大学, photosynpengjin@aliyun.com
- 柯文婷 华中师范大学, kwt_2006@163.com
- 李 刚 中国科学院南海海洋研究所, ligang@scsio.ac.cn
- 李 伟 黄山学院, livilike@hsu.edu.cn
- 李晓旭 厦门大学, xxli@stu.xmu.edu.cn
- 李亚鹤 宁波大学, liyahe@nbu.edu.cn
- 林 昕 厦门大学, xinlinulm@xmu.edu.cn
- 刘翠敏 中国科学院遗传与发育生物学研究所, cmliu@genetics.ac.cn
- 柳 欣 厦门大学, liuxin1983@xmu.edu.cn

吕中贤 上海泽泉科技股份有限公司, john.lyu@zealquest.com
马增岭 温州大学, mazengling@wzu.edu.cn
米华玲 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, hlmi@sibs.ac.cn
邱保胜 华中师范大学, bsqiu@mail.ccnu.edu.cn
王小琴 华中师范大学, 38163783@qq.com
王晓杰 上海海洋大学, xj-wang@shou.edu.cn
吴红艳 鲁东大学, why-z-z@hotmail.com
吴亚平 河海大学, ypwu@hhu.edu.cn
夏建荣 广州大学, jrxia@gzhu.edu.cn
徐 魁 中山大学, xukui@mail.sysu.edu.cn
徐 敏 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, mxu@sibs.ac.cn
徐大鹏 厦门大学, dapengxu@xmu.edu.cn
徐军田 淮海工学院, xjtlx@126.com
徐智广 山东省海洋生物研究院, bigwide@163.com
许 凯 集美大学, kaixu@jmu.edu.cn
杨义文 华中师范大学, wenzi6337@163.com
尹衍超 华中师范大学, yinyanchao411@163.com
翟惟东 山东大学, wdzhai@sdu.edu.cn
张 锐 厦门大学, ruizhang@xmu.edu.cn
邹定辉 华南理工大学, dhzou@scut.edu.cn
David Hutchins 美国南加利福尼亚大学, dahutch@usc.edu
Douglas A. Campbell 加拿大蒙特爱立森大学, dcampbel@mta.ca

前 言

水域初级生产者与次级生产者主要生活在海洋、湖泊与河流中，在水生态系统中发挥着重要作用。初级与次级生产力，关系到生源要素循环、物质生产及能量传递，与生物地球化学过程密切相关，决定生态系统的稳定性与演替趋势。水生生物，不仅受自然环境变化的影响，还受人类活动的影响。例如，人类活动排放的 CO_2 ，在大气中不断积累的同时，还导致海水溶解 CO_2 浓度升高、pH 下降，引起海洋酸化。这种全球性的海水酸化问题与区域性的海水 pH 振荡叠加，影响种种海洋生物的代谢。因此，研究海洋及湖泊环境变化生理学问题，对认知水域物质生产过程与环境变化的关系或预测生态系统过程响应宏观与微观环境变化的机制非常重要。然而，迄今还没有水域环境生理学研究方法方面的专著。

为此，厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室海洋环境变化生理学组于 2016 年 6 月组织召开了“水域环境生理学研究方法”研讨会。参加会议的学者共 19 人，来自 3 个国家（中国、美国、澳大利亚）、12 所大学和科研院所（厦门大学、中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所、中国科学院水生生物研究所、汕头大学、宁波大学、河海大学、华中师范大学、集美大学、淮海工学院、黄山学院、澳大利亚莫纳什大学、美国南加利福尼亚大学），与会学者达成共识，撰写本书。经 47 位同仁的共同努力，本书按计划顺利完成撰写。全书分为 8 章，涵盖藻类、浮游动物、贝类的生理、生化、生态观测及分子生物学等相关实验方法，所有方法都有详尽描述，并提供了方法优缺点分析。

在本书的撰写过程中，各章节作者都尽了最大努力完善书稿，并相互校阅。但必须指出的是，由于参与者写作风格各异，难免存在不协调、不统一或不全面等问题。因此，如各位专家、同行、读者发现疏漏之处，敬请指出，以便再版时修正。

高坤山

2018 年 5 月 22 日

目 录

第一章 化学与物理环境参数测定	1
第一节 海洋化学环境特征及海水碳酸盐体系参数测定与分析	1
第二节 可见光与紫外辐射测定	11
参考文献	14
第二章 培养系统调控与方法	15
第一节 碳酸盐体系调控	15
第二节 微藻连续与半连续培养	22
第三节 桡足类浮游动物的培养方法	27
参考文献	33
第三章 关键酶的测定	35
第一节 碳酸酐酶	35
第二节 固碳关键酶 Rubisco	38
第三节 磷酸烯醇丙酮酸羧化酶	45
第四节 硝酸还原酶	48
第五节 抗氧化或活性氧自由基清除酶	50
参考文献	57
第四章 色素定量与分析	60
第一节 叶绿素	60
第二节 藻胆蛋白	66
第三节 类胡萝卜素	71
第四节 苯酚类物质	74
参考文献	76
第五章 叶绿素荧光技术与方法	80
第一节 调制叶绿素荧光等相关方法关键参数的解析	80
第二节 叶绿素荧光技术及其应用	93
第三节 电子传递过程与叶绿素荧光技术	100
第四节 碳转运能力与蓝绿荧光	110
第五节 原位浮游植物光化学参数测定	113
参考文献	117
第六章 光合与呼吸作用的测定与分析	124
第一节 光合放氧的测定	124

第二节	利用同位素 (^{14}C) 示踪法测定光合固碳	130
第三节	光呼吸及光下暗呼吸的测定	134
第四节	藻类无机碳浓缩与亲和力的测定与解析	137
第五节	海水流通式藻类固碳的测定	143
第六节	浮游植物光系统 II 光失活的测定	147
第七节	光系统损伤与修复的分析方法	151
第八节	光合固碳作用光谱	156
第九节	膜进样质谱仪在光合作用研究中的应用	160
	参考文献	163
第七章	相关生化与分子生物学方法	169
第一节	常用生化抑制剂	169
第二节	颗粒有机碳、氮和磷测定	170
第三节	细胞器分离	173
第四节	钙化与硅化定量分析	176
第五节	转录组学、宏基因组学和宏转录组学在藻类研究中的应用	180
第六节	氮固定测定方法	183
第七节	海水痕量金属洁净培养技术	188
	参考文献	196
第八章	动物与病毒的相关研究方法	202
第一节	鱼类神经电生理记录方法	202
第二节	贝类心率测定方法	206
第三节	植食性浮游动物摄食率测定方法	210
第四节	病毒与浮游植物关系的研究方法	216
	参考文献	220

CONTENTS

Chapter 1	Measurements of chemical and physical environmental parameters	1
Section 1	Characteristics of marine chemical environment and measurements of seawater carbonate chemistry parameters	1
Section 2	Measurements of photosynthetically active radiation and ultraviolet radiation	11
References		14
Chapter 2	Plankton culture techniques	15
Section 1	Controlling stability of seawater carbonate chemistry	15
Section 2	Continuous and semi-continuous cultures of microalgae	22
Section 3	Culturing techniques of planktonic copepod	27
References		33
Chapter 3	Determination of key enzymes	35
Section 1	Carbonic anhydrase	35
Section 2	Rubisco	38
Section 3	Phosphoenolpyruvate carboxylase	45
Section 4	Nitrate reductase	48
Section 5	Antioxidants or reactive oxygen species (ROS) scavenging enzymes	50
References		57
Chapter 4	Analyses of pigments	60
Section 1	Chlorophyll	60
Section 2	Phycobiliprotein	66
Section 3	Carotenoids	71
Section 4	Phenolic compounds	74
References		76
Chapter 5	Chlorophyll fluorescence techniques and applications	80
Section 1	Basic concepts and key parameters of chlorophyll fluorescence	80
Section 2	The applications of chlorophyll fluorescence	93
Section 3	Photosynthetic electron transport and chlorophyll fluorescence techniques	100
Section 4	Inorganic carbon transport and blue-green fluorescences	110
Section 5	<i>In situ</i> measurements of phytoplankton photochemical parameters	113
References		117

Chapter 6	Measurements and analyses of photosynthesis and respiration	124
Section 1	Photosynthetic oxygen evolution	124
Section 2	Photosynthetic carbon fixation	130
Section 3	Photorespiration and mitochondrial respiration	134
Section 4	Determination of CO ₂ concentrating mechanisms and C _{in} affinity of algae	137
Section 5	Measurements of O ₂ evolution or consumption in flow-through seawater	143
Section 6	Measurement of photoinactivation of photosystem II	147
Section 7	Determination of damage and repair rates of photosynthetic apparatus	151
Section 8	Action spectra of photosynthetic carbon fixation	156
Section 9	Application of membrane-inlet mass-spectrometer to photosynthesis research	160
	References	163
Chapter 7	Physiology-related biochemical and molecular methods	169
Section 1	Biochemical inhibitors	169
Section 2	Measurements of particulate organic carbon, nitrogen and phosphorus	170
Section 3	Isolation of organelles	173
Section 4	Measurements of calcification and silicification	176
Section 5	The application of transcriptome, metagenome and metatranscriptome in algal research	180
Section 6	Methods for nitrogen fixation measurements	183
Section 7	Trace metal clean techniques for algal culturing	188
	References	196
Chapter 8	Research methods for animal and virus	202
Section 1	Electrophysiological recording in fish	202
Section 2	Heart beat measurement in molluscs	206
Section 3	Measuring the grazing rate of herbivorous zooplankton	210
Section 4	Research methods of phytoplankton-virus interaction	216
	References	220

第一章 化学与物理环境参数测定

第一节 海洋化学环境特征及海水碳酸盐体系参数测定与分析

摘要 海洋化学环境的变化影响生物，也受生物活动的影响，在很大程度上决定着生态系统的演变过程与产出。本节简要介绍海水的化学成分、常量元素恒比定律及营养盐的分布与调控，着重介绍海水碳酸盐体系各参量(包括溶解无机碳、总碱度、pH、CO₂分压和碳酸钙饱和度)的定义、分析测定及其生物地球化学调控。

天然海水是多相、多介质、具有缓冲作用的、包含生物的动态平衡体系，离子强度约为0.7 mol/L。海水组成中绝大部分都是水，其他大多属于盐分(图 1-1)。海水盐分与地球的起源、海洋的形成及演变过程有关，一般认为盐分主要来源于地壳岩石风化产物及火山喷出物，还来源于海底热液喷出物。因此，地球上的所有元素在海洋环境中均应存在，只是由于含量差异或技术手段限制，有些元素在海水中尚未被检测出来。

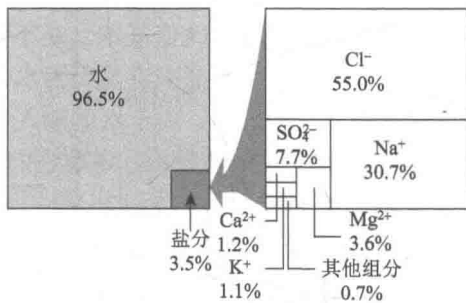


图 1-1 盐度为 35 的开阔大洋的海水化学组成

海水盐分中的不同元素，由于其输入海洋的通量及地球化学行为存在差异，它们在海水中的含量存在差异，含量高的与含量低的元素其浓度可相差 10⁹ 倍或更多(表 1-1)。

表 1-1 海水及其中颗粒物化学成分的量级

类别	示例	浓度量级
常量元素	Cl ⁻ 、Na ⁺ 、Mg ²⁺ 、SO ₄ ²⁻ 、Ca ²⁺ 、K ⁺ 、HCO ₃ ⁻ 、CO ₃ ²⁻ 、Br ⁻ 、Sr ²⁺ 、F ⁻ 、H ₃ BO ₃	mmol/L
溶解气体	N ₂ 、O ₂ 、Ar、CO ₂ 、N ₂ O、(CH ₃) ₂ S、CH ₄	nmol/L~mmol/L
营养盐	NO ₃ ⁻ 、NO ₂ ⁻ 、NH ₄ ⁺ 、HPO ₄ ²⁻ 、Si(OH) ₄	nmol/L~μmol/L
痕量金属	Li、Ni、Fe、Mn、Zn、Pb、Cu、Co、U、Hg	pmol/L~μmol/L
溶解有机物	氨基酸、腐殖酸	ng/L~mg/L

续表

类别	示例	浓度量级
胶体	多糖、蛋白质	≤mg/L
颗粒物	沙、黏土、海洋微生物	μg/L~mg/L

海水中的各种物质可按颗粒大小区分为几类：①粒径不到 1 nm 的真溶解物质，包括海水中的各种无机盐、无机分子和小分子有机物，也包括惰性气体(Ar、Xe、He 等)、准保守性气体(N₂)、生物活性气体[O₂、CO₂、N₂O、CH₄、(CH₃)₂S、H₂S、H₂]等溶解气体成分；②颗粒物，粒径通常超过 0.7 μm，包括海洋微生物及生源碎屑形成的颗粒有机物和各种矿物所构成的颗粒无机物；③胶体物质，粒径为 1 nm~0.7 μm，包括由多糖、蛋白质等构成的胶体有机物和 Fe、Al 等形成的无机胶体。对于海水中的各种离子和分子，常根据其含量区分为常量元素和微量或痕量元素(表 1-1)。常量元素在海水中的浓度一般超过 50 μmol/L，包括 Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、K⁺、Sr²⁺ 5 种阳离子和 Cl⁻、SO₄²⁻、HCO₃⁻(含 CO₃²⁻)、Br⁻、F⁻ 5 种阴离子，以及 H₃BO₃ 分子，它们占海水盐分的 99%以上。微量或痕量元素在海水中的浓度一般低于 50 μmol/L，包括 Li、Ni、Mn、Zn、Pb、Cu、U、Hg 等金属元素，有些痕量金属元素如 Fe、Co、Cd 等，在开阔大洋表层海水中的浓度可低至 pmol/L 量级。此外，与海洋浮游植物生长密切相关的一系列元素，如 N、P、Si、Mn、Fe、Cu、Zn、Mo 等，都被称为营养盐，并按照它们的含量高低分为主要营养盐(N、P、Si)和微量营养盐(Mn、Fe、Cu、Zn、Mo 等)。

大量调查分析表明，海水中常量元素的含量比值基本上是不变的，这称为海水常量元素恒比定律。该规律之所以存在，从全球或洋盆尺度来讲是因为水体在海洋中的迁移速率快于海水中地球化学过程输入或迁出这些元素的速率。由于水的输入或迁出并不改变海水中盐分的总量，因此常量元素浓度的变化与盐度的变化同步，导致它们之间的比值基本保持恒定。这一规律说明，海水中的常量元素对海域的生物过程和一般的地球化学过程不敏感，基本上只受控于海水的物理混合过程，也就是说，这些元素具有比较保守的性质。需要指出的是，尽管常量元素恒比定律说明海水中的这些组分比较保守，但这并不意味着常量组分在海水中不会经历任何化学变化。在很多局部海域发生的实际情况常常是，常量元素的浓度足够高，以至于生物过程或其他一些地球化学过程的影响均被掩蔽。例如，钙化生物在生长过程中会利用海水中的 Ca²⁺、Sr²⁺等离子，海冰冻融也会对 Na⁺和 SO₄²⁻造成影响。而在河口区域、海底热液喷口附近海域，以及受沉积物间隙水影响的水体，其常量元素含量比值则往往并不恒定。

海水中主要营养盐的浓度变化幅度很大。从垂直分布来看，表层海水真光层受到阳光的作用，在温暖季节有浮游植物生长和繁殖，导致表层海水营养盐消耗殆尽，那些沉降到真光层以下的生物残骸和排泄物，会在中层或深层水中被细菌分解，从而再生出营养盐，进而通过上升流或冷季的对流混合回到表层海水真光层之中，被上层浮游植物循环利用。就营养盐的水平分布而言，由于深海环流与沉降颗粒物矿化过程的相叠加，从大西洋深处向太平洋深处发生营养盐富集的现象。近岸海区受到河流冲淡水 and 大气沉降的影响，表层海水的营养盐

含量往往高于邻近的开阔大洋海域。另外，有些近岸富营养化海区的氮磷比在过去几十年中升高了数十倍。

在海水化学中，pH 和碳酸盐体系都是非常重要的，这是因为 pH 决定着海水中很多物质的化学反应、平衡状态及生物毒性。在天然海水的正常 pH 变化范围内，碳酸盐体系的一系列化学平衡(图 1-2)贡献了海水化学缓冲容量的 95%。开阔大洋的 pH 主要受控于海水碳酸盐体系。由于海水中溶解无机碳(DIC)的短期变化主要由海洋中光合和呼吸作用所引起，因此研究海水碳酸盐体系变化可以获取有关生物活动的信息，特别是有关海洋中碳酸钙沉淀与溶解的研究高度依赖于对海水碳酸盐体系的了解。此外，海水碳酸盐体系也是调节大气 CO_2 浓度的重要因素。事实上，海洋无机碳储库比大气 CO_2 储库大得多，仅海洋冬季混合层以浅的无机碳储库就与大气 CO_2 储库相当，因此，影响海洋无机碳储库的各种过程发生任何微小变化，都可能对大气 CO_2 浓度造成深远影响。可见，海水碳酸盐体系是与全球变化相关的海洋碳循环研究的重要部分。

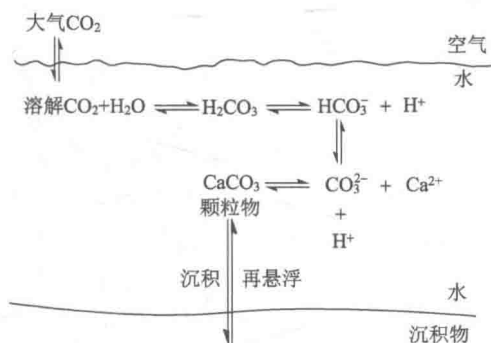


图 1-2 海水碳酸盐体系相关的化学平衡

海水碳酸盐体系研究中涉及 4 个实际可测定的参量：DIC、总碱度(TA)、pH 和 CO_2 分压($p\text{CO}_2$)，其中前两个都具有浓度的量纲，单位是 $\mu\text{mol/kg}$ ，pH 没有单位，而 $p\text{CO}_2$ 具有压强的量纲，其单位是 Pa 或者 μatm ^①。当讨论钙化生物对海水酸化的响应问题时，海水的碳酸钙饱和度也十分重要，但这个参量还不能直接观测，只能通过碳酸盐体系互算来得到。这些参量的定义、分析测定及其生物地球化学调控分别简介如下。

一、海水的溶解无机碳

海水的溶解无机碳指的是海水中各种溶解形态的无机碳含量的总和，也称为总二氧化碳(T_{CO_2})，有的文献以 ΣCO_2 或 C_T 来表示。主要包括分子形态的溶解气体 $\text{CO}_{2(\text{aq})}$ 、 $\text{CO}_2(\text{水})$ 和产物 H_2CO_3 ，以及两种阴离子 HCO_3^- 和 CO_3^{2-} ，其中两种中性分子 $\text{CO}_{2(\text{aq})}$ 和 H_2CO_3 又经常统称为游离二氧化碳 CO_2^* ，因此，

$$\text{DIC} = [\text{CO}_2^*] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_3^{2-}] \quad (1-1)$$

① $1 \mu\text{atm} \approx 0.101 \text{ Pa}$

在通常海水的 pH 范围内, DIC 绝大部分都以 HCO_3^- 形式存在, 并且 CO_3^{2-} 的浓度比 CO_2^* 高很多(图 1-3)。例如, 开阔大洋的表层海水中 HCO_3^- 和 CO_3^{2-} 分别占 DIC 的 88.5% 和 11%, 而 CO_2^* 仅占 DIC 的 0.5% 左右。

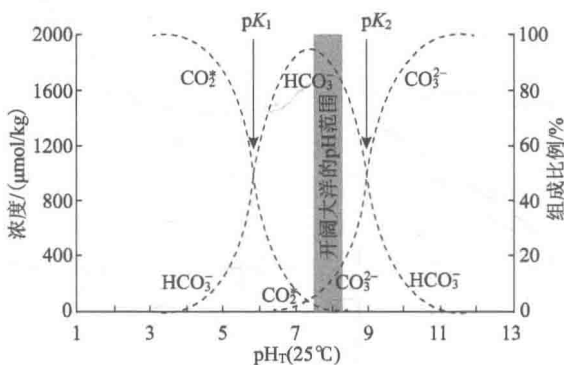


图 1-3 海水碳酸盐体系各组分随 pH 的变化

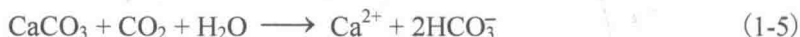
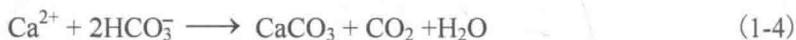
盐度 35, DIC 为 2000 $\mu\text{mol/kg}$, pK_1 和 pK_2 分别为碳酸一级、二级离解常数的负对数

海水中 DIC 的测定, 通常是将水样用磷酸酸化, 随后在 N_2 的吹扫下将 CO_2 收集于气体捕集器中, 再用气相色谱仪、非分散红外光度计或库仑电量计检测、定量。目前海水 DIC 常规分析测定的数据质量已经可以保证, 在质控良好的实验室, 最高精密度的可达 1 $\mu\text{mol/kg}$, 准确度可达 2 $\mu\text{mol/kg}$ 。

作为海水常量元素之一, DIC 一方面会受到降雨、蒸发、海冰冻融、水团混合等各种物理过程的影响, 从而与盐度和生物生产力表现出一定程度的相关性; 另一方面海水 DIC 含量的高低, 也受控于光合作用、有机物再矿化, 以及 CaCO_3 的沉淀与溶解等生物过程。进行光合作用的海洋光合生物, 利用太阳能, 将无机碳同化为有机碳, 同时放出氧气; 而有机物的再矿化, 则是与光合作用相反的异化作用, 消耗水中溶解氧, 同时释放 CO_2 。式(1-2)的正过程以经典的 Redfield 比表示出海水中光合作用的近似化学计量关系, 其逆过程则显示生源有机物在溶解氧充足的海水环境中再矿化的大致化学计量关系:



除此以外, 海洋中钙化生物在其生长过程中必须利用海水中的 HCO_3^- 或 CO_3^{2-} , 以合成 CaCO_3 壳体或骨骼, 由此导致海水中 DIC 含量下降; 而当这些 CaCO_3 壳体或骨骼溶解的时候, 又会导致海水中 DIC 含量的增加:



开阔大洋的表层海水 DIC 含量通常为 1840~2220 $\mu\text{mol/kg}$, 平均为 2000 $\mu\text{mol/kg}$ 左右, 高纬度海区比较高而赤道附近比较低。深层海水由于物理混合、生源有机物再矿化、 CaCO_3 溶解等自然过程的综合作用, 其 DIC 含量可高达 2200~2400 $\mu\text{mol/kg}$ 。近 50 年来, 随着人

为来源的 CO_2 通过海-气交换输送入海, 全球平均表层海水 DIC 含量正以每年 $1 \mu\text{mol/kg}$ 左右的速率升高。

二、海水的总碱度

海水的总碱度指的是海水中质子受体超过质子供体的量, 即

$$\text{TA} = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B}(\text{OH})_4^-] + [\text{OH}^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + 2[\text{PO}_4^{3-}] + [\text{SiO}(\text{OH})_3^-] + [\text{NH}_3] + [\text{HS}^-] - [\text{H}^+] - [\text{HSO}_4^-] - [\text{HF}] - [\text{H}_3\text{PO}_4] \quad (1-6)$$

有的文献以 A_T 来表示总碱度。在天然海水当前正常的 pH 范围内, 通常 TA 的 99.5% 都由 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 、 $\text{B}(\text{OH})_4^-$ 和 OH^- 贡献, 因此, 对于绝大多数海洋水体, 实际的 TA 可以近似表述为碳酸碱度 ($[\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}]$)、硼酸碱度 ($[\text{B}(\text{OH})_4^-]$) 和水碱度 ($[\text{OH}^-] - [\text{H}^+]$) 三者之和。但对于河口、污染水域或缺氧的水体, 常常还需考虑硫化物、氨和磷酸盐对总碱度的贡献。

在实际操作层面, 以标定过的稀盐酸精确滴定海水水样, 将水样中的 HCO_3^- 向 CO_2^* 转化过程中发生突跃时设为滴定终点, 据此利用酸碱滴定的原理计算水样的 TA。由于海-气界面上的 CO_2 交换, 以及海洋生物对 CO_2 的吸收和释放都不会影响 TA 的数值, 海水 TA 在一定程度上具有准保守性质。在开阔大洋, 表层海水 TA 为 $2110 \sim 2450 \mu\text{mol/kg}$, 其数值经常可以通过盐度和水温估计出来, 误差只有 0.5% 左右, 表明其分布主要受控于各种物理混合过程。在南海和受黑潮影响的东海外大陆架海域, 校正到盐度 35 时 TA 几乎恒定, 为 $(2300 \pm 10) \mu\text{mol/kg}$ 。

海水 TA 的准保守性质可以从地球化学的角度来分析。实际上海水中保守性阳离子与保守性阴离子的电荷总量是存在差别的, 该差别正好由式 (1-6) 所定义的 TA 来补偿。因此, 海水 TA 的准保守性质并不依赖于分析操作, 根本原因是海水中保守性离子的浓度及保守性阴、阳离子的电荷差别不会因海-气 CO_2 交换, 以及海洋生物对 CO_2 的吸收和释放而发生改变。

尽管海水 TA 经常是准保守的, 但仍然有一些环境因子和生物地球化学过程会对海水 TA 产生影响 (图 1-4)。首先, 海水 TA 与盐度密切相关, 所有影响盐度的过程, 如降雨、蒸发、河流冲淡水、海冰冻融等, 都会引起海水 TA 的变化。其次, CaCO_3 的形成与溶解会导致海水中 Ca^{2+} 浓度改变, 由此带来保守性阳离子与保守性阴离子之间电荷数发生变化, 进而引起海水 TA 的改变。在海洋钙化生物合成 CaCO_3 壳体或骨骼的海域, 海水 TA 可能显著偏低, 然而当这些生物死亡之后沉降到深海, CaCO_3 壳体或骨骼会发生溶解, 造成深层海水 TA 在同等盐度条件下显著高于表层海水。按照式 (1-3) ~ 式 (1-5), 每当 1 mol CaCO_3 沉淀出来, 将使海水 DIC 下降 1 mol , TA 降低 2 mol ; 反之, 1 mol 的 CaCO_3 溶解将使海水 DIC 增加 1 mol , TA 升高 2 mol 。需要指出的是, 这些变化与海洋生物利用何种碳源 (HCO_3^- 或者 CO_3^{2-} 或者 CO_2) 进行钙化没有关系。此外, 海洋生物对各种氮源的吸收利用, 以及与生源有机物再矿化释放溶解无机氮过程相关的硝化作用等, 也对海水 TA 有一定影响。

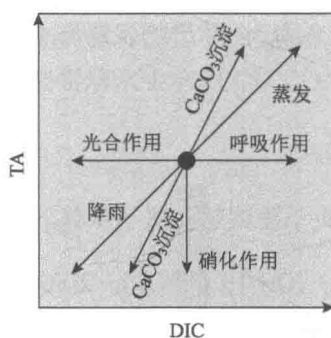


图 1-4 海洋中一些生物地球化学过程对海水 DIC 和总碱度的耦合影响

按照式(1-6), 氨氮、磷酸盐、硅酸盐等形态的营养盐也是影响总碱度的因素, 但本图忽略这些因素的影响

三、海水的 pH

pH 是水溶液最重要的理化参数之一。凡涉及水溶液的自然现象和化学变化都与 pH 有关。水溶液 pH 的原始定义是 H^+ 离子活度的负对数, 对于极稀的溶液, H^+ 活度约等于 H^+ 浓度, 即 $[H^+] \approx 10^{-pH}$ 。这个关系表明, 每当 pH 下降 0.3, 就意味着水环境中的 H^+ 浓度升高一倍。

pH 测量通常有比色法(pH 试纸或比色皿)、玻璃电极法和分光光度法, 所有这些 pH 测量方法都是相对测量。由于实际应用的 pH 都是根据所采用的操作来定义的, 因此, 为了达到数据具有可比性的目的, 必须建立 pH 标度。pH 标度的含义可表达为: 根据 pH 的定义, 在 pH0~14 内选择若干个 pH 标准缓冲溶液作为 pH 标度的固定点, 并且采用能达到的最准确的方法确定它们的 pH。报告 pH 测定结果时, 都必须注明采用的是哪种标度。

对于常用的 pH 精密测定方法——玻璃电极法而言, 其实际测量的是玻璃电极与参比电极之间的电位差。测定前需要先测定一系列 pH 标准缓冲溶液, 对所用仪器进行校准。其中最常见 pH 标准缓冲液是美国国家标准与技术研究院提供的系列标准缓冲液(NBS 标度)。这种 pH 标准缓冲液使用方便, 也很便宜, 但是其离子强度很低, 与海水 pH 测定所处的高离子强度环境不相匹配。

离子强度并不直接影响水体 pH, 但会影响参比电极与待测溶液(无论是标准缓冲溶液还是海水样品)之间的液体接界电位。因此, 按照 NBS 标度测定海水样品得到的 pH 当中包含了离子强度变化导致的液接电位差。该液接电位差重现性不好, 并且无法定量计算, 因此采用 NBS 标度的 pH 测量稳定性不好, 实际精度甚至达不到 ± 0.01 水平, 很难用于细致的定量计算。

此外, 天然海水由于其中的 HSO_4^- 和 HF 分子均不能完全解离, 综合表征其酸碱性需要采用总 H^+ 标度的 pH(pH_T) 或海水 H^+ 标度的 pH(pH_{sw}):

$$pH_T = -\log_{10} \{ [H^+] + [HSO_4^-] \} \quad (1-7)$$

$$pH_{sw} = -\log_{10} \{ [H^+] + [HSO_4^-] + [HF] \} \quad (1-8)$$

在 25℃ 下, 盐度 35 的海水中所含有的 HSO_4^- 引起 pH 下降约 0.11 单位, 而其所含的 HF 分子又进一步引起 pH 下降约 0.01 单位。因此, 海水 pH 的标度问题必须引起重视, 务必要在

实验过程中详细记录并在发表时据实报告,避免在数据比较与交换过程中发生混乱。目前海洋化学家测量海水 pH 时经常采用的标准缓冲溶液是 Tris 缓冲溶液和 2-氨基吡啶缓冲溶液,它们在 25℃ 时的 pH_T 分别为 6.7866 和 8.0936。其组成包含适当盐度的人工海水,以使海水水样与标准缓冲溶液的离子强度基本相同,从而尽量减小液接电位的影响。具体组成可参阅相关的手册。

海水 pH_T 常为 7.5~8.5,呈弱碱性。其中开阔大洋表层的 pH_T 常稳定在 8.0~8.2,而深层海水的 pH_T 可低至 7.5 左右,近海藻华期间的表层海水 pH_T 则可高达 8.5 甚至 9.0。这些分布特征和变化既与海水缓冲体系有关,也受控于海水中的各种生物及其代谢活动。在近岸养殖区, pH 的变化幅度很大,有时日变化就可超过 1.0。

四、海水 CO_2 分压

海水 CO_2 分压 ($p\text{CO}_2$) 指的是海水中的 CO_2^* 在所处的状态下发生分子逃逸的趋势,也就是 CO_2^* 在气-液两相间迁移的推动力或逸散能力。在实际测定过程中,往往采取强制措施使海水与一个封闭的气体空间快速达到平衡,此时气相中 CO_2 的分压就是与之平衡的海水的 $p\text{CO}_2$ 。该参数在分析海洋对大气 CO_2 的源汇作用时特别有用,因为海-气界面 CO_2 气体交换的直接驱动力正是表层海水与上覆大气之间的 CO_2 分压差。从化学成分来讲,海水 $p\text{CO}_2$ 表征的是海水中 CO_2^* 的浓度,二者通过亨利定律关联起来:

$$p\text{CO}_2 = [\text{CO}_2^*]/K_H \quad (1-9)$$

式中, K_H 代表 CO_2 在海水中的亨利系数,单位 $\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{Pa})$ 或者 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\mu\text{atm})$,是温度、盐度和水压的函数。考虑到 CO_2 的行为与理想气体有一定差别,有时也会用到与 $p\text{CO}_2$ 具相同量纲、相同单位的 CO_2 逸度 ($f\text{CO}_2$)。在表层海水或浅海的温度、压力条件下, $p\text{CO}_2$ 比 $f\text{CO}_2$ 略高 0.3% 左右,二者之间的差值并不显著。

表层海水 $p\text{CO}_2$ 可采用配有水气平衡器的连续流动式系统来测定,精密度与可靠性都能令人满意。而对于表层以下及深海的 $p\text{CO}_2$,则通常需要通过碳酸盐体系互算得出。表层海水 $p\text{CO}_2$ 的空间分布比较复杂,实测数据既可低至近岸藻华暴发区域的 4 Pa,也可高达东赤道太平洋受秘鲁上升流影响区域的 80 Pa,甚至在某些河口上游区域可测到达 800 Pa 这样的水体 $p\text{CO}_2$,后者已超过大气平衡水平的 20 倍。一般而言,极低的海水 $p\text{CO}_2$ 指示出浮游植物的光合作用强烈,而河口上游区域的极高 $p\text{CO}_2$ 则说明当地的呼吸作用很强,或者有显著的地下水输入;深层海水由于生源有机物矿化的影响,往往具有 80~160 Pa 的较高 $p\text{CO}_2$,这种富含 CO_2 的深层海水如能涌升到表层,就会导致局部海域向大气释放 CO_2 。式(1-3)和式(1-4)表明,形成 CaCO_3 的化学反应要么大量消耗 CO_3^{2-} ,要么大量放出游离 CO_2 ,都导致海水 pH 下降和 $p\text{CO}_2$ 升高,因此, CaCO_3 形成也是一个向大气释放 CO_2 的过程。此外,海水 $p\text{CO}_2$ 的温度效应也非常显著,升温过程会导致海水 $p\text{CO}_2$ 显著升高,而降温过程则会使海水 $p\text{CO}_2$ 显著降低,因此,有时候单纯的季节转换就会导致单一水团对大气 CO_2 的源汇作用发生改变,换句话说,局部海域特定时间对大气 CO_2 的源汇作用并不简单对应于当地生态系统的代谢状况。