https://doi.org/10.3799/dqkx.2026.174

孔隙尺度微生物膜演化及其对溶解氧分布的影响

肖智平[1,2],潘明潇[1,2],鲜 阳[1,2*],朱 棋[1,2],文 章[1,2]

1. 中国地质大学(武汉)环境学院,湖北武汉 430078
2. 中国地质大学(武汉)长江流域环境水科学湖北省重点实验室,湖北武汉 430078

摘 要: 缺氧微区是多孔介质中重要的氧化还原反应热点区域,但对于其形成与演化机制并不完全清楚. 基于自主构建的孔隙网络尺度微流控实验平台,结合微生物膜与溶解氧(dissolved oxygen ,DO)原位可视化监测技术,系统研究了营养供给浓度与水动力条件对微生物膜生长及DO时空分布演化的影响机制,并在孔隙尺度下直接观测与解析了缺氧微区的形成与演化过程. 微生物膜生长与营养供给浓度并非正相关. 仅12.5 mg/L葡萄糖供给浓度搭配0.125水力梯度能使DO空间分布始终呈现"全局富氧—局部缺氧"的格局,从而维持持续性缺氧微区,其余场景仅能形成短暂性缺氧微区. 营养供给浓度与水动力条件的协同作用,通过调控DO供给与消耗的动态平衡,主导了持续性缺氧微区的形成与演化.

关键词: 微生物膜;缺氧微区;孔隙尺度;微流控;溶解氧;氧化还原环境;环境地质.

中图分类号: P641.3 **文章编号:** 1000-2383(2026)06-2161-12 **收稿日期:** 2025-03-05

Pore-Scale Biofilm Evolution and Its Control on Dissolved Oxygen Distribution

Xiao Zhiping[1,2], Pan Mingxiao[1,2], Xian Yang[1,2*], Zhu Qi[1,2], Wen Zhang[1,2]

1. *School of Environmental Studies*, *China University of Geosciences* (*Wuhan*), *Wuhan* 430078, *China*
2. *Hubei Key Laboratory of Yangtze Catchment Environmental Aquatic Science*, *China University of Geosciences* (*Wuhan*), *Wuhan* 430078, *China*

Abstract: Anoxic microzone is an important redox reaction hotspot in porous media, however, the mechanism of its formation and evolution is not completely clear. Based on the self-built pore network-scale microfluidic experimental platform, combined with the in-situ visualization monitoring technology of biofilm and dissolved oxygen (DO), the effects of nutrient supply concentration and hydrodynamic conditions on the growth of microbial biofilm and the temporal and spatial distribution evolution of DO were systematically studied. The formation and evolution of anoxic microzones were directly observed and analyzed at the pore scale. Microbial membrane growth was not positively correlated with nutrient supply concentration. Only 12.5 mg/L glucose supply concentration combined with 0.125 hydraulic gradient can make the spatial distribution of DO always show the pattern of ′global oxic-local anoxic', so as to maintain the persistent anoxic microzone, and the other scenarios can only form temporary anoxic microzone. The synergistic effect of nutrient supply concentration and hydrodynamic conditions dominates the formation and evolution of persistent anoxic microzones by regulating the dynamic balance of DO supply and consumption.

Key words: biofilm; anoxic microzone; pore scale; microfluidics; dissolved oxygen; redox environment; environmental geology.

基金项目: 国家重点研发计划资助(No.2023YFC3706905);国家自然科学基金面上项目(No.42572305).

作者简介: 肖智平(2001-),男,硕士研究生,主要从事地下水污染与防治方面的研究工作. ORCID: 0009-0003-2550-466X. E-mail: xzp2023@cug.edu.cn

* **通讯作者:** 鲜阳,特任教授,主要从事地表水与地下水相互作用、地下水污染物迁移转化及地下水数值模拟等方面的工作. ORCID: 0000-0002-1489-045X. E-mail: yxian@cug.edu.cn

引用格式: 肖智平,潘明潇,鲜阳,朱棋,文章,2026.孔隙尺度微生物膜演化及其对溶解氧分布的影响.地球科学,51(6):2161-2172.

Citation: Xiao Zhiping, Pan Mingxiao, Xian Yang, Zhu Qi, Wen Zhang, 2026. Pore-Scale Biofilm Evolution and Its Control on Dissolved Oxygen Distribution. *Earth Science*, 51(6): 2161-2172.

0 引言

溶解氧是地下水环境中最重要的氧化还原控制因子之一,决定着含水介质中微生物代谢、污染物转化及物质循环等重要过程(Baveye *et al.*, 1998; Zarnetske *et al.*, 2012).浅层地下水中,尤其是地表水—地下水交互带等关键界面,溶解氧时空分布常常呈现出显著的非均匀性(丁吾举等, 2024; 黄莹芸等, 2025),其形成与含水介质特征、水动力条件及生物过程等因素密切相关(Boano *et al.*, 2010; Morales, 2010; Sawyer, 2015; Chowdhury *et al.*, 2020).微生物膜作为由微生物及其胞外聚合物组成的典型生物结构,广泛附着于介质颗粒表面,其形成与演化过程受营养供给、溶解氧水平、水动力条件及孔隙结构、温度、pH等多种环境因素的共同调控(Deng *et al.*, 2013; Karimifard *et al.*, 2021; Ke *et al.*, 2021).在此基础上,微生物膜通过持续消耗溶解氧并改变孔隙结构与流动特征,进一步影响局部微环境及溶质运移过程(王宏宇, 2013; Xian *et al.*, 2019, 2020,2022).因此,探究微生物膜演化特征及其对溶解氧时空分布的影响机制,是理解地下水系统中氧化还原分异及生物地球化学过程的重要基础.

当前围绕实验柱尺度或孔隙尺度下微生物膜生长对介质渗透性变化、渗流及溶质运移的影响开展了较为广泛研究(章艳红等,2012; Carrel *et al.*, 2018; 翁时超,2020).然而,已有研究多侧重于宏观水力响应或单一过程分析,但孔隙尺度下微生物膜时空演化特征及其对溶解氧分布的影响仍缺乏直接观测证据.这一不足在很大程度上制约了对含水层中微生物过程与溶质运移相互作用机制的深入认识,其关键瓶颈在于传统实验手段难以同步获取孔隙尺度微生物膜结构与溶解氧时空分布信息.近年来,微流控实验通过构建可控的二维孔隙结构并结合高分辨率成像技术,为实现微生物膜与溶解氧分布的原位可视化观测提供了新的技术手段(Kurz *et al.*, 2022; Scheidweiler *et al.*, 2024).在此基础上,亟需从孔隙尺度出发,系统揭示微生物膜生长对溶解氧传输—消耗过程的影响机制,阐明缺氧微区,即在富氧区呈散落状分布的缺氧区的形成与演化机理.

营养供给浓度与水动力条件是含水介质中微生物膜形态结构及空间分布特征的主要影响因素,二者共同控制着微生物膜的发育过程(Larson and Passy, 2013).本文通过构建孔隙网络尺度微流控实验平台,在不同营养供给浓度和水动力条件(水力梯度)下,系统开展孔隙尺度微生物膜演化及其对溶解氧分布影响实验研究.通过原位观测不同时刻微生物膜及溶解氧二维时空分布,探究微生物膜生长发育过程中孔隙网络中溶解氧传输与消耗动态规律,揭示微生物膜生长对局部氧化还原环境的调控机制及其演变趋势,为地下水污染物迁移转化、氧化还原敏感元素的生物地球化学循环研究提供基础支撑.

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验装置由微流控芯片、供水系统、出水系统、观测系统,共4个部分组成(图1).微流控芯片由高透明亚克力板制作而成,高度120 mm,宽度84 mm,厚度8 mm,孔隙网络结构的上部和下部分别空出了高度为20 mm的稳流区域和出流区域.二维孔隙结构由不规则排列的等径圆柱体(直径7.5 mm)组成,用于模拟粗砂、砾石等粗粒沉积物.供水系统主要由蠕动泵、溢水箱、淋滤仓组成.淋滤仓呈直径90 mm、高度20 mm的圆柱状,确保水流可均匀流入微流控芯片.出水系统主要包括溢水箱、废水箱.实验运行过程中,供水与出水系统使微流控芯片入口、出口持续保持定水头,营养液自上部溢水箱,流入淋滤仓后,进入微流控芯片供微生物生长繁殖;经微生物消耗后的营养液,通过微流控芯片出口流出至下部溢水箱,最后收入废水箱统一处理.本实验装置主要针对天然含水层中影响微生物膜生长与溶解氧分布的关键控制因素进行模拟,包括营养供给条件、水动力过程及孔隙结构特征等.相较于天然地下水系统,本实验在以下方面进行了简化与假设:(1)采用二维规则化孔隙结构表征天然三维非均质介质;(2)以稳定水力梯度条件近似地下水持续流动过程;(3)忽略温度波动对微生物过程的影响;上述简化有助于在可控条件下突出分析微生物膜生长与溶解氧分布之间的耦合关系.

如图2,为实时监测微生物膜分布,在微流控芯片正前方架设一台单镜头反光式取景相机(EOS 80D,分辨率为2 420万像素,传感器尺寸为22.3 mm×14.9 mm);正后方布置一台定制的LED

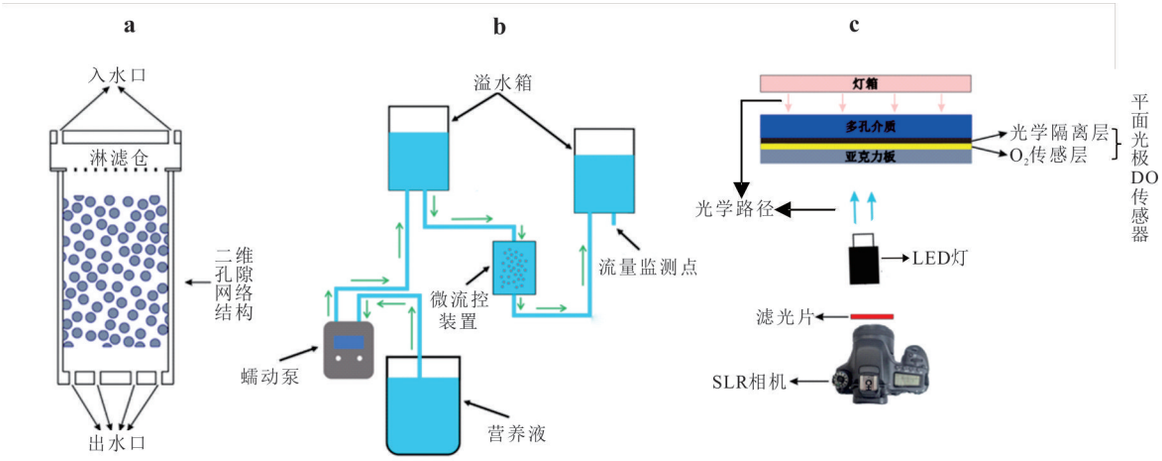

图 1　微流控装置示意图

Fig.1　Microfluidic device schematic diagram

a.二维孔隙结构;b.实验装置配置;c.观测系统

表 1　各实验方案营养物质含量、DO 浓度及水力梯度参数设置

Table 1　Nutrient content, DO concentration and hydraulic gradient parameter setting of each experimental scheme

方案编号	葡萄糖 (mg/L)	$NaNO_3$ (mg/L)	KH_2PO_4 (mg/L)	$CaCl_2$ (mg/L)	H_3BO_3 (mg/L)	$MgSO_4\times7H_2O$ (mg/L)	$MnSO_4\times H_2O$ (mg/L)	DO (mg/L)	Δh
N-1	125	34.27	2.1	1.5	0.5	0.374	0.626	7～9	0.125 00
N-2	50	13.71	2.1	1.5	0.5	0.374	0.626	7～9	0.125 00
N-3	12.5	3.43	2.1	1.5	0.5	0.374	0.626	7～9	0.125 00
N-4	125	34.27	2.1	1.5	0.5	0.374	0.626	7～9	0.062 50
N-5	125	34.27	2.1	1.5	0.5	0.374	0.626	7～9	0.031 25

方形直射冷光源,发光面积为 198 mm×198 mm,可完全覆盖微流控装置的多孔介质区域,光源均匀度高于 90%.同时为了避免外部光源对成像及微生物发育过程的影响,整个实验装置用遮光棚来进行避光处理,并将实验环境温度控制在 18～25 ℃.此外,为实时监测溶解氧的空间分布情况,在微流控芯片内布设了一张平面光极 DO 传感器,并在微流控芯片前方布置一台中心波长为 445 nm 蓝光 LED 灯以激发平面光极 DO 传感器(仅在获取溶解氧空间分布时使用,且不与微流控芯片正后方的冷光源同时使用),监测微生物膜分布的相机也用于拍照监测 DO 空间分布,但为了提高实验精度在镜头处额外安装了一块 590 nm 的长通滤光片以滤除 590 nm 波长以下的反射光.

微生物膜生长发育主要受营养供给浓度和水力梯度控制.故本研究主要设计供水系统营养物质浓度、供排水系统水力梯度(Δh)两个变量,各实验方案详细参数如表 1 所示,N-1、N-2、N-3 实验方案具备相同的水力梯度(Δh)但有机碳(葡萄糖)及硝酸盐($NaNO_3$)的浓度依次降低,而 N-1、N-4、N-5 实验方案具备相同的营养供给浓度但水力梯度依次减弱.

1.2　实验方法

1.2.1　接种菌液培养　为探究天然群落中微生物膜的发育规律,将采集自中国地质大学(武汉)未来城校区镜湖生态滤床的水样除杂后,每两天加入一定量的营养物质,包括:100 mg/L $C_6H_{12}O_6$、43 mg/L $NaNO_3$、3.6 mg/L KH_2PO_4、3.1 mg/L $CaCl_2$、0.5 mg/L H_3BO_3、0.374 mg/L $MgSO_4\times7H_2O$ 和 0.626 mg/L $MnSO_4\times H_2O$,C:N:P 的摩尔比为 106:16:1,此比例能促进微生物的生长和繁殖(De Falco *et al.*, 2018).待菌液培养至 OD_{600}=0.2,使用 100 目的纱网过滤去除菌液中的絮状物后,将菌液连续通入实验装置 3 h 进行接种.利用 16SrRNA 方法检测接种菌液的菌种主要为奥湖甲苯单胞菌、多刺马利克菌和产氢产乙酸杆菌,三者共占 90% 的相对

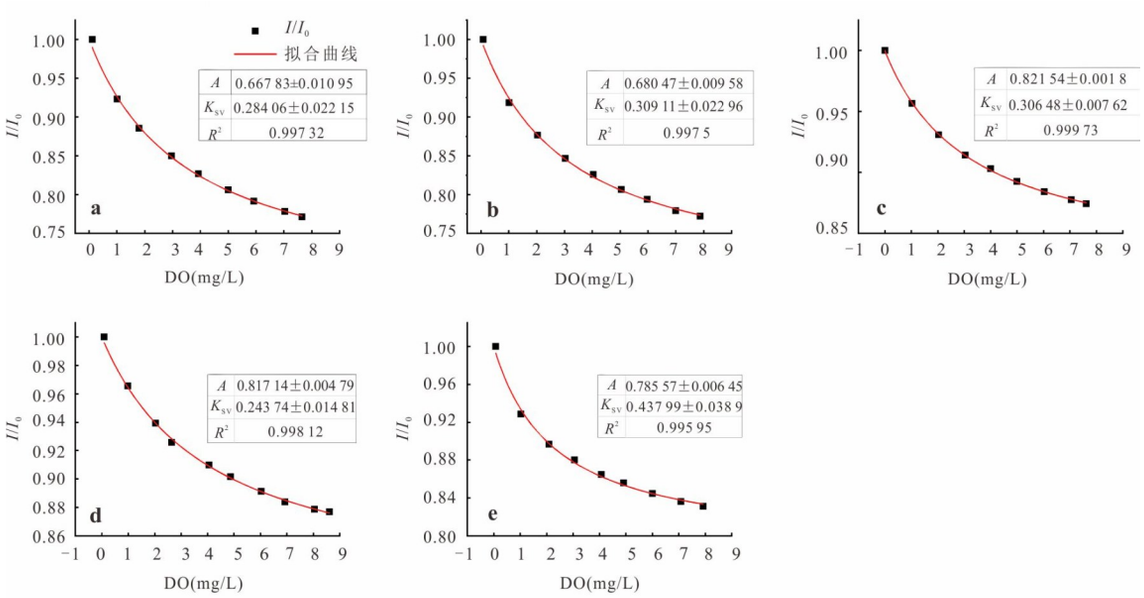

图2　平面光极DO传感器拟合曲线

Fig.2　Fitting curves of DO calibration based on planar optode sensor

a～e依次对应N-1～N-5

丰度.

1.2.2　微流控装置DO监测　平面光极DO传感器是一种基于光学荧光猝灭原理的高精度(mm级)检测设备,可分为O_2传感层和光学隔离层(图2).其中,O_2传感层的由铂(Ⅱ)间一四(五氟苯基)卟啉(PtTFPP)和香豆素545(C545)组成,PtTFPP为O_2的敏感发光载体(Merl and Koren, 2020; 冉洪芋等, 2021),其与O_2碰撞时会发生荧光猝灭,但自然情况下PtTFPP也会出自猝灭现象,而C545作为天线染料在增强PtTFPP发射光信号的同时也能避免该现象的发生(Larsen *et al*., 2011; 冉洪芋等, 2021).光学隔离层位于O_2传感层的表面,以碳黑和硅橡胶为主要成分,碳黑可以排除其他具有荧光效应物质的干扰,而硅橡胶可以避免流体冲刷时损坏O_2传感层.

在蓝光LED灯(中心波长为445 nm)的照射下,PtTFPP和C545会反射出两种不同波长的光,这两种波长的光被相机以图像强度的形式记录下来.其中,PtTFPP的发光强度以红色图像为主,C545的发光强度以绿色图像为主,红色图像发光强度和绿色图像发光强度之差与绿色图像发光强度的比值被称为像素强度比(I).正式实验前采用RGB颜色比率法对平面光极DO传感器进行校准,即在不同DO浓度下(C),通过计算得到相应的像素强度比(I)后依据Stern-Volmer方程(式1)对两者进行拟合(Klimant *et al*., 1995),并通过调整K_{sv}、A的值改变曲线的拟合效果.当曲线的R^2大于等于0.99时,认为曲线的拟合效果较好并记录相应的K_{sv}、A值,同时结束校准流程.拟合结果如图2所示,所获得的K_{sv}、A值均在前人文献报道范围内(Larsen *et al*., 2011).实验过程中,依据同一方法获取空间上不同位置的像素强度比(I)后由式(2)即可获得微流控装置内的DO空间分布情况.

$$\frac{I}{I_0}=\left[A+(1-A)\left(\frac{1}{1+K_{sv}\cdot C}\right)\right], \tag{1}$$

$$C=\frac{I_0-I}{K_{sv}\cdot(I-I_0\cdot A)}, \tag{2}$$

式(1)～(2)中,A为发光信号的不可淬灭部分($0<A<1$); K_{sv}为Stern-Volmer方程的猝灭常数;I为像素强度比;I_0为DO为0 mg/L时的像素强度比,C为DO浓度,mg/L,ML^{-3}.

1.2.3　实验数据采集　实验过程中,主要采集的数据包括:微生物膜形态及空间分布、反演DO空间分布所需的图像及微流控芯片出口流量,具体采集流程如下.

在使用单镜头反光式取景相机拍照记录微生物膜形态及空间分布后,立即更换光源并为相机增加滤光片以获取反演DO空间分布所需的图像.在

不同的实验条件下,由于微生物膜生长速率存在较大差异,故记录频次略有不同(实验N-1～N-3每日记录3次,实验N-4、N-5每日记录5次).

在获取反演DO空间分布所需的图像后,立即采集对应时刻的流量数据.出口流量由量筒直接读取,为减少人为操作带来的误差,每次操作将重复三次取其平均值.当装置出口处单位时间(1 min)的总流量低于量筒检测下限时,停止实验.

2　结果与讨论

2.1　营养供给浓度及水力梯度对二维孔隙结构中微生物膜生长发育过程的调控作用

在不同营养供给浓度(N-1、N-2、N-3)与水力梯度(N-1、N-4、N-5)下,各实验方案中的微生物膜均表现出相似的生长发育规律(图3),即:菌体首先在水流作用下附着于多孔介质颗粒表面,随后通过分泌胞外聚合物形成微生物膜,逐步占据孔隙空间.随着微生物膜厚度增加与孔隙结构改变,营养物质运移、微生物膜生长等作用共同影响下,最终进入相对稳定阶段(Winstanley *et al.*, 2015).尽管整体演化路径一致,但不同实验条件下微生物膜时空分布特征存在着明显差异,表明营养供给浓度及水力梯度对微生物膜发育过程具有重要调控作用.

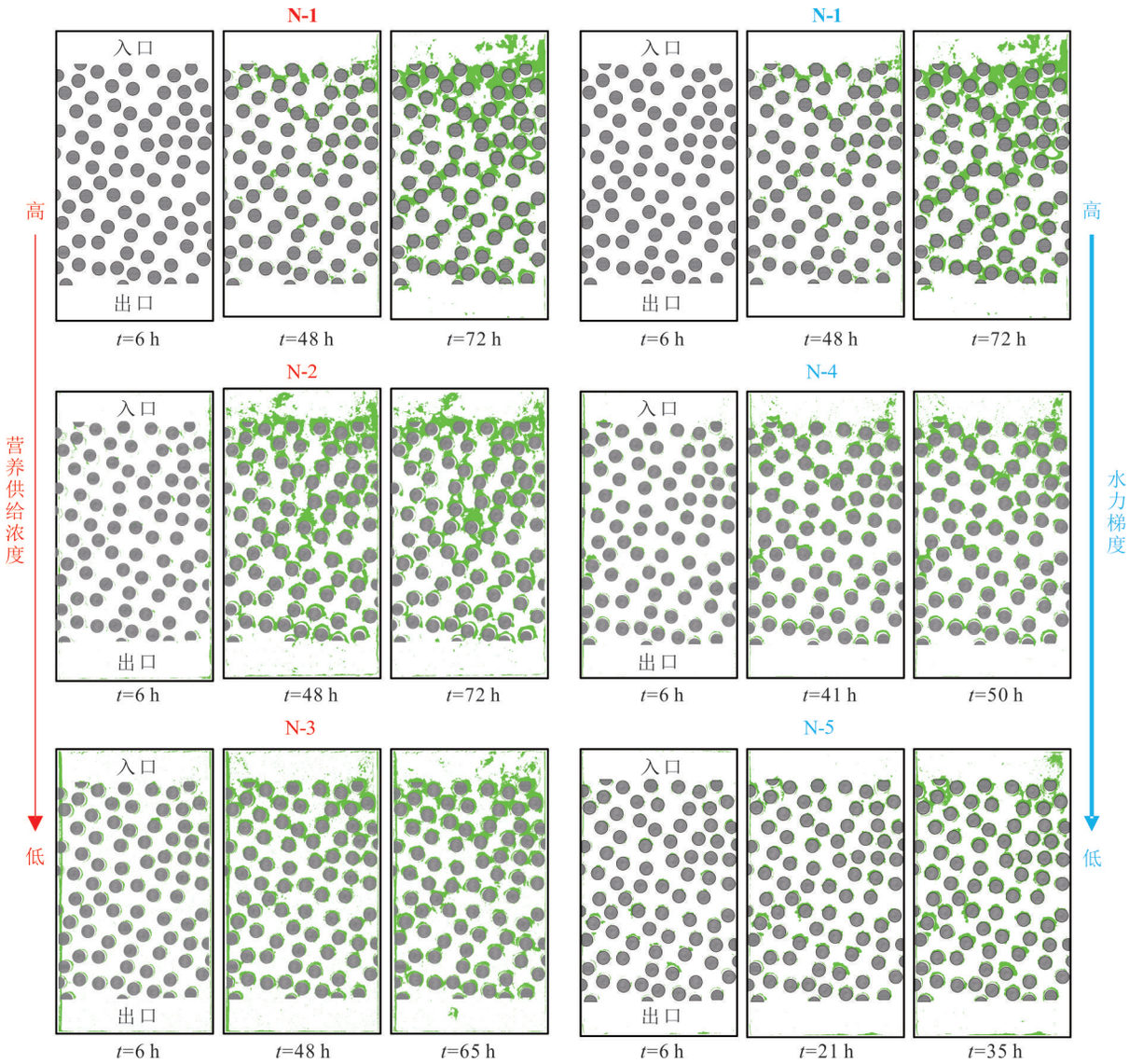

图3　微生物膜时空分布

Fig.3　Spatial and temporal distribution of microbial membrane

灰色为介质颗粒,绿色部分为微生物膜

在同一水力梯度条件下，不同营养供给浓度实验方案的微生物膜空间分布总体呈现出入口区域富集、下游区域相对分散的特征（图3；N-1、N-2、N-3），表明营养物质沿流向消耗所形成的浓度梯度可能使入口区域成为微生物膜优先生长的位置．图4a展示了不同营养供给浓度条件下微生物膜饱和度（微生物膜面积与总孔隙面积之比）的动态变化，发现中低营养供给浓度条件下（N-2、N-3）微生物膜饱和度随时间逐渐增加后最终趋于稳定，而高营养供给浓度条件下（N-1）微生物膜饱和度长期（0～70 h）低于N-2、N-3，且其在实验期间内持续增大．表明营养供给浓度对微生物膜生长发育的调控并非单调促进作用，因为较高营养供给浓度条件通常伴随更高离子强度，从而导致微生物表面电性及EPS结构稳定性发生改变（Ramezanian *et al.*, 2018），并进一步影响菌体初始附着与微生物膜初始构建过程，使微生物膜在早期阶段难以迅速形成连续结构，因此高营养供给浓度条件下早期微生物膜饱和度增长得较为缓慢．而随着微生物膜逐渐建立并形成相对稳定微环境，营养物供给优势逐渐显现，使微生物膜饱和度迅速增加．整体来看，营养供给浓度通过影响代谢速率与界面微环境结构共同控制微生物膜发育过程．

在相同营养供给浓度条件下，水力梯度对微生物膜时空分布（图3）及微生物膜饱和度（图4b）同样具有显著影响．较高水力梯度会增强营养物质的对流传输强度，有利于维持较高的微生物代谢水平，但同时较强的剪切应力限制了微生物膜厚度的发展并可能诱发微生物膜局部脱落（Xu *et al.*, 2018）；较低水力梯度条件下剪切限制会相应减弱，使微生物膜在空间上分布更为均匀（图3；N-4、N-5），但由于营养物质补给能力下降，微生物膜整体增长速率会受到制约（Febria *et al.*, 2012）．因此，水力梯度对微生物膜发育的调控总体表现为对流传输强化与剪切限制作用之间的动态平衡，从而决定微生物膜演化过程的差异．

2.2　二维孔隙结构中溶解氧浓度的时空演化规律

在二维孔隙结构中，不同营养供给浓度、水力梯度条件下微生物膜的形成与扩展显著改变了DO的迁移与空间分布（图5）．具体而言，由于微生物膜内富集大量微生物，其代谢活动以DO为主要电子受体，当含氧水流穿过或绕过微生物膜时则会发生明显氧耗行为（Sawyer, 2015; Chowdhury *et al.*, 2020）．同时，随着微生物膜的生长，其在孔隙中的扩展将形成生物堵塞缩小甚至完全阻断原有流动通道，影响DO的迁移过程，最终改变DO的空间分布（Karimifard *et al.*, 2021; Ke *et al.*, 2021）．随着微生物膜的发育，氧化还原环境呈现出显著的时空演化特征（Kone *et al.*, 2014）．

如图5，在实验初期，微生物膜仅零散附着于介质颗粒表面，生物量总体较低，对DO的消耗能力很有限，使各实验方案均表现为整体富氧状态，DO空间分布也相对均匀，连续缺氧区尚未形成，局部缺氧区仅存在于部分颗粒边壁附近．

在实验中期，随着微生物膜的增长，微生物膜在局部孔隙中形成一定程度的生物堵塞，DO开始表现出明显的空间非均匀性．同时，将实验装置内DO的浓度在空间上进行算术平均，得到如图6所示的平均DO浓度随时间的变化，发现平均DO浓度随微生物膜的发育迅速下降．在水流被绕流或流速降低的区域，DO补给速率逐渐低于代谢消耗速率，形成局部缺氧区；而在仍保持较强对流传输的优先

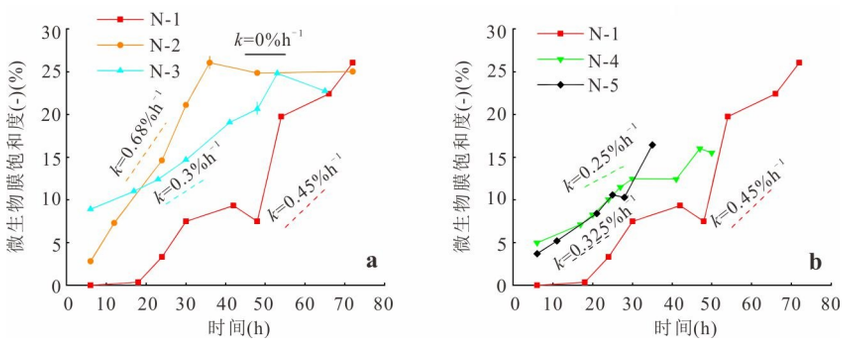

图4　微生物膜饱和度随时间的变化

Fig.4　The change of microbial membrane saturation with time

a.不同营养供给浓度；b.不同水力梯度

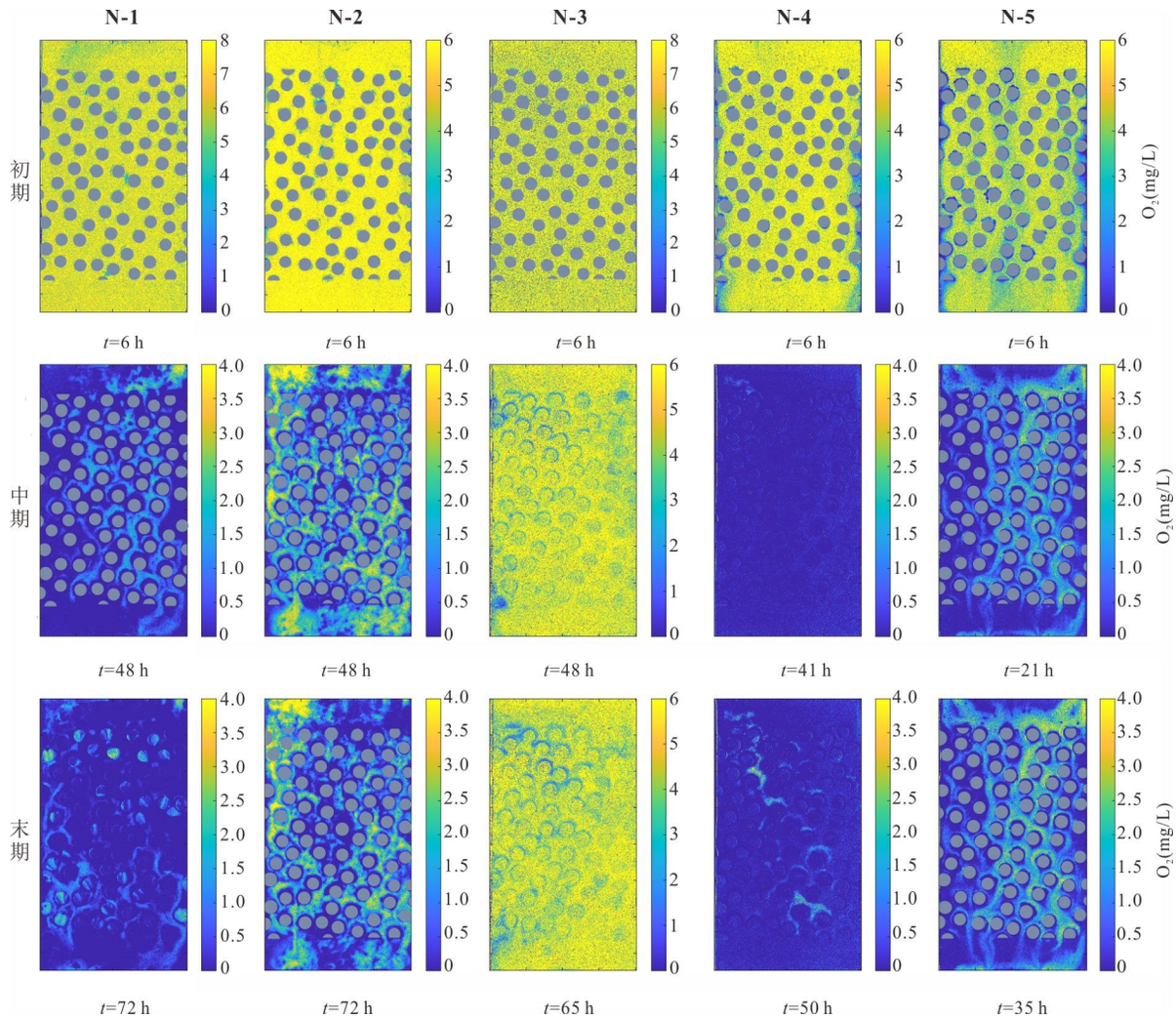

图 5　不同营养供给浓度、水力梯度条件下含水介质DO空间分布

Fig.5　The spatial distribution of DO in aquifer medium under different nutrient supply concentrations and different hydraulic gradients

流通道内,DO补给能力在一定时间内能够维持其较高浓度.此阶段DO的空间分布由初期的相对均匀状态转变为“优先流富氧—堵塞区缺氧”的非均匀状态,其形成取决于代谢强度与对流补给能力之间的竞争关系.较高有机碳浓度条件下,由于代谢强度更高,局部DO更易被耗竭(图6;N-1、N-2),缺氧区出现时间更早、扩展更快(图5;N-1、N-2);而在有机碳受限条件下,整体上氧耗速率始终与补给速率较为接近,随着微生物膜的增长实验装置内平均DO浓度由6.6 mg/L降至5.2 mg/L而后趋于稳定(图6;N-3),使二维孔隙结构整体始终呈现富氧状态(图5;N-3).

在实验后期,实验装置中形成了大范围的生物堵塞,优先流通道因此进一步减少,DO的对流补给能力随之进一步下降.如图6所示,除N-3外其余实验方案的平均DO浓度均在30 h前降至2 mg/L以下,表明由于微生物量与代谢强度持续提高,DO消耗将逐步超过补给能力,使局部缺氧区向周围孔隙进一步扩展,最终演化为全局缺氧状态;而在低营养供给导致代谢受限且对流传输持续保持较强条件下,二维孔隙结构一直保持整体的富养状态(图5和图6;N-3).

2.3　缺氧微区的形成机制与演化模式

不同营养供给浓度(图7)、水力梯度(图8)下随着微生物膜的生长发育,二维孔隙结构内富氧区域随时间逐渐缩小,而缺氧区域(DO < 2mg/L, 图7和图8中以红色展示的部分)逐步扩大(Xian *et al.*, 2022).当全局富氧区存在时,富氧区内常发育呈散落状分布的局部低氧区(Sawyer, 2015).这些嵌套于整体富氧区中的局部低氧区被定义为缺氧微区

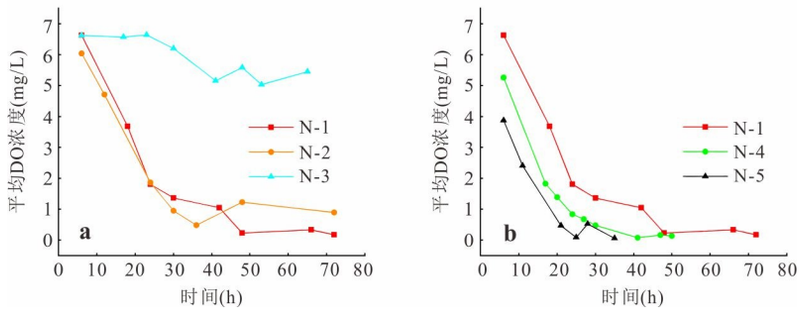

图 6　平均 DO 浓度随时间的变化

Fig.6　The average DO concentration with time

a.不同营养供给浓度;b.不同水力梯度

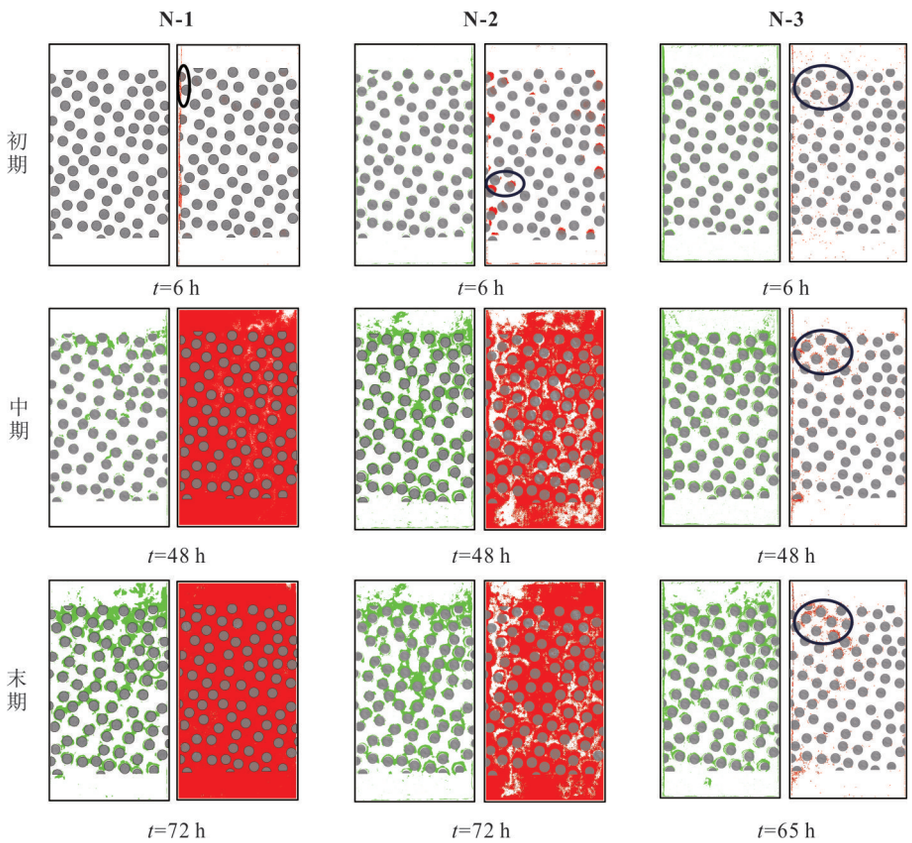

图 7　不同营养供给浓度条件下含水介质中微生物膜及缺氧区时空分布

Fig. 7　The spatial and temporal distribution of microbial membrane and anoxic zone in aqueous medium under different nutrient supply concentrations

绿色部分为微生物膜,红色部分为缺氧区

(如图 7,图 8)中以黑色曲线圈定的区域(Briggs *et al.*, 2018; Chowdhury *et al.*, 2020).缺氧微区通常发育于微生物膜占据或绕流影响的区域(Xian *et al.*, 2022),是反硝化、铁锰还原等依赖有机质浓度的厌氧反应发生的潜在热点区域,对于多孔介质中生物地球化学过程具有重要调控意义(Harvey *et al.*, 2013; Hampton *et al.*, 2020).

缺氧微区在微生物膜发育过程中呈现出两种典型的演化模式.第一种模式如图 7 的 N-1、N-2 以及图 8 的 N-4、N-5 所示.仅在实验初期可观测到缺氧微区,其余时期不再出现,这说明缺氧微区在微生物膜发育过程中仅短暂出现,随着微生物膜生长扩展,导致系统氧化还原环境转变为完全缺氧,全局富氧环境不再存在,相应地缺氧微区便消失

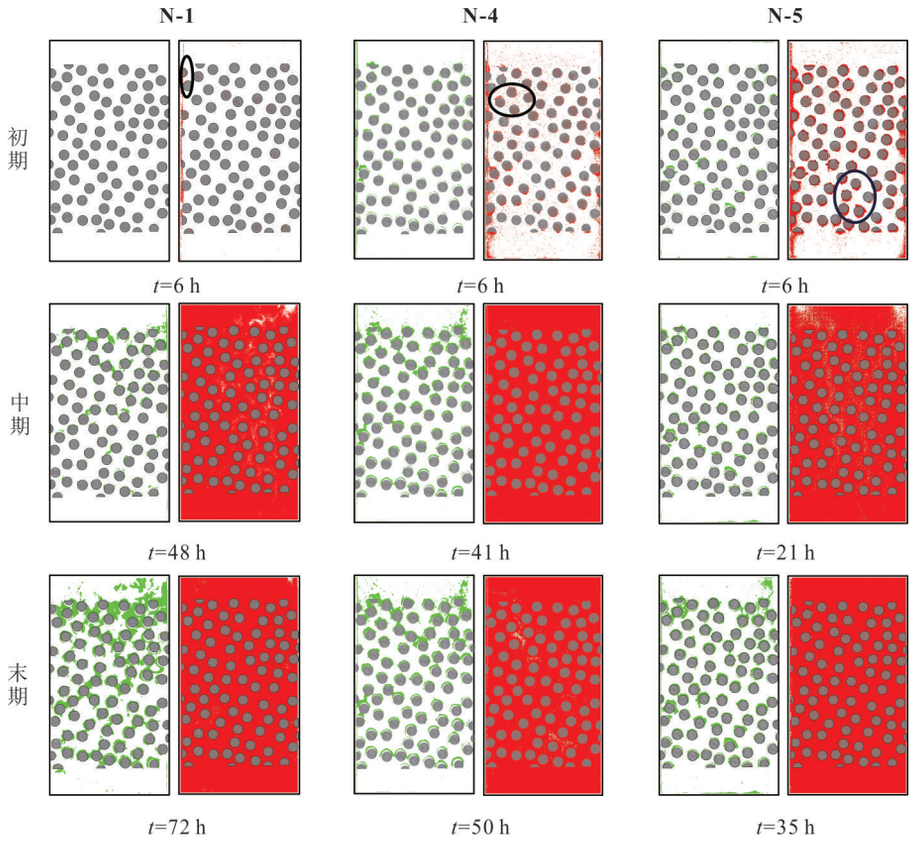

图 8　不同水力梯度条件下含水介质中微生物膜及缺氧区时空分布

Fig. 8　Spatial and temporal distribution of microbial membrane and anoxic zone in aqueous media under different hydraulic gradient conditions

绿色部分为微生物膜,红色部分为缺氧区

(Chowdhury *et al.*, 2020).第二种模式如图 7 的 N-3 所示:缺氧微区在整个微生物膜发育阶段持续存在,即微生物膜生长发育过程中始终维持"全局富氧－局部缺氧"的共存状态.上述两种演化路径与 Xian *et al.*(2022)所模拟的反应－对流传输竞争结果高度一致,即当微生物反应消耗速率与对流传输速率之间不匹配时,系统氧化还原环境可分别演化为整体缺氧或富氧－缺氧共存两种类型.

缺氧微区的形成与演化本质上受 DO 消耗速率与对流补给能力之间的动态竞争控制(Briggs *et al.*, 2015; Sawyer, 2015).营养供给浓度通过调控微生物有氧呼吸强度影响 DO 消耗速率(Huang *et al.*, 2025).在同一水力梯度下,较高有机碳浓度会增大微生物代谢强度,使得局部区域更易以氧耗为主,从而促进缺氧区快速扩展,导致系统转变为整体缺氧状态(图 6a;N-1、N-2),这种条件下缺氧微区仅在微生物膜发育过程中短暂存在(图 7;N-1、N-2);而在较低有机碳条件下,由于代谢速率受限,DO 消耗与对流补给之间更易达到相对平衡(图 6a;N-3),使局部缺氧区能够长期嵌套于整体富氧区内,从而形成持续性缺氧微区(图 7;N-3).水力梯度通过影响对流传输能力与微生物膜空间分布共同控制微区稳定性.较高水力梯度有利于维持优先流通道中的 DO 补给,从而支撑富氧区的存在;若水力梯度降低,对流补给能力下降,则局部氧耗更易导致系统整体缺氧(图 6b、图 8).总体而言,持续性缺氧微区的形成需要 DO 反应速率与对流传输能力之间达到动态平衡,而当氧耗强度显著超过 DO 补给能力时,系统将不可避免地向整体缺氧状态演化.

3　结论

基于孔隙网络尺度微流控实验平台及微生物膜溶解氧原位监测技术,系统揭示了营养供给浓度与水力梯度对微生物膜生长发育及 DO 时空演化的调控机制,并明确了缺氧微区的形成与演化过程,主要结论如下.

(1)营养供给浓度和水力梯度对维生物膜的生

长具有显著的影响：在绝大部分实验期内（0～70 h），相比高营养供给浓度条件，中低营养供给浓度条件反而维持了更高的微生物膜饱和度，这表明微生物膜发育程度与营养供给浓度并不呈现以往研究中认为的简单正相关关系．与此同时，水力梯度越大，微生物膜的非均质性也越强，推测是营养物质传输速率与水动力剪切作用导致的共同结果．

（2）在实验过程中，微生物膜发育驱动DO分布从均匀富氧演变为“优先流富氧—堵塞区缺氧”的非均匀格局，并最终可发展为全局缺氧．营养供给浓度是缺氧微区形成的主控因子，显著影响DO消耗速率：高营养条件下代谢耗氧占主导，缺氧区出现早、扩展快，系统易全局缺氧；低营养条件下耗氧与补给较易形成动态平衡，可长期维持“全局富氧－局部缺氧”的共存结构，有利于维持持续性缺氧微区．与此同时，水力梯度通过影响DO补给速率调控着氧化还原环境的演化，水力梯度越高，DO补给越快，全局缺氧出现得越晚．

（3）不同的营养供给浓度和水力梯度的实验结果表明，缺氧微区具有持续性与短暂性两种演化模式；其中，仅12.5 mg/L的葡萄糖供给浓度搭配水力梯度0.125的组合呈现出持续性缺氧微区的演化模式，其在系统始终保持全局富氧使缺氧微区能长期存在．而其余组合则均呈现短暂性缺氧微区的演化模式，在该模式下，随着微生物膜生长发育，富氧区逐渐缩小、缺氧区逐渐扩大，平均DO浓度迅速降低（30 h内降至2 mg/L以下），缺氧微区在孔隙结构整体向缺氧环境转变的过程中短暂出现并消失．

需要指出的是，本研究基于二维微流控芯片开展，孔隙结构相对规则、水力梯度稳定，未考虑温度、水力梯度波动等复杂因素的影响．未来研究可结合三维介质结构、多场耦合过程及原位观测手段，进一步提升研究结果向天然地下水系统的外推能力．

References

Baveye, P., Vandevivere, P., Hoyle, B. L., et al., 1998. Environmental Impact and Mechanisms of the Biological Clogging of Saturated Soils and Aquifer Materials. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 28(2): 123－191. https://doi. org/10.1080/10643389891254197

Boano, F., Demaria, A., Revelli, R., et al., 2010. Biogeochemical Zonation Due to Intrameander Hyporheic Flow. *Water Resources Research*, 46(2): W02511. https://doi.org/10.1029/2008WR007583

Briggs, M. A., Day-Lewis, F. D., Zarnetske, J. P., et al., 2015. A Physical Explanation for the Development of Redox Microzones in Hyporheic Flow. *Geophysical Research Letters*, 42(11): 4402－4410. https://doi. org/10.1002/2015GL064200

Briggs, M. A., Day-Lewis, F. D., Dehkordy, F. M. P., et al., 2018. Direct Observations of Hydrologic Exchange Occurring with Less-Mobile Porosity and the Development of Anoxic Microzones in Sandy Lakebed Sediments. *Water Resources Research*, 54(7): 4714－4729. https://doi.org/10.1029/2018WR022823

Carrel, M., Morales, V. L., Dentz, M., et al., 2018. Pore-Scale Hydrodynamics in a Progressively Bioclogged Three-Dimensional Porous Medium: 3-D Particle Tracking Experiments and Stochastic Transport Modeling. *Water Resources Research*, 54(3): 2183－2198. https://doi.org/10.1002/2017WR021726

Chowdhury, R.S., Zarnetske, J. P., Phanikumar, M. S., et al., 2020. Formation Criteria for Hyporheic Anoxic Microzones: Assessing Interactions of Hydraulics, Nutrients, and Biofilms. *Water Resources Research*, 56(3): e2019WR025971. https://doi. org/10.1029/2019WR025971

Deng, W., Cardenas, M. B., Kirk, M. F., et al., 2013. Effect of Permeable Biofilm on Micro- and Macro-Scale Flow and Transport in Bioclogged Pores. *Environmental Science & Technology*, 47(19): 11092－11098. https://doi.org/10.1021/es402596v

De Falco, N., Boano, F., Bogler, A., et al., 2018. Influence of Stream-Subsurface Exchange Flux and Bacterial Biofilms on Oxygen Consumption under Nutrient-Rich Conditions. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 123(7): 2021－2034. https://doi. org/10.1029/2017JG004372

Ding, W. J., Lu, F. Y., Zhao, B., et al., 2024. Kinetics of Nitrification and Denitrification in Hyporheic Zone Sediment with Periodical Supply of Nitrogen. *Earth Science*, 49(10): 3712－3722(in Chinese with English abstract).

Febria, C. M., Beddoes, P., et al., 2012. Bacterial Community Dynamics in the Hyporheic Zone of an Intermittent Stream. *The ISME Journal*, 6(5): 1078－1088. https://doi.org/10.1038/ismej.2011.173

Harvey, J. W., Böhlke, J. K., Voytek, M. A., et al., 2013. Hyporheic Zone Denitrification: Controls on Effective Reaction Depth and Contribution to Whole-Stream Mass

Balance. *Water Resources Research*, 49(10): 6298—6316. https://doi.org/10.1002/wrcr.20492

Hampton, T. B., Zarnetske, J. P., Briggs, M. A., et al., 2020. Experimental Shifts of Hydrologic Residence Time in a Sandy Urban Stream Sediment-Water Interface Alter Nitrate Removal and Nitrous Oxide Fluxes. *Biogeochemistry*, 149(2): 195—219. https://doi. org/10.1007/s10533-020-00674-7

Huang, J. P., Zhang, H. R., Bian, X. Z., et al., 2025. COD Concentration Influence on Membrane Fouling and Microbial Communities in A/O-MBR and A/A-MBR Systems. *Environmental Technology*, 46(22): 4532—4544. https://doi.org/10.1080/09593330.2025.2507391

Huang, Y. Y., Shen, J. H., Zhu, Z. C., et al., 2025. Microbial Indicator of Iron Cycling in Riverwater-Groundwater Interaction Zone—FMN Reductase Gene. *Earth Science*, 50(4): 1575—1584 (in Chinese with English abstract).

Klimant, I., Meyer, V., Kühl, M., 1995. Fiber-Optic Oxygen Microsensors, a New Tool in Aquatic Biology. *Limnology and Oceanography*, 40(6): 1159—1165. https://doi.org/10.4319/lo.1995.40.6.1159

Kone, T., Golfier, F., Orgogozo, L., et al., 2014. Impact of Biofilm-Induced Heterogeneities on Solute Transport in Porous Media. *Water Resources Research*, 50(11): 9103—9119. https://doi.org/10.1002/2013WR015213

Karimifard, S., Li, X., Elowsky, C., et al., 2021. Modeling the Impact of Evolving Biofilms on Flow in Porous Media Inside a Microfluidic Channel. *Water Research*, 188: 116536. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116536

Ke, D. F., Li, R., Liu, C. X., 2021. The Feedback Interaction between Biomass Accumulation and Heterogeneous Flow in Porous Media: Effect of Shear Stresses. *Journal of Hydrology*, 597: 126083. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.126083

Kurz, D. L., Secchi, E., Stocker, R., et al., 2022. A Microfluidic Platform to Study Bioclogging in Porous Media. *Journal of Visualized Experiments*, (188):e64689. https://doi.org/10.3791/64689

Larsen, M., Borisov, S. M., Grunwald, B., et al., 2011. A Simple and Inexpensive High Resolution Color Ratiometric Planar Optode Imaging Approach: Application to Oxygen and pH Sensing. *Limnology and Oceanography: Methods*, 9(9): 348—360. https://doi. org/10.4319/lom.2011.9.348

Larson, C. A., Passy, S. I., 2013. Rates of Species Accumulation and Taxonomic Diversification during Phototrophic Biofilm Development are Controlled by Both Nutrient Supply and Current Velocity. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(6): 2054—2060. https://doi. org/10.1128/AEM.03788-12

Morales, V. L., Parlange, J. Y., Steenhuis, T. S., 2010. Are Preferential Flow Paths Perpetuated by Microbial Activity in the Soil Matrix? A Review. *Journal of Hydrology*, 393(1—2): 29—36. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.12.048

Merl, T., Koren, K., 2020. Visualizing NH_3 Emission and the Local O_2 and pH Microenvironment of Soil upon Manure Application Using Optical Sensors. *Environment International*, 144: 106080. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106080

Ramezanian, S., Ta, H. X., Muhunthan, B., et al., 2018. Role of Ionic Strength in the Retention and Initial Attachment of *Pseudomonas Putida*to Quartz Sand. *Biointerphases*, 13(4): 041005. https://doi. org/10.1116/1.5027735

Ran, H. Y., Ye, X., Zhu, X. Y., et al., 2021. Principle of Planar Optode and Its Application in Investigating Microscale Soil Heterogeneity. *Soils*, 53(5): 916—928(in Chinese with English abstract).

Sawyer, A. H., 2015. Enhanced Removal of Groundwater-Borne Nitrate in Heterogeneous Aquatic Sediments. *Geophysical Research Letters*, 42(2): 403—410. https://doi.org/10.1002/2014GL062234

Scheidweiler, D., Bordoloi, A. D., Jiao, W. Q., et al., 2024. Spatial Structure, Chemotaxis and Quorum Sensing Shape Bacterial Biomass Accumulation in Complex Porous Media. *Nature Communications*, 15: 191. https://doi.org/10.1038/s41467-023-44267-y

Wang, H. Y., 2013. Experiment and Numerical Simulation for Bioclogging in Aquifer Media during Artificial Recharge (Dissertation). Ocean University of China, Qingdao(in Chinese with English abstract).

Winstanley, H. F., Chapwanya, M., Fowler, A. C., et al., 2015. A 2D Channel-Clogging Biofilm Model. *Journal of Mathematical Biology*, 71(3): 647—668. https://doi.org/10.1007/s00285-014-0833-4

Weng, S. C., 2020. Study on the Process and Mechanism of Biological Clogging in Porous Media Based on Two-Dimensional Pore Structure (Dissertation). Zhejiang University, Hangzhou(in Chinese with English abstract).

Xu, J. W., He, Q., Li, H., et al., 2018. Modeling of Methane Formation in Gravity Sewer System: The Impact of Microorganism and Hydraulic Condition. *AMB Express*, 8: 34. https://doi.org/10.1186/s13568-018-0559-6

Xian, Y., Jin, M. G., Zhan, H. B., et al., 2019. Reactive Transport of Nutrients and Bioclogging during Dynamic Disconnection Process of Stream and Groundwater. *Water Resources Research*, 55(5): 3882－3903. https://doi.org/10.1029/2019WR024826

Xian, Y., Jin, M. G., Zhan, H. B., 2020. Buffer Effect on Identifying Transient Streambed Hydraulic Conductivity with Inversion of Flood Wave Responses. *Journal of Hydrology*, 580: 124261. https://doi. org/10.1016/j. jhydrol.2019.124261

Xian, Y., Jin, M. G., Zhan, H. B., et al., 2022. Permeable Biofilms can Support Persistent Hyporheic Anoxic Microzones. *Geophysical Research Letters*, 49(14): e2021GL096948. https://doi. org/10.1029/2021GL096948

Zarnetske, J. P., Haggerty, R., Wondzell, S. M., et al., 2012. Coupled Transport and Reaction Kinetics Control the Nitrate Source-Sink Function of Hyporheic Zones. *Water Resources Research*, 48(11): W11508. https://doi.org/10.1029/2012WR011894

Zhang, Y. H., Ye, S. J., Wu, J. C., et al., 2012. A Study of Distribution of Biofilm in Porous Media and Its Effect on Permeability. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 32(5): 1072－1080 (in Chinese with English abstract).

中文参考文献

丁吾举，陆菲雨，赵博，等，2024. 氮周期供给时潜流带沉积物硝化、反硝化动力学. 地球科学，49(10): 3712－3722.

黄莹芸，沈俊豪，朱子超，等，2025. 河水—地下水交互带铁循环的微生物指示物－FMN还原酶基因. 地球科学，50(4): 1575－1584.

冉洪芋，叶馨，朱晓艳，等，2021. 平面光极基本原理及其在土壤微观异质性研究中的应用. 土壤，53(5): 916－928.

王宏宇，2013. 含水介质生物堵塞的回灌试验和数值分析(硕士学位论文). 青岛：中国海洋大学.

翁时超，2020. 基于二维孔隙结构的多孔介质生物堵塞过程及机理研究(硕士学位论文). 杭州:浙江大学.

章艳红，叶淑君，吴吉春，等，2012. 孔隙介质中生物膜空间分布及其对渗透性影响研究. 环境科学学报，32(5): 1072－1080.