

•海洋资源可持续开发与利用•

DOI:10.12454/j.jsuese.202400197



本刊网刊

## 全海深原位微生物多级过滤取样装置设计与原位试验

周 朋<sup>1</sup>, 陈家旺<sup>1</sup>, 何巍涛<sup>1</sup>, 柳 帅<sup>2</sup>, 王 豪<sup>1,3\*</sup>

(1. 浙江大学 海洋学院, 浙江 舟山 316000; 2. 青岛船研深海技术有限公司, 山东 青岛 266000;  
3. 哈尔滨工程大学 青岛创新发展基地, 山东 青岛 266000)

**摘 要:**针对深渊微生物采样中样本易污染、RNA 易降解以及采样装置工作深度受限等关键问题, 本文设计并研制一套具备原位过滤和即时固定功能的全海深微生物多级过滤取样装置。该装置采用串联式多级过滤结构, 通过孔径分别为 3.0、0.2 和 0.1  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜实现微生物初步筛分, 并利用自主研发的深渊柱塞泵作为动力源。为实现无污染取样, 引入压力自平衡机构补偿深海压力引起的液体体积压缩, 经计算确定体积补偿器容积需大于装置内液体总体积的 13.42%。此外, 装置集成动物组织 RNA 稳定保存液 (RNAlater) 自动注射系统, 可在过滤结束后立即进行原位固定, 有效防止因回收过程温差导致的 RNA 降解。实验室高压环境测试表明, 充油电机在 0~120 MPa 压力范围内电流与环境压力呈线性关系, 验证动力系统的稳定性。该装置在马里亚纳海沟 10 931、10 925 m 深度成功实施多次万米级海试, 累计海底作业超过 15 h, 并获取高品质的深渊微生物滤膜样品。试验结果表明, 该装置具备全海深环境下的稳定作业能力, 通过原位富集与即时固定技术显著提升了样本质量, 为深渊微生物基因库的建立及应用潜力研究提供了可靠的技术支撑。

**关键词:**全海深; 多级过滤; 微生物; 原位取样; 马里亚纳海沟

**中图分类号:** TH69

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2096-3246(2026)01-0245-08

海洋是生命的起源, 也是地球上最大的基因库<sup>[1]</sup>。然而, 目前为止人类对海洋的探索和研究仍非常有限。根据相关资料, 截至 2023 年, 人类已探索的海洋区域仅占整体的 5%, 而已进行取样的海洋区域仅占整体的 0.01%<sup>[2-3]</sup>。深度大于 6 000 m 的深渊海域代表了海洋深度的 45%, 深渊高压、低温、黑暗的生态环境孕育了独特的生态系统<sup>[4]</sup>, 包含了整个水生体系中最大的微生物库, 涵盖了近 75% 的原核生物生物量和 50% 的原核生物生产量<sup>[5-6]</sup>。

微生物是海洋生态环境与物质循环体系的重要组成部分, 具有丰富性、普遍性和代谢多样性<sup>[7]</sup>。物理和化学条件对微生物的生长和演化过程具有重要的影响, 在黑暗、低温、高压、高盐度的深海极端环境下, 微生物往往表现出独特的性状。对深渊微生物进行取样和分析, 不仅能帮助人们理解海洋中生命的起源和进化过程, 还能促进海洋药物学和生物酶学

发展<sup>[8-10]</sup>。

深渊极端的作业环境给潜水器和取样装置的设计工作带来了巨大的挑战。超过 60 MPa 的海水压力和 0~4  $^{\circ}\text{C}$  的低温是首先要解决的问题<sup>[11]</sup>。深海水体微生物取样装置的相关研究最早可以追溯到上世纪 90 年代, 法国的研究团队研制了 HPPS 取样装置, 用最多 12 个容积为 500 mL 的高压取样瓶采集最大 3 500 m 深度的海水样品, 并在实验室中对微生物进行了培养和观察<sup>[12]</sup>。这种早期的取样方式在单次作业中能获得的微生物量很少, 因此更多的研究者开始尝试对水样进行过滤以获得更多的微生物。伍兹霍尔海洋研究所研制了 SUPR 取样装置用于调查分析海底热液羽流, 具有采集地球化学样品和微生物样品的功能。取样装置为圆盘形层叠构造, 能同时快速过滤 24 组大体积水样<sup>[13]</sup>。进一步地, Breier 等<sup>[14]</sup>在 2012 年研制出了改进的 SUPR-V2 取样装置, 能同时收集过滤材料、未过滤

收稿日期: 2024-03-21 修回日期: 2024-06-12 网络出版日期: 2024-08-21

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFB4704701)

作者简介: 周 朋 (1987—), 男, 正高级工程师。研究方向: 深海机电装备。E-mail: zp2010\_ok@126.com

\* 通信作者: 王 豪, 副教授, E-mail: wanghao\_work@hrbeu.edu.cn

的原位水样和滤液,形成系统样本。该取样装置使用 McLane 实验室的深水泵作为过滤动力源,最大工作深度为 5 500 m。为了采集海床附近的浮游生物, Sentry Operations 研发了 SyPRID 取样装置,其在自主式水下航行器(AUV)的协助下能采集最大深度为 6 000 m 的样品<sup>[15]</sup>。中国浙江大学研究团队研制的全海深系列保压采水器在马里亚纳海沟也多次实现了对深渊微生物的保压采集<sup>[16]</sup>。

大量的研究已经证明了原位过滤是从海水中获取大量微生物样本的最佳方式<sup>[17]</sup>,但现有取样装置的工作深度大多小于 6 000 m,能够在深渊海域进行长时间工作的取样装置很少。本文介绍一种能用于全海深的海水微生物取样装置,具有原位过滤和保存功能。通过向过滤后的容器中加入动物组织 RNA 稳定保存液(RNAlater),可以有效避免微生物 RNA 的降解,从而保证样品的质量,为后续的遗传物质研究提供帮助。该装置在马里亚纳海沟大于 10 000 m 的海深环境下成功进行微生物原位富集。

## 1 全海深原位微生物多级过滤取样装置整体系统设计

深渊微生物原位多级过滤及保存装置包括过滤结构、保存结构以及相应的电控和机械系统,相比于其他取样装置,所提出的多级膜结构和原位固定保存结构,能够获取富集的高品质微生物样品。整套装置面向万米级深渊环境进行设计,具备全海深作业能力。

要通过原位过滤的方式获取海水中的微生物,取样装置的设计结构中必须包括过滤器和稳定的流量泵。采用目前生物实验室中广泛使用的微孔滤膜过滤器。同时,为改善过滤效果,在原有的研究基础上提出多级过滤的方式,通过不同孔径滤膜的组合来对微生物进行初步筛分。微生物多级过滤取样装置整体功能框图如图 1 所示。

图 2 为多级过滤取样装置的工作原理。多级膜过滤结构是装置的基础,其基本原理是利用深水泵驱动海水持续流过多级滤膜,使海水中颗粒直径大于某一级滤膜孔径的微生物被截留下来,经过长时间的工作即可获得富集的微生物样品。多级膜按照孔径从大到小的顺序排列,相比于传统的单级膜结构,这一设计不仅能对海水中的微生物进行初步筛分,还能有效减轻小孔径滤膜的工作阻力和堵塞现象,延长工作寿命,优化过滤效果。对于一般的深海水体取样,取样容器在下放过程可分为封闭式和敞开式两种。封闭式是将容器完全封闭,到达作业水深后再打开,其优点是确保容器内部不与非目标深度的海水发生接触,缺点是

到达作业水深后外界压力远大于容器内部,此时打开阀门会造成容器内部的压力突变,影响样品品质;敞开式是保持容器敞开下放,其优点是容器内部压力始终与外部环境保持一致,不会出现压力突变,缺点是下放过程中容器内部会与非目标深度的海水发生接触。简而言之,封闭式方案只能实现无污染取样,敞开式方案只能实现无压力突变取样。本文在现有研究的基础上,提出了无污染、无压力突变取样的实现方案。

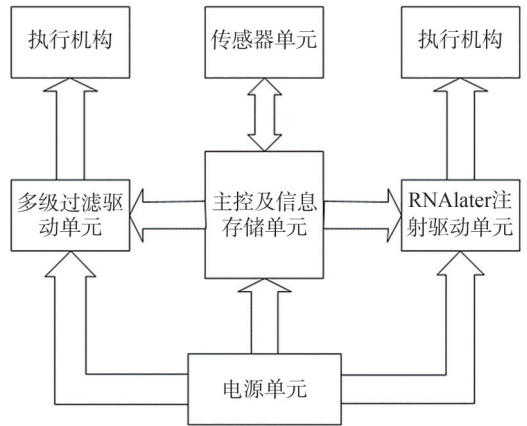


图1 微生物多级过滤取样装置整体功能框图

Fig. 1 Overall functional block diagram of microbial multistage filtration sampling device

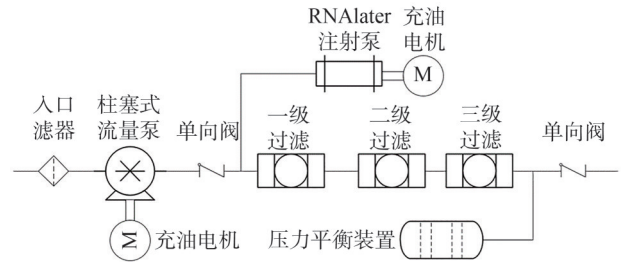


图2 多级过滤取样装置工作原理

Fig. 2 Working principle of multistage filtering sampling device

## 2 关键模块设计

### 2.1 压力平衡装置

为了确保微生物样品的品质,在取样的整个工作过程中需要尽可能避免表层海水的污染。黄中华等<sup>[18-19]</sup>设计了一种保压的深海微生物取样装置,并通过单向阀与电磁阀的组合确保取样过程无污染。对现有的大部分取样装置设计进行总结后可以发现,向容器内预先充满无菌水是避免污染的可行方法之一。但即便容器中充满水并保持敞开,取样装置下放至海底的过程中仍会有少量的外界海水进入。这是由于海水在不同压强下具有不同的密度,随着水深的增加,预先填充的无菌水会被逐渐压缩,从而会有小体积的外界海水混入。通过计算可得,在 10 000 m 的海深下,水

的体积会减小大约 4.5%。

为了解决这一问题,引入了一种压力自平衡结构(包含可移动活塞的圆筒,也可以用橡胶皮囊进行代替)补偿这部分体积变化。当取样装置不进行工作时,入口和出口处的单向阀均处于关闭状态,通过压力平衡器将内部与外部环境分隔开。单向阀的开启压力被设置为略微大于活塞的移动阻力。

事实上,压力并不是造成体积变化的唯一因素<sup>[20-21]</sup>,还与液体的可压缩性、温度、气体分解等因素有关。一般满足以下条件:

$$V_B \geq \Delta V_{LP} + \Delta V_{LT} + \Delta V_G + \Delta V_{LE} + \Delta V_{BC} \quad (1)$$

式中, $V_B$ 为压力平衡装置的体积, $\Delta V_{LP}$ 为外界海水压力变化引起取样装置内水的体积的变化, $\Delta V_{LT}$ 为温度变化所引起的体积变化量, $\Delta V_G$ 为气体分解引起的体积变化量, $\Delta V_{LE}$ 为泄漏引起的体积变化, $V_{BC}$ 为体积补偿器中液体和溶解气体。

$\Delta V_{LP}$ 可表示为:

$$\Delta V_{LP} = \beta V_0 P_i \quad (2)$$

式中: $\beta$ 为水的体积压缩量,取 $0.513 \times 10^{-9} \text{ Pa}^{-1}$ ;  $V_0$ 为内部空间体积; $P_i$ 为最大的工作深度下海水的压力,取 100 MPa。

$\Delta V_{LT}$ 可表示为:

$$\Delta V_{LT} = \alpha V_0 \Delta t \quad (3)$$

式中: $\alpha$ 为水的膨胀率,取 $2.8 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ ;  $\Delta t$ 为工作过程中最大的温差,海底温度为 $2 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右,假设释放装置时海面温度为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , $\Delta t$ 取 $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

$\Delta V_G$ 可表述为:

$$\Delta V_G = K_X V_0 \quad (4)$$

式中, $K_X$ 为气液分配系数,通常在 $3\% \sim 6\%$ 。

$\Delta V_{LE}$ 可表示为:

$$\Delta V_{LE} = K_L V_0 \quad (5)$$

式中, $K_L$ 为泄漏系数,一般小于 $1\%$ 。

由于压力和温度变化产生的体积变化 $V_{BC}$ 可表示为:

$$V_{BC} = \beta V_0 P_i + \alpha V_0 \Delta t + K_L V_0 + K_X V_B \quad (6)$$

综上, $V_B$ 满足以下条件:

$$V_B \geq \frac{\beta P_i + \alpha \Delta t + K_X}{1 - \beta P_i - \alpha \Delta t - K_X - K_L} V_0 \quad (7)$$

常温常压下,取气液系数 $K_X=0.06$ , $K_L=0.01$ ,将相应值代入式(7),结果为:

$$V_B \geq 13.42\% V_0 \quad (8)$$

即体积补偿器的可变体积至少应为装置内部液体总体积的 $13.42\%$ 。

## 2.2 多级过滤器设计

参考目前生物实验室中进行微生物过滤的方式,选取广泛使用的圆盘形微孔过滤器作为取样装置的核心部分<sup>[22]</sup>。滤器分为上部、下部和托盘3部分,全部用316不锈钢材料制造,具有良好的抗腐蚀性。滤器的最大直径为195 mm,内部安装直径为142 mm的聚碳酸酯微孔滤膜。3个滤器采用串联的方式首尾相连,其中,滤膜的孔径分别为 $3.0$ 、 $0.2$ 和 $0.1 \text{ } \mu\text{m}$ 。聚碳酸酯滤膜孔径均匀,具有良好的化学抗性和耐热性,非常适合用于采集海水中的微生物。微孔过滤器和滤膜如图3所示。



图3 微孔过滤器及滤膜

Fig. 3 Microporous filter and membrane

3个滤器采用串联的方式首尾相连。在滤器的最前端设置一道过滤头,其内部有两层致密的不锈钢网,通过这种方式可以有效去除海水中的大颗粒杂质,改善滤膜的过滤效果并延长滤膜的工作寿命。

## 2.3 柱塞泵设计

微孔滤膜对泵的输出压力和输出流量具有严格的要求,为此需要一种能在高压海水环境下长时间稳定工作的流量泵。已有文献一般采用轴流泵<sup>[13]</sup>,通过

叶轮的高速旋转驱动水流动。由于本文使用的微孔滤膜孔径较小,能够承载的流量较低,因此,不适合用常规的轴流泵作为动力。以孔径为 $3 \text{ } \mu\text{m}$ 、直径为 $142 \text{ mm}$ 的滤膜为例,生产厂家给出的额定流量为 $475 \text{ mL/min}$ ,额定压力为 $0.2 \text{ MPa}$ ,一般的轴流泵无法实现。为了满足工作要求,参照柱塞泵的原理自行设计了一种能在深渊环境下工作的流量泵,图4为全海深用柱塞泵。

泵的主要部分是一个带有可移动活塞的圆柱筒,

活塞通过几根连杆连接在滑块上。往复丝杠和导轨构成了直线运动机构,当往复丝杠单向旋转时,滑块会在两个行程终点之间来回往复运动,使圆筒内的封闭容积产生周期性变化。圆柱筒上装有两个方向相反的单向阀,当内部容积增大时海水被吸入,当内部容积减小时海水被排出。柱塞泵工作原理如图 5 所示。

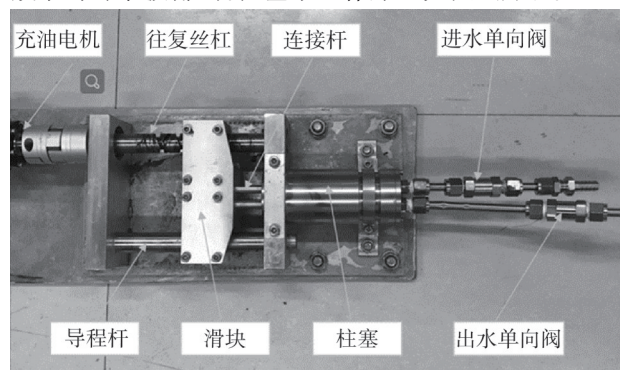


图 4 全海深用柱塞泵

Fig. 4 Plunger pump for full-sea-depth

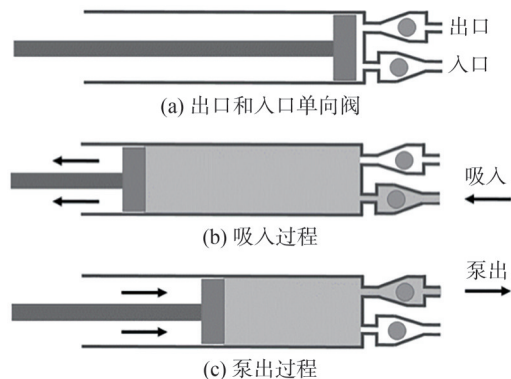


图 5 柱塞泵工作原理示意图

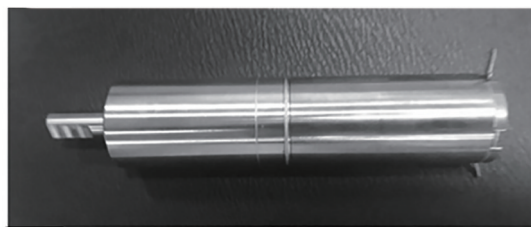
Fig. 5 Working principle diagram of plunger pump

## 2.4 充油电机设计

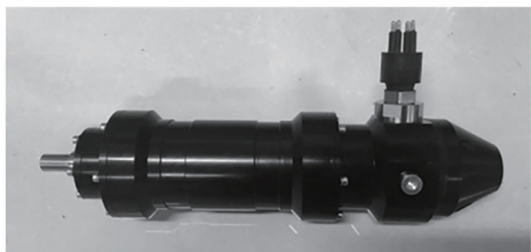
泵的最大输出压力为 0.6 MPa,通过一台充油电机进行驱动。泵的实际流量与充油电机的转速有关,可以根据所用滤膜的材料和孔径进行调整。目前,充油电机在深海设备中广泛使用,其基本原理是将电机封装在一个充满液压油的外壳中,从而避免电机因接触海水而损坏<sup>[23-24]</sup>。这种方式可以大大减小整体的体积与重量,同时解决了转轴处存在的动密封问题<sup>[25]</sup>。

为了配合泵的工作需求,设计一种能在全海深环境下工作的充油电机,内部采用 MAXON 公司生产的 DCX-26L 稀有金属有刷电机,电机的空载转速为 4 570 r/min,电机选配的减速齿轮箱为 GPX26C 星形减速齿轮箱,电机减速后的最大旋转扭矩为 4.5 N·m,并在此扭矩下可以正常运行数百小时。DCX-26L 有刷电机及封装后的充油电机如图 6 所示。电机高压测试原理如图 7 所示。

充油电机的外壳采用 6061 铝合金材料制造,具有



(a) DCX-26L 有刷电机



(b) 封装后的充油电机

图 6 全海深充油电机

Fig. 6 Full-sea-depth oil-filled motor

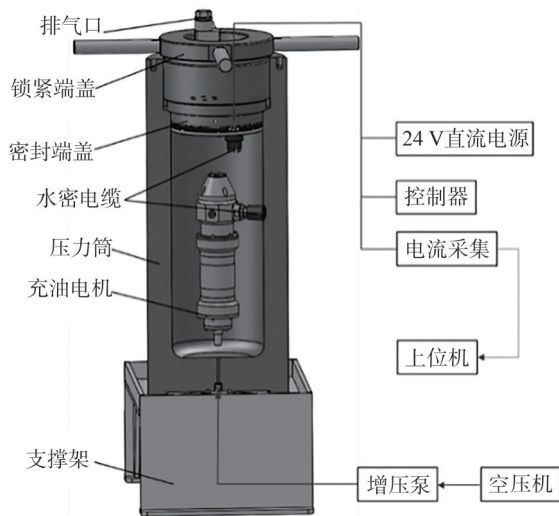


图 7 电机高压测试原理示意图

Fig. 7 Schematic diagram of motor high voltage test principle

较高的强度和较低的密度。轴采用 17-4PH 沉淀硬化不锈钢制造,表面硬度大于 35HRC。采用泛赛密封作为轴处的动密封以减少磨损。电路板置于内部,通过导线连接到 Subcon 四芯水密接插件。采用 5CS 的二甲基硅油替代普通液压油,以减轻发热现象。充油电机的外表面进行氧化发黑处理以进一步提高耐腐蚀性。

以往的理论研究表明,在高压环境下液压油黏度的增大,电机在工作中受到的阻力增大,会导致电机转速的下降和电流的上升。本文试验中也观察到了这一现象,并记录了压力和电流值的变化情况。当工作压力从 0 上升到 120 MPa 时,电机的电流从 0.15 A 上升到了 0.34 A。在测试压力范围内,电机的电流值与环境压力大致呈线性关系。充油电机在高压下工作特性测试结果如图 8 所示。

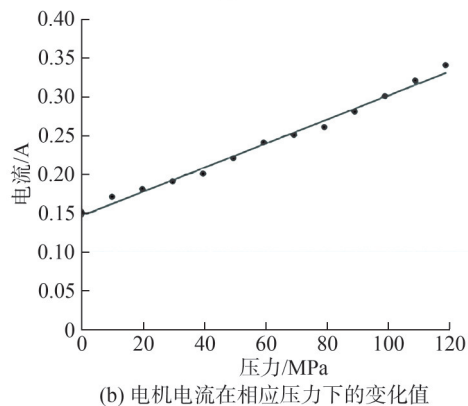
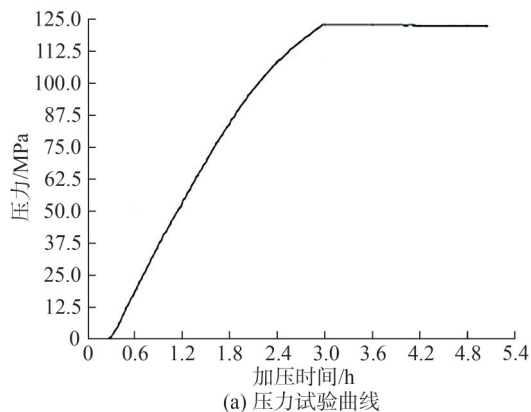


图 8 充油电机在高压下工作特性测试结果

Fig. 8 Test results of operating characteristics of oil-filled motors under highpressure

### 2.5 RNAlater 注射器设计

相比于 DNA, RNA 由于其为单链结构, 性质不稳定, 在温度发生变化时十分容易降解<sup>[26]</sup>。深度为 10 000 m 以上的取样作业, 着陆器的回收至少需要 6 h, 而科考船甲板上的温度比海底高出 25~30 °C, 在这一过程中微生物的 RNA 极易发生大量降解<sup>[27-28]</sup>。

为了提高最终获得样品的品质, 设计了一种结构, 在过滤完成后立即向样品中加入 RNAlater 溶液。RNAlater 能够迅速渗入细胞液中, 在非冷冻状态下原位稳定和保护深海微生物的 RNA。在有保存液的情况下, 微生物 RNA 可以在 37 °C 环境下保存 24 h。RNAlater 注射装置基于梯形丝杠结构设计而成, 并由一台充油电机进行驱动。RNAlater 注射装置如图 9 所示。图 10 为全海深原位微生物多级过滤取样装置。

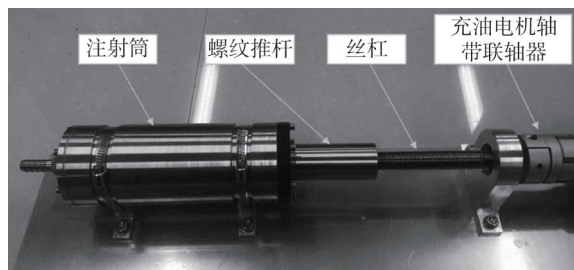


图 9 RNAlater 注射装置

Fig. 9 Diagram of RNAlater injection device

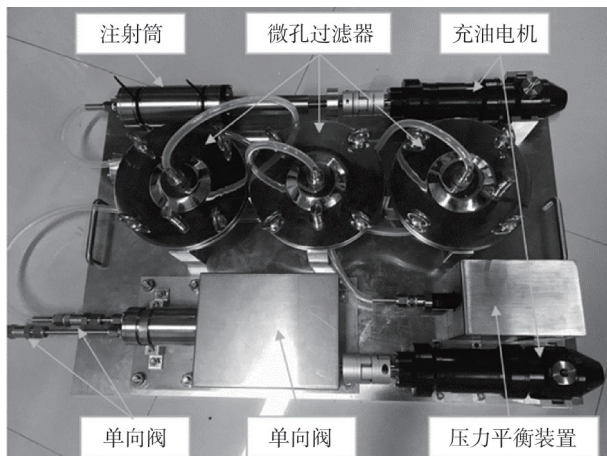


图 10 全海深原位微生物多级过滤取样装置

Fig. 10 Full-sea-depth *in situ* microbial multistage filtration sampling device

### 3 系统海上试验

全海深原位微生物多级过滤取样装置搭载于中国科学院深海科学与工程研究所的探索一号科考船分别于 TS-15 和 TS-21 航次中实施了多次万米海试。

在 TS-15 航次中, 取样装置搭载于深渊着陆器在 MBR02 站位 (11.371°N, 142.587°E, 10 931 m 深度) 进行了下潜取样, 在着陆器实施布置前, 所有的管道和滤器内部都用酒精进行了清洗, 并通入高温蒸汽进行消毒。滤器内部充满了无菌水, 以确保获得纯净的样品。取样装置的启动时间被设定为着陆器投放后的 6 h, 工作总时长为 5 h。着陆器回收后滤器被立即拆下, 其中的微孔滤膜被取出后放入样品管, 在超低温室中进行冷冻保存。采样器现场试验如图 11 所示。

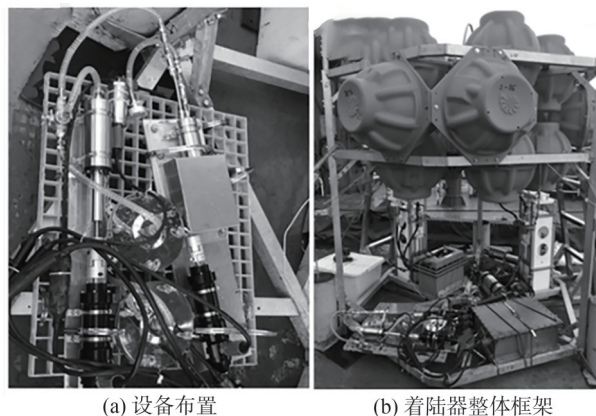


图 11 采样器现场试验

Fig. 11 Field test of the sampler

在 TS-21 航次中, 原位实验号着陆器搭载取样装置下潜, 在西菲律宾海盆区 (129°44.100 4'E, 16°57.019 5'N, 7 745 m 深度) 进行了一个站位的海试, 在马里亚纳海沟进行了两个站位的海试 (142°12.085 3'E, 11°19.949 1'N, 10 925 m 深度), 在海底共

进行了 10 h 左右的持续作业,获得了 9 张不同孔径的滤膜样品,保存至 $-80^{\circ}\text{C}$ 冷库,为后续进行深渊微生物基因库建立及应用潜力研究提供了基础。TS-21 航次海试取样装置布置于万米着陆器,如图 12 所示。



图 12 取样装置布置于万米着陆器

Fig. 12 Sampling device deployed on the 10 000 meter lander

两次海上试验的成功验证了本文研制的全海深原位微生物多级过滤取样装置具备进行万米级深渊环境作业的能力,能够在实地作业中获取富集的高质量微生物样品,具有可靠性和稳定性。

## 4 结 论

本文设计了一套可用于全海深的原位微生物多级过滤取样装置,主要通过多级膜结构和原位保存结构实现富集的高品质微生物样品的获取,针对实际工作需求,设计研制了柱塞泵、深海充油电机、RNA later 注射泵等工作构件,同时用高压设备对充油电机进行了高压试验,并获得了不同压力下的电流数值,为取样装置的结构调整和改进提供了依据。取样装置在深度超过 10 000 m 的马里亚纳海沟海域进行了两次部署并成功取得深渊微生物样品,为后续进行深渊微生物基因库建立及应用潜力研究提供了可靠的基础。在未来的研究工作中,仍可继续在结构优化、重量减轻方面继续优化采样系统。

### 参考文献:

- [1] Salvador A, Avice G, Breuer D, et al. Magma ocean, water, and the early atmosphere of Venus[J]. *Space Science Reviews*, 2023, 219(7): 51.
- [2] Ramirez-Llodra E, Brandt A, Danovaro R, et al. Deep, diverse and definitely different: Unique attributes of the world's largest ecosystem[J]. *Biogeosciences*, 2010, 7(9): 2851–2899.
- [3] Johnson G C, Lyman J M. Warming trends increasingly dominate global ocean[J]. *Nature Climate Change*, 2020, 10(8): 757–761.
- [4] Yang Na, Lv Yongxin, Ji Mukan, et al. High hydrostatic pressure stimulates microbial nitrate reduction in hadal trench sediments under oxic conditions[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 2473.
- [5] Jamieson A. *The hadal zone: Life in the deepest oceans*[M]. New York: Cambridge University Press, 2015.
- [6] Aristegui J, Gasol J M, Duarte C M, et al. Microbial oceanography of the dark ocean's pelagic realm[J]. *Limnology and Oceanography*, 2009, 54(5): 1501–1529.
- [7] Arrigo K R. Marine microorganisms and global nutrient cycles[J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 349–355.
- [8] Feling R H, Buchanan G O, Mincer T J, et al. Salinosporamide A: A highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2003, 42(3): 355–357.
- [9] Andrianasolo E, Lutz R, Falkowski P. Deep-sea hydrothermal vents as a new source of drug discovery[M]// *Bioactive Natural Products*. Amsterdam: Elsevier, 2012: 43–66.
- [10] Haefner B. Drugs from the deep: Marine natural products as drug candidates[J]. *Drug Discovery Today*, 2003, 8(12): 536–544.
- [11] Liang Jianzhen, Feng Jingchun, Zhang Si, et al. Role of deep-sea equipment in promoting the forefront of studies on life in extreme environments[J]. *iScience*, 2021, 24(11): 103299.
- [12] Bianchi A, Garcin J, Tholosan O. A high-pressure serial sampler to measure microbial activity in the deep sea[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 1999, 46(12): 2129–2142.
- [13] Breier J A, Rauch C G, McCartney K, et al. A suspended-particle rosette multi-sampler for discrete biogeochemical sampling in low-particle-density waters[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2009, 56(9): 1579–1589.
- [14] Breier J A, Sheik C S, Gomez-Ibanez D, et al. A large volume particulate and water multi-sampler with *in situ* preservation for microbial and biogeochemical studies[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2014, 94: 195–206.
- [15] Billings A, Kaiser C, Young C M, et al. SyPRID sampler: A large-volume, high-resolution, autonomous, deep-ocean precision plankton sampling system[J]. *Deep Sea Research*

- Part II: Topical Studies in Oceanography, 2017, 137: 297–306.
- [16] Wang Shuo, Wu Shijun, Du Mengran, et al. A new serial sampler for collecting gas-tight samples from seafloor cold seeps and hydrothermal vents[J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2020, 161: 103282.
- [17] Wei Zhanfei, Li Wenli, Li Jun, et al. Multiple *in situ* nucleic acid collections (MISNAC) from deep-sea waters[J]. Frontiers in Marine Science, 2020, 7: 81.
- [18] Huang Zhonghua, Liu Shaojun, Jin Bo, et al. Deep sea microbial concentrated and isobaric sampling technique[J]. Journal of Mechanical Engineering, 2006(3): 212–216. [黄中华, 刘少军, 金波, 等. 深海浮游微生物浓缩保压取样技术[J]. 机械工程学报, 2006(3): 212–216.]
- [19] Huang Zhonghua, Liu Shaojun, Shen Haikuo, et al. Control system design of autonomic deepsea plankton sampler with concentrated and fidelity function[J]. The Ocean Engineering, 2006(1): 128–131. [黄中华, 刘少军, 沈海阔, 等. 自主式深海浮游微生物浓缩保真取样器控制系统设计研究[J]. 海洋工程, 2006(1): 128–131.]
- [20] Meng Qingxin, Wang Zhuo, Wei Hongxing, et al. Deepwater hydraulic power source pressure compensator study[J]. Ship Engineering, 2000(2): 60–67. [孟庆鑫, 王茁, 魏洪兴, 等. 深水液压动力源压力补偿器研究[J]. 船舶工程, 2000(2): 60–67.]
- [21] Huang Haocai, Yang Canjun, Yang Qunhui, et al. Study of gas-tight deep-sea water sampling system based on pressure self-adaptive equalization[J]. Journal of Mechanical Engineering, 2010, 46(12): 148–154. [黄豪彩, 杨灿军, 杨群慧, 等. 基于压力自适应平衡的深海气密采水系统[J]. 机械工程学报, 2010, 46(12): 148–154.]
- [22] Zhang Dewei, Cheng Luowen, Zhang Shihua, et al. Denitrification performance and microbial community analysis of sulfur autotrophic denitrification filter for low-temperature treatment of landfill leachate[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2023, 11(2): 109314.
- [23] Yu Baowen. Oil-filled submersible motor material saving discussion[J]. Journal of Drainage and Irrigation Machinery Engineering, 2001, (3): 29–30. [於保稳. 充油式潜水电机节材探讨[J]. 排灌机械, 2001, (3): 29–30.]
- [24] Cai Minjian, Wu Shijun, Yang Canjun. Effect of low temperature and high pressure on deep-sea oil-filled brushless DC motors[J]. Marine Technology Society Journal, 2016, 50(2): 83–93.
- [25] Wang Hao, Cao Chen, Guo Jin, et al. Design and friction loss study of full-ocean depth oil-filled direct current motor[J]. Journal of Zhejiang University: Science A, 2022, 23(8): 587–598.
- [26] Zhang Ke, Hodge J, Chatterjee A, et al. Duplex structure of double-stranded RNA provides stability against hydrolysis relative to single-stranded RNA[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55(12): 8045–8053
- [27] Edgcomb V P, Taylor C, Pachiadaki M G, et al. Comparison of Niskin vs. *in situ* approaches for analysis of gene expression in deep Mediterranean Sea water samples[J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2016, 129: 213–222.
- [28] Ottesen E A, Marin R III, Preston C M, et al. Metatranscriptomic analysis of autonomously collected and preserved marine bacterioplankton[J]. The ISME Journal, 2011, 5(12): 1881–1895.

## Design and *in situ* Experimental Study of Multi-stage Filtration and Sampling System for Full-sea-depth Microorganisms

ZHOU Peng<sup>1</sup>, CHEN Jiawang<sup>1</sup>, HE Weitao<sup>1</sup>, LIU Shuai<sup>2</sup>, WANG Hao<sup>1,3\*</sup>

(1. Ocean College, Zhejiang University, Zhoushan 316000, China;

2. Qingdao Shipyard Deep Sea Technology Company, Qingdao 266000, China;

3. Qingdao Innovation and Development Base, Harbin Engineering University, Qingdao 266000, China)

### Abstract:

**Objective** The oceans are the origin of life and the largest gene pool on Earth. However, human exploration and research on the oceans remain very limited. Based on relevant data, only 5% of the ocean area has been explored, and merely 0.01% has been sampled. The abyssal ocean, with a depth greater than 6 000 m, accounts for 45% of the total ocean depth. The high-pressure, low-temperature, and dark ecological conditions of the abyssal zone give rise to a unique ecosystem that contains the largest microbial reservoir in the entire aquatic system, encompassing nearly 75% of the prokaryotic biomass and 50% of its production. Numerous studies demonstrate that *in situ* filtration represents the most effective approach to obtaining microbial samples from seawater. However, most existing sampling devices function only at depths shallower than 6 000 m, and very few operate reliably for extended periods in abyssal waters. This study introduces a seawater microbial sampling device applicable at all depths, featuring *in situ* filtration and preservation capabilities. The degradation of microbial RNA is effectively prevented by adding RNAlater preservation solution to the filtered container, ensuring sample quality and supporting subsequent genetic material research. The device is successfully employed for *in situ* enrichment of microorganisms at a sea depth exceeding 10 000 m in the Mariana Trench.

**Methods** The principal scheme design and detailed design of each component of the *in situ* filtration, sampling, and preservation system for abyssal microorganisms were conducted. First, a multi-stage membrane system was adopted to enhance filtration efficiency, and the inlet and outlet check valves, along with volume compensator structures, were utilized to achieve contamination-free and pressure-surge-free sampling. Second, the advantages and disadvantages of the membrane-based and cartridge-based schemes were compared, and flat filters and microporous membranes were selected as the filtration components. Then, a deep-water motor and a deep-water pump were designed for operation in abyssal environments, and an *in situ* fixed preservation structure was developed to process the collected microbial samples and improve sample quality.

**Results and discussions** The study independently designed and developed a microbial sampling system with *in situ* filtration and *in situ* preservation functions suitable for 10 000 m abyssal environments by referring to and summarizing domestic and international research on deep-sea microbial samplers. The work included the conceptual scheme and detailed design of each component. For practical application, high-pressure environment tests were performed for both the deep-water motor and the complete system, followed by field sea trials during the TS15 and TS21 voyages. The entire system was successfully tested in the field, verifying its capability to operate in 10 000 m-class abyssal environments. Compared to existing deep-sea microbial samplers worldwide, the system designed and developed in this study demonstrated the following advantages: The entire system was designed for 10 000 m abyssal operations and was capable of functioning at all sea depths; the multi-stage membrane filtration system was successfully applied in actual sea trials, and the combination of filter membranes with different pore sizes enabled the preliminary screening of microorganisms in seawater, reduced clogging in small-pore membranes, and enhanced filtration efficiency. The design of the inlet and outlet one-way valve structures and the volume compensator structure ensured that the system did not come into contact with seawater at non-target depths during the sampling process, fully achieving contamination-free and pressure-stable operation. In addition, the *in situ* fixed preservation structure injected RNAlater preservation solution into the samples immediately after filtration to effectively prevent RNA degradation during recovery and improve overall sample quality.

**Conclusions** This study develops a set of *in situ* microbial multi-stage filtration sampling devices for operation across the entire sea depth. The system primarily utilizes a multi-stage membrane structure and an *in situ* preservation structure to enable the collection of enriched, high-quality microbial samples. The plunger pump, deep-sea oil-filled motors, RNAlater syringe pumps, and other functional components are designed and developed to meet the actual working requirements. High-voltage equipment is employed to test the oil-filled motors, and current values are obtained under different pressures, providing a foundation for structural adjustment and improvement. In addition, high-pressure testing of the oil-filled motor is conducted using specialized high-pressure equipment, and the current values under varying pressures are recorded to support further optimization of the sampling device. The device was successfully deployed twice in the Mariana Trench at depths exceeding 10 000 m and effectively obtained abyssal microbial samples, establishing a reliable basis for building an abyssal microbial gene pool and supporting potential application research. Future improvements of the sampling system can focus on structural optimization and weight reduction.

**Key words:** full-sea-depth; multistage filtration; microorganism; *in situ* sampling; mariana trench

(编辑 周璇)

引用格式: Zhou Peng, Chen Jiawang, He Weitao, et al. Design and *in situ* experimental study of multi-stage filtration and sampling system for full-sea-depth microorganisms[J]. *Advanced Engineering Sciences*, 2026, 58(1): 245–252. [周朋, 陈家旺, 何巍涛, 等. 全海深原位微生物多级过滤取样装置设计与原位试验[J]. *工程科学与技术*, 2026, 58(1): 245–252.]