

BOD 光化学传感敏感膜荧光响应的研究

赵丽¹, 肖来龙¹, 林玲¹, 陈曦^{1,2*}, 王小如¹

1. 厦门大学化学化工学院化学系现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005
2. 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005

摘要 利用自行构建的 BOD 光纤传感装置对海水中 BOD 含量进行了检测, 考察了海洋耗氧菌种在四甲基硅氧烷(TMOS)、二甲基二甲氧基硅烷(DiMe-DMOS)和聚乙烯醇(PVA)包埋情况下, 对 BOD 的荧光响应行为以及耗氧菌种的加入量对 BOD 浓度的响应情况。传感膜对 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BOD 溶液测定的相对标准偏差为 1.2% ($n=6$), 响应时间为 3.2 min, 敏感膜使用寿命大于 12 个月。实际海水样品检测表明, 利用 BOD 光纤传感检测的结果与国标 BOD₅ 方法, 存在较好的一致性。

关键词 生化需氧量; 光纤传感器; 溶胶-凝胶; 荧光

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2005)12-2039-05

引言

生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)作为国际上最常用、最重要的水质有机污染指标和监测参数之一, 其传统测定方法五日生化需氧量(BOD₅)标准稀释法, 仍是目前国内外比较普遍采用的分析检测方法, 但该标准方法需要 5 天分析周期, 操作过程繁琐, 因而给环境监测带来了许多不便。1977 年 Karube^[1] 等人首次报道了用微生物固定化技术制成微生物传感器测定营养型污水的 BOD, 在日本已开始应用于工厂污水的实际测定。近年来, 我国也先后报道了 BOD 微生物传感器的研究情况^[2-5]。用微生物传感器法测定 BOD 具有快速、简便和可重复性等特点, 具有较好的应用前景。BOD 微生物传感器一般采用对有机物具有广泛降解能力、性质优良、无毒的耗氧微生物菌株作为有机污染物同化微生物, 并固定于传感敏感膜上。目前, 国内外常见的 BOD 微生物传感器大多以氧电极作为二次传感检测溶解氧浓度的变化, 检测过程需不断消耗溶解氧, 需要电解液和专用透氧膜等, 系统的长期稳定性不够理想, 同时筛选的耗氧菌种只适用于淡水环境, 这些都成为约束 BOD 传感器进一步的推广和应用。与溶氧电极相比, 荧光氧传感探头基于荧光猝灭原理构建, 检测过程不消耗氧, 也不需参比电极及电解液, 性能稳定, 便于在线连续监测。研究考察了利用四甲基硅氧烷(TMOS)、二甲基二甲氧基硅烷(DiMe-DMOS)和聚乙烯醇(PVA)为菌种的固定包埋材料制备的 BOD 荧光敏感传感膜, 比较了不同菌种和浓度对 BOD 的荧光响应行为, 利用筛选

的海洋耗氧菌种, 对实际海水样品中的 BOD 含量进行了检测。

1 实验部分

1.1 仪器

GD-1 型微光测量仪(西安瑞科电子设备有限公司), 自制样品池, 光电倍增管, Echrom98 色谱数据处理工作站(大连依利特科学仪器有限公司), WH-2 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂), UV-Vis7500 紫外-可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司), 荧光光谱测定使用日立 F-4500 荧光分光光度计, 氧和 BOD 敏感膜的表层状态利用场发射扫描电镜(FE-SEM; JSM-7400F, JEOL, Japan)检测。

1.2 试剂

实验所用分析纯硅氧烷偶联试剂正硅酸甲酯(TMOS)购自中国医药(集团)上海试剂化学公司, 二甲基二甲氧基硅烷(DiMe-DMOS)购自 Fluka(Switzerland), 聚乙烯醇(PVA)购自 Aldrich(USA), 4, 7-二苯基-1, 10-邻菲咯啉钌 $[\text{Ru}(\text{dpp})_3]^{2+}$ 由香港理工大学应用生物与化学科技系合成。其他试剂均为分析纯。实验用水为一次蒸馏水。

8 wt% PVA 水溶液: 称取一定量聚乙烯醇粉末, 用热水溶解配制成为 8% (W/V) 的 PVA 水溶液。磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)用 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 配制。

BOD 标准溶液(GGA 溶液): 葡萄糖和谷氨酸在 $106 \text{ }^\circ\text{C}$ 下烘干 6 h, 各称取 0.075 0 g, 用磷酸缓冲溶液定容至 100 mL, 其 BOD 值为 $1000 \pm 185 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

收稿日期: 2005-06-01, 修订日期: 2005-09-16

基金项目: 国家自然科学基金委员会与香港研究资助局联合科研基金和国家“863”计划海洋领域课题(2003AA635100)资助项目

作者简介: 赵丽, 女, 1975 年生, 厦门大学化学化工学院化学系工程师 * 通讯联系人

1.3 菌种及培养

海洋耗氧菌种 *Bacillus licheniformis*, *Dietzia maris* 和 *Marinobacter marinus* 取自河北科技大学环境科学与工程学院。

培养方法: 将菌种接种到盛有液体培养基的三角瓶中, 培养温度下振荡培养 24 h, 经 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心分离, 用磷酸盐缓冲溶液 3 次洗涤、分离, 获得湿菌种。储于磷酸盐缓冲溶液中备用, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存。培养液组成见表 1。

Table 1 Growth mediums and incubating conditions for microorganisms from seawater

Microorganism	Growth medium	Incubating temperature/ $^{\circ}\text{C}$
<i>Dietzia maris</i> , <i>Marinobacter marinus</i>	0.5% beef extract, 1.0% peptone, 0.1% glucose in seawater	$35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 h
<i>Bacillus licheniformis</i> (海水驯化芽孢杆菌)	0.8% beef extract, 1.0% peptone, 0.5% amylum in seawater	$35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 h

1.4 微生物膜的制备

量取一定体积的 TMOS 与 DiMe-DMOS 于 5 mL 平底反应瓶中, 振匀后加入一定体积 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl, 水浴磁力搅拌 1 h。取所得凝胶液与 8 wt% PVA 水溶液按一定比例混合, 并加入一定体积的菌液(菌液浓度, $44 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。充分振荡均匀, 在氧光敏传感膜^[6]表面均匀涂布, 并于室温通风处干燥成膜。

1.5 光纤微生物传感器工作系统及测定

BOD 光纤光化学传感装置采用单支光纤传导荧光信号。蓝色发光二极管(LED, $\lambda_{\text{max}} = 460 \text{ nm}$)作为激发光, 直接照射在样品池中的菌膜上, 响应后产生的荧光信号经过 $(585 \pm 5) \text{ nm}$ 的带通滤光片后由光纤传导进入光电倍增管。由光电倍增管输出的电流信号经微光测量仪转化为电压信号后, 通过色谱工作站转换为数字信号, 由计算机记录、分析和处理(见图 1)。为了获得更好的分辨率, 实验利用数据处理工作站的一阶导数功能, 对记录的信号进行处理, 获得一阶导数响应图谱(dI/dt , 荧光强度变化速率)。系统中 LED 与光纤呈 90° 放置, 这样可以有效消除激发光的干扰, 以实现高的测量精度和准确性。

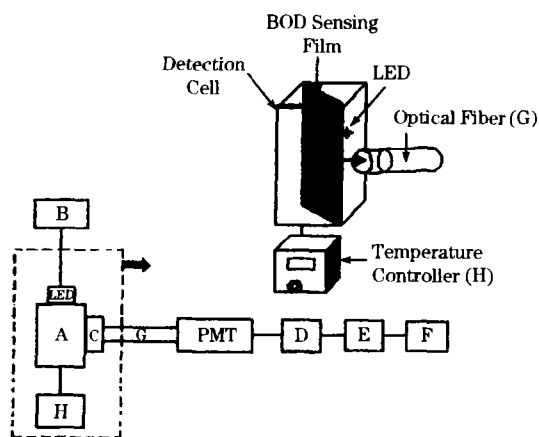


Fig. 1 System of optical fiber BOD microbial sensor

A, Sample cell; B, Power supply; C, Optical window; D, GD-1 glimmer meter; E, Echrom98 chromatogram processor; F, Computer; G, Optic fiber; H, Temperature controller; LED, Light-emitting diode; PMT, Photomultiplier tube

测量步骤: 取实验菌膜于样品池中, 空气中静置至输出一恒定数字信号。此时, 向样品池中加入一定体积的 GGA 标准溶液, 在不搅拌、不通空气和测量槽密闭的条件下, 测

定液中菌膜周围的溶解氧将被迅速地消耗, 而溶液中溶解氧来不及扩散补充, 导致菌膜周围呈现一种局部缺氧的状态, 该溶氧变化经氧光敏膜的二次传感表现为氧膜的荧光强度值逐渐升高。这种荧光强度变化速率的大小, 随测量池中有有机物浓度的不同而变化, 在一定 BOD 浓度范围内, 两者之间存在着一定的线性关系。

2 结果和讨论

2.1 耗氧菌固定方式的选择与优化

实验研究了海藻酸钠包埋、PVA 包埋、有机改性溶胶-凝胶-PVA 包埋和夹层等 4 种微生物的固定化方法。夹层法操作简单, 但微生物膜在水溶液中极易发生菌体流失, 膜的稳定性较差, 同时含菌体的微生物层与氧传感膜之间难以紧密结合, 容易在两者之间形成气泡而影响测定; 利用海藻酸钠包埋和纯 PVA 包埋的微生物膜干燥后都能很好地成型, 但在磷酸缓冲液中, 海藻酸钙会逐渐发生溶解, 而 PVA 薄膜易发生水溶胀现象, 使微生物膜脱离氧传感膜层。为了克服以上 3 种固定化方法的不足, 实验研究了利用硅酸盐掺杂 PVA 的有机改性溶胶-凝胶掺杂包埋过程, 通过优化包埋条件, 较好地克服了 PVA 溶胀问题, 获得了剩余活力高、稳定性好的微生物膜。

单纯使用四甲基硅烷(TMOS)水解、聚合的产物同 PVA 按一定比例混合包埋菌体所制得的微生物膜干燥后易于发生碎裂现象, 利用二甲基二甲氧基硅烷(DiMe-DMOS)有机改性 TMOS 能够提高微生物膜的柔韧性, 但如果 DiMe-DMOS 的加入过多时, 由 DiMe-DMOS 和 TMOS 水解、聚合所得产物的极性同 PVA 不匹配而使两者很难互溶, 造成制得的微生物膜出现相分离和凝聚现象。通过实验发现当 DiMe-DMOS 同 TMOS 的体积比为 1:1 时, 水解、聚合产物能够同 PVA 水溶液很好地互溶, 同时所制得的微生物膜均匀、柔韧, 能够牢固地粘附于氧传感膜表面, 浸泡于水中 6 个月未发现微生物膜有脱落和溶解、溶胀等现象。

溶胶-凝胶法一般使用大量的醇作为互溶剂且反应在较高的酸度下进行, 这些条件都可能导致细胞的失活。本实验所研究的溶胶-凝胶掺杂包埋法对溶胶-凝胶过程进行了如下改进: (1)起始反应液中不加入醇, 用水解生成的醇作互溶剂, 同时反应结束后敞口搅拌冷却水解产物, 使所产生的醇在菌体加入前已基本挥发; (2)前驱体采用含甲氧基的硅氧烷, 其水解、聚合产生的甲醇比其他高级醇对细胞的危害

小；(3)菌体采用磷酸缓冲液悬浮保存，加入凝胶液中时此缓冲液起到了很好的缓冲混合液酸度的效果，以维持体系的酸度在细胞适应的范围内。实验结果证明采用此改进的溶胶-凝胶过程制备的基质能较好地保持菌体的活性和长期稳定性。

2.2 敏感膜性质及对 BOD 响应的影响

传统的溶胶-凝胶基质，在材料的力学性能等方面尚有许多不足之处，如易发生弯曲、变形和开裂等现象。有机改性 sol-gel 通常是利用有机无机两相间强的化学键合作用，例如以有机硅氧烷 $\text{Si}(\text{OR})_4$ (R 为烷基或苯基) 为改性物，与四烷氧基硅烷前驱体混合制备而成。通过减少可聚合功能基团 ($-\text{OR}$)，降低基质的刚性，从而提高基质的柔韧性。因此，通过改变前驱体中 DiMe-DMOS 对 TMOS 的相对含量，可以调整氧传感膜的极性和刚性。随着 DiMe-DMOS 含量的增加， $-\text{Si}-\text{O}-$ 结构末端的羟基被甲基取代的数目增加，其末端羟基数目减少，溶胶-凝胶膜的极性随之减小，从而为溶解氧的响应提供了一个更为灵敏的环境。前期的研究表明，当 DiMe-DMOS 对 TMOS 体积比为 1.6:1 时，氧对敏感膜的荧光有最大的猝灭比^[7]。从反应式 1 (见 Scheme 1) 可以看出，

以 $\text{Si}(\text{OR})_4$ 为前驱体的有机改性 sol-gel 在水解过程中，除形成线状的 $\text{HO}-[\text{Si}(\text{Me})_2-\text{O}-\text{Si}(\text{Me})_2]_n-\text{OH}$ 外^[8]，TMOS 本身也会聚合形成结构紧密的 SiO_2 。图 2A 中可以看出，致密结构的 SiO_2 在氧敏感膜表层呈现出一些直径为 $5\ \mu\text{m}$ 左右的突出点。前驱体中 TMOS 含量较高时，将提高 TMOS 的自聚合程度，导致生成 SiO_2 量的增加，降低敏感膜的机械性能。研究表明，氧膜的厚度影响 BOD 的响应值，虽然较薄 ($< 5\ \mu\text{m}$) 的氧敏感膜有利于提高响应速度，减少响应时间，但由于较薄的敏感膜对荧光指示剂的包埋量有限，无法获得较高荧光强度的变化值，影响检测限的提高。当氧敏感膜的厚度增加至 $40\ \mu\text{m}$ 时，BOD 膜的响应时间增大至 10 min。实验选用氧敏感膜的厚度为 $20\ \mu\text{m}$ ，此时 BOD 传感膜的响应时间为 3.2 min。从图 2B 可以看出，DiMe-DMOS、TMOS 和 PVA 共聚体在活性包埋耗氧微生物后，以网状结构覆盖在氧敏感膜上，其厚度约为 $1\ \mu\text{m}$ 。网状边缘的大量突起，增加了微生物膜的比表面积，提高了耗氧微生物与待测 BOD 的同化作用，提高了检测的灵敏度。

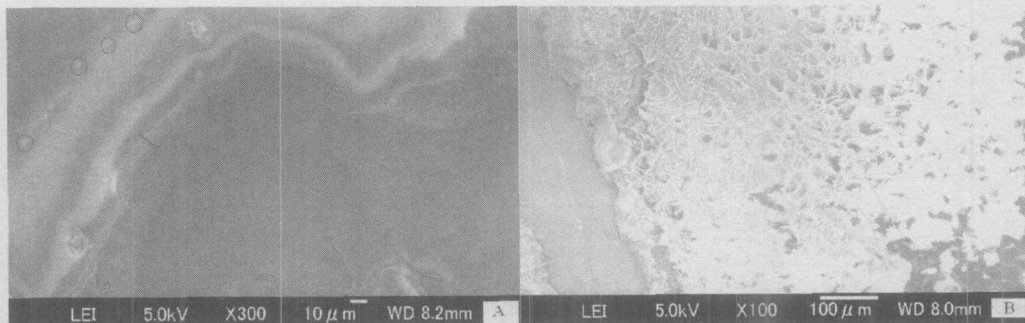
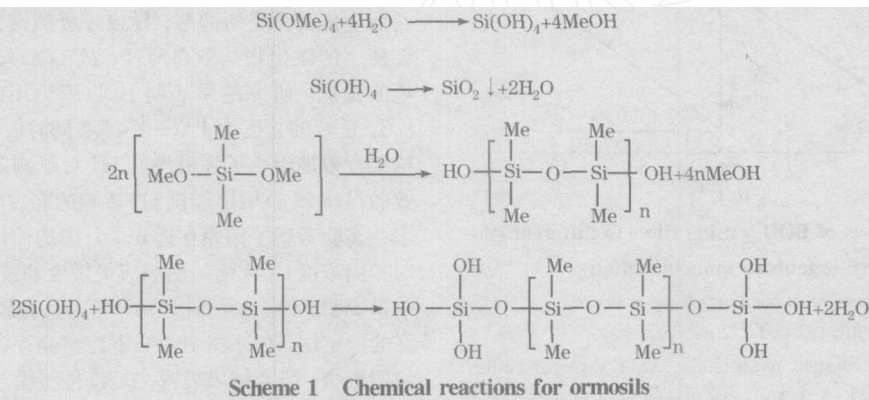


Fig. 2 FE-SEM images of oxygen sensing film (A) and an PVA/ormosils on oxygen sensing film (B)

2.3 耗氧菌包埋量与线性范围

实验考察了微生物膜中细菌包埋量不同时，BOD 微生物传感膜对不同 BOD 值 GGA 液的响应特性。图 3 表示微生物膜包埋 0.1 mL (耗氧微生物干重 4.4 mg，图 3a) 和 0.2 mL 菌悬液时的响应情况。当菌悬液用量为 0.1 mL 时，微生物膜对高浓度的 GGA 液的响应在 BOD 值 $5 \sim 80\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间呈

现良好的线性关系，线性方程为： $y = 2.126x + 13.547$ ，线性相关系数为 0.988，而对低浓度 GGA 液的响应缓慢，当 BOD 浓度为 $5\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，测定时间为 10 min 左右。当菌悬液用量为 0.2 mL 时，微生物膜对 GGA 液的响应如图 3b 所示，在 BOD 值 $0.2 \sim 40\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间呈现良好的线性关系，线性方程为： $y = 5.2587x + 8.7313$ ，线性相关系数为

0.992。当 BOD 浓度为 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 测定时间为 4 min 左右 (见图 4)。由此可见, 微生物膜中细菌的包埋量不同时, 其对有机物响应的线性范围与响应速度都有所不同。当细菌包埋量小时, 微生物膜对 BOD 值的线性响应较宽, 适用于高有机物含量样品的 BOD 值测定, 而对较高数量耗氧菌包埋时, 对低浓度 BOD 有较好响应, 同时响应时间较短, 但线性响应范围减少。由于测定液中溶解氧主要来源于大气, 其浓度只有 $9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右, 当微生物膜中细菌包埋量大, 而测定液中有机物含量又高时, 微生物膜周围的溶解氧将被迅速耗尽, 膜中微生物来不及达到该有机物浓度下应有的新陈代谢状态, 从而使微生物膜不适合于高浓度有机物含量的测定。因此, 继续增大微生物膜中菌体包埋量, 虽有利于提高微生物膜对低浓度有机物响应的灵敏度, 但线性范围变窄, 在实际应用中, 可根据测定的需要选择适宜的菌体包埋量。

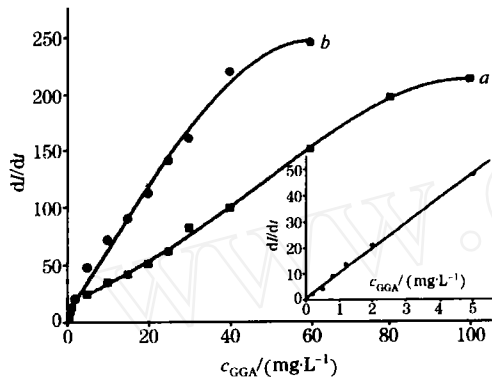


Fig. 3 Linear responses of BOD sensing films to different concentration micro-organisms immobilization

Film immobilized with microorganisms solution:
0.1 mL (a) and 0.2 mL (b)

Experimental conditions: constant temperature, $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$; pH of buffer, 7.4; concentration of NaCl, 3.2 %; Inset: linearity of B at low BOD concentration

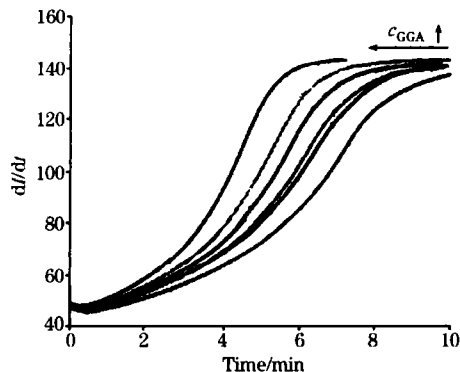


Fig. 4 Typical response of the BOD sensor when exposed to a standard BOD solution

Experimental conditions: same as those in Fig. 3, concentration of BOD, 0, 0.2, 0.5, 0.8, 1.0 and $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GGA, concentration increasing sifts from right to left

2.4 BOD 传感膜的响应特性

BOD 传感膜一般于冰箱中 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷藏储存, 此时固定于

敏感膜上的细菌处于休眠状态, 活性较低。因此菌膜进行测量之前需放置于一定浓度的 GGA 溶液中进行活化。活化浓度不同, 细菌恢复的活性不同, 菌膜的响应速度也不同。研究表明, 随活化浓度升高, 响应信号升高, 在 GGA 浓度达 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之后上升趋势趋于平缓, 而响应时间随活化浓度升高而降低, 在 GGA 浓度 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后也趋于平缓。实验选择 $c_{\text{GGA}} = 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最佳活化浓度。

测定温度影响 BOD 敏感膜的响应。由于温度是影响微生物新陈代谢的重要因素之一。当微生物处于适合的温度时, 有促进呼吸、增强微生物活性的作用; 不适宜的温度不仅可以使微生物的活性减弱, 还可以导致细菌形态和代谢的改变, 甚至使微生物的蛋白质凝固变性而导致死亡。随温度的升高, 微生物呼吸加快, 活性增加, 相应菌膜的响应活性和灵敏度也增加, 这有利于菌膜在 BOD 快速测定中的应用。但过高的测定温度将降低 BOD 膜的使用寿命。综合考虑响应活性、响应时间和实际实验条件, 选择 $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 为实验工作温度。

微生物的活性也受到外部环境 pH 和盐度的影响。当环境中的 pH 值和盐度超过或低于其适于生长的适宜范围时, 它的生长就会受到抑制, 导致呼吸减缓, 活性降低。由于研究使用的微生物均取自海洋, 故 BOD 敏感膜适用于海洋环境的检测。研究表明 BOD 膜适用的 pH 范围为 6.0~8.5, 适合的盐度为 1.0~3.4%。同时极性较小的改性 sol-gel 构架有效地阻止了强极性的 H^+ 对氧测定的影响, 从而能有效的提高 BOD 敏感膜抗 pH 影响的能力。

实验考察了菌膜在近 6 个月中的使用情况。结果表明其对相同浓度 GGA 溶液的响应灵敏度的波动在 5% 以内。测定结果说明, 传感膜活性保持较好, 具有较长的使用寿命和良好的稳定性, 在冰箱中 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷藏储存, 可保持 1 年以上的使用寿命。研究表明, BOD 传感膜对 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BOD 溶液测定的相对标准偏差为 1.2% ($n = 6$), 响应时间为 3.2 min。

利用 BOD 敏感膜进行了厦门大学周边海域实际海水样品的检测 (见表 2), 结果表明在生活区域的采样点 1, 2 和 3 的 BOD 含量比非生活区域采样点 4 的海水样品高, 说明生活废水的排放引致海水中有有机物浓度的增加, 退潮时的 BOD 含量较涨潮时高, 进一步证明有机物污染来源于内源排放。分析 BOD 与 BOD_5 的结果可以进一步发现, 利用 BOD 敏感膜获得的数据接近与国家标准 BOD_5 方法的测定结果, 但存

Table 2 BOD determination results of seawater around xiamen university ($n = 5$)

sampling	High tide		Refluent	
	BOD $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	BOD_5 $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	BOD $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	BOD_5 $/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
Place 1	3.8 ± 0.4	4.0 ± 0.4	5.1 ± 0.4	5.2 ± 0.5
Place 2	3.7 ± 0.5	3.8 ± 0.4	4.3 ± 0.5	4.7 ± 0.3
Place 3	3.2 ± 0.3	3.3 ± 0.3	4.4 ± 0.4	5.1 ± 0.5
Place 4	2.5 ± 0.2	2.9 ± 0.3	4.5 ± 0.5	4.7 ± 0.3

Sampling date, March 28, 2005

在一定的系统负偏差,其最大负偏差为-16%。这是由于少量难溶解有机物在 BOD 敏感膜测定过程中,无法在短时间内被膜中的微生物所同化,而在 BOD₅ 方法中,经过 5 天的分解或溶解,这些难溶有机物能够被微生物所同化,从而导致 BOD₅ 方法获得的数据高于 BOD 传感膜方法的结果。

3 结 论

实验结果表明在以海洋筛选耗氧菌为工作菌株,以光化

学氧传感膜为二次传感,采用有机改性溶胶-凝胶-PVA 包埋技术活性包埋耗氧菌种,为较理想的活性包埋耗氧菌种的方式。探讨了改性溶胶-凝胶-PVA 的表观状态对 BOD 敏感膜响应的影响。研究工作制备了机械性能良好、活性较佳、重现性较好的 BOD 微生物膜。菌膜荧光强度变化速率最大值与测定液中 BOD 值在一定范围内呈良好的线性关系。利用所制备的敏感膜进行了实际海水中 BOD 的检测,为光化学 BOD 微生物传感器的研究与应用提供了一定的基础。

参 考 文 献

- [1] Karube I, Matsunaga T, Mitsuda S, et al. *Biotechnol. Bioeng.*, 1977, 19: 1535.
- [2] Li H Z, Zhang Y, Shi H C, Wang J L. *Marine Environmental Science*, 2002, 21: 14.
- [3] Jia J B, Tang M Y, Chen X, et al. *Biosens. Bioelectron.*, 2003, 18: 1023.
- [4] Dai Y J, Lin L, Li P W, et al. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 2004, 15: 607.
- [5] DAI Yuan-jing, ZHONG Zhen-ming, CHEN Xi, et al(戴媛静,钟振明,陈曦,等). *Acta Scientiae Circumstantiae(环境科学学报)*, 2003, 23: 683.
- [6] Chen X, Zhong, Z M, Li Z, et al. *Sens. and Actuators B*, 2002, 87: 233.
- [7] CHEN Xi, LI Zhen, JIANG Ya-qi, et al(陈曦,李真,蒋亚琪,等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2002, 22(5): 796.
- [8] Mackenzie J D, Chung Y J, Hu J. J. *Non-Cyst. Solids*, 1992, 148: 271.

Fluorescent Characters of Optical BOD Sensing Film

ZHAO Li¹, XIAO Lai-long¹, LIN Ling¹, CHEN Xi^{1, 2*}, WANG Xiao-ru¹

1. The Key Laboratory of Analytical Sciences of MOE and Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, China
2. State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract We characterized an optical BOD sensing film used to immobilize three kinds of microorganisms from seawater. The sensing film for BOD measurement consists of an optical oxygen sensor and the microorganisms immobilized on poly(vinyl alcohol) ormosils matrix. The fluorescent responses of the BOD sensing film were obviously affected by the thickness of the oxygen film and the concentration of microorganisms in the film. Some other experimental conditions, such as pH, measurement temperature, and the concentration of sodium chloride, were studied. BOD values estimated by this optical BOD sensing film correlate well with those determined by the conventional BOD₅ method for seawater samples.

Keywords BOD; Optical fiber sensor; Sol-gel; Fluorescence

(Received Jun. 1, 2005; accepted Sep. 16, 2005)

* Corresponding author