

基于荧光猝灭原理的光纤化学传感器 在线监测水中溶解氧¹⁾

李 伟 陈 曦 庄峙厦 孙大海 王小如

(厦门大学化学化工学院现代分析科学教育部重点实验室,厦门,361005)

摘 要 利用氧分子对芘丁酸的荧光具有猝灭作用的特性,构造出基于荧光猝灭原理的光纤化学传感器。就用于水中溶解氧在线监测的光纤光谱仪的搭建、传感探头的设计及传感膜的制作进行了探索,并对传感器的响应性能进行了考察。结果表明以三醋酸纤维素为固相支持剂、邻苯二甲酸二辛酯为增塑稳定剂、芘丁酸为分析物识别器制备的传感膜对溶解氧的响应具有良好的可逆性,稳定性,较快的响应时间和较长的使用寿命。与标准法相对照,用本仪器系统测定了不同盐度的人工海水中的溶解氧浓度,两种方法在不同浓度水平下的溶解氧测定值均无显著性差异。本法的日内和日间 RSD 在 2.4%~6.1%之间。

关键词 光导纤维;化学传感器;氧传感器;溶解氧

中图分类号 O 657.38, TP 212

0 引言

近年来,光纤氧传感器的研究异常活跃,特别是基于一些有机染料、多环芳烃及过渡金属的络合物的荧光猝灭原理研制的氧传感器备受人们的关注^[1~3]。这种氧传感器具有许多独特的优点,包括不耗氧,无须参比电极,没有电磁场的干扰等。光纤氧传感器克服了 Winkler 滴定分析法和 Clark 电化学探头法的不足,已成为用于在线监测水中溶解氧浓度的分析仪器研究与开发的热点。

试剂的固定化方法是构建光纤氧传感器的关键,它直接影响着传感器对氧响应的各项性能指标。Ishiji 等^[4]选择硅酮作为固相支持剂,与芘丁酸结合构成传感层,测定气相中的氧分压。结果表明,硅酮薄膜对氧具有良好的通透性,但因其不能控制芘丁酸在水中的泄露,尚不能用于溶解氧的测定。本文作者曾选用三醋酸纤维素为固相支持剂,磷酸三丁酯为增塑稳定剂,包埋芘丁酸用来识别芳香硝基类药物,通过控制传感膜的极性和测试条件,降低传感膜对溶解氧的响应灵敏度,减少其对分析物测定的影响,同时也保证了传感膜在溶液中的稳定性和对分析物响应的灵敏性^[5,6]。由此可见,通过优化传感膜配方,可以改变传感膜对分析物响应的选择性,使其满足测定对象的需要。

本文在前述工作的基础上,为提高传感膜对氧的通透性,选用碳链较长的邻苯二甲酸二辛

1) 国家“九五”科技攻关(96-A23-02-08)和国家“八六三”高技术计划海洋领域(818-Q-09)资助项目

收稿日期:2000-07-13;修回日期:2000-10-23

酯为增塑稳定剂,仍然以三醋酸纤维素为固相支持剂,茈丁酸为分析物识别器,利用氧分子对茈丁酸的荧光具有猝灭作用的特性,构造出基于荧光猝灭原理的光纤氧传感器。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

石英分支光纤(北京欧普特科技有限公司);970 型荧光分光光度计(上海分析仪器总厂);LZ-2000 型流动注射分析仪(肇发自动分析研究所)。

茈丁酸和三醋酸纤维素购自美国 Aldrich Chemical 公司;邻苯二甲酸二辛酯购自沈阳市新西试剂厂;其他试剂均为分析纯,水为双蒸水。

1.2 系统组成与响应原理

石英分支光纤的两个支端($D = 2.0 \text{ mm}$)分别耦合在荧光分光光度计的光源和检测器的光通道上;总端($D = 4.0 \text{ mm}$)与自制流通池($10 \text{ mm} \times 1.6 \text{ mm i. d}$)连接,化学传感膜($D = 4.0 \text{ mm}$)被固定在与光纤端部相对应的位置,用聚四氟乙烯管($D = 1.6 \text{ mm}$)将流通池和蠕动泵相连。从采样端至流通池出口的体积为 0.54 mL ,液体的流速为 2.5 mL/min (图 1)。溶解氧随载液流经光纤探头时,引起化学传感膜荧光强度的减弱,这一现象可由 Stern-Volmer 方程定量表达:

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q], \quad (1)$$

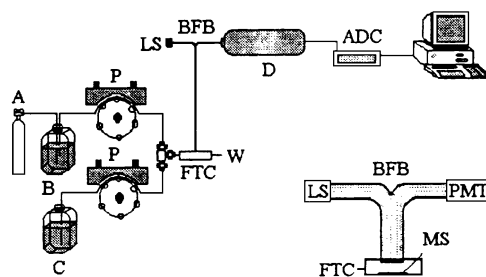
式中 F_0 与 F 分别为体系在无氧和有氧状态下测得的荧光强度, K_{sv} 称为 Stern-Volmer 常数, $[Q]$ 为溶解氧的浓度。Stern-Volmer 方程式表明, F_0/F 与溶解氧浓度呈线性关系。荧光信号经 PMT 检测、信号放大器放大、A/D 转换,传输到 PC 机;由计算机实现仪器系统所具备的实时数据的采集和处理,以及结果的显示等功能。

调整两个蠕动泵的转速,改变由氧气或空气饱和的载液和由氮气饱和的载液的流量比,即可获得不同浓度的溶解氧溶液。

为模拟各种试验条件,有效地控制环境中的氧气对模拟样品中溶解氧浓度的影响,将传感器耦合于流通池系统中,其具体作用有:(1) 由于是封闭体系,测定过程中模拟样品的溶解氧浓度不受大气中氧气的干扰;(2) 便于进行不同浓度溶解氧标准溶液的配制与测试;(3) 模拟水体冲洗过程,在流动状态下考察传感探头的各项性能;(4) 在实验室条件下,防止因光纤在试杯中相对位置的变动而造成的信号变异;(5) 只需在流通池池体周围营造光纤化学传感器的闭光环境,而不必对整个测定体系采取闭光措施;(6) 便于清洗与溶液间的切换。

1.3 传感膜的制备与安装

采用溶剂挥发铸膜法制备传感膜。将适量



A. 氮气; B. 氮气饱和的载液; C. 空气饱和的载液;
D. 荧光分光光度计; LS. 光源; BFB. 分支光纤;
ADC. 模数转换器; P. 蠕动泵; FTC. 流通池;
MS. 膜传感器; PMT. 光电倍增管

图 1 用于水中溶解氧在线监测的光纤化学传感器仪器系统

Fig. 1 A circulatory system for on-line monitoring of dissolved oxygen in water using a fiber optic chemical sensor

的三醋酸纤维素,邻苯二甲酸二辛酯和荧光分子探针芘丁酸溶于四氢呋喃中,将其倾倒入于表面平滑的玻璃槽中,待溶剂挥干后,即得厚度为 0.01 mm 的透明传感膜。将制好的传感膜分割成小片($D = 4$ mm),取其中一片固定在流通池中与光纤探头相对应的位置。

1.4 标准曲线的建立

改变由空气饱和的载液和由氮气饱和的载液的流量比,配制不同浓度的溶解氧标准溶液。测定氮气饱和的载液流经传感膜的荧光强度 F_0 与各溶解氧浓度下荧光强度 F 的比值,根据最小二乘法原理求得线性回归方程,建立响应信号 F_0/F 与溶解氧浓度 $[Q]$ 的定量分析模型。

1.5 测定方法与分析结果的预报

在膜内分子探针最大的激发波长(342 nm)和发射波长(397 nm)下,启动蠕动泵,在 60 r/min 转速下传输溶液,样品即不间断的经过传感器,由计算机记录并显示时间序列或溶解氧浓度序列下的荧光强度值;由测定温度下的定量分析模型给出分析结果。

1.6 人工海水的配制

按文献^[7]称取一定比例的 NaCl 和 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$,用蒸馏水溶解并稀释至 1 000 mL,配制不同盐度的人工海水,贮于聚乙烯瓶中。

2 结果与讨论

2.1 传感膜配方的优选

基于荧光猝灭原理的氧传感膜,通常由荧光分子探针,固相支持剂和增塑稳定剂组成。增加分子探针的量将有助于提高响应的灵敏度,但过高会导致荧光的自熄灭;适当减少支持剂的用量,降低膜的厚度,可增加膜的通透性,缩短响应时间;在保证传感膜具有一定柔韧性的前提下,可通过改变增塑剂的种类和用量来影响传感膜的响应特性。选择憎水性较强的增塑剂可降低传感膜的亲水性,提高对氧分子的通透性。在上述设计思想的支配下,本文选择邻苯二甲酸二辛酯为膜的增塑剂;为寻找应用芘丁酸传感膜进行溶解氧测定的最佳配方,运用正交试验法进行传感膜配方的优选。考察的指标是传感膜在氮气饱和的水溶液和空气饱和的水溶液中的荧光强度比及其荧光强度的稳定性,指标越大越好。考察的因素包括分子探针,固相支持剂和增塑稳定剂的用量,各选取 4 个水平,选用正交表 $L_{16}(4^5)$ 安排试验。通过粗筛和精选步骤,进行 21 种膜配方的对比试验,本文获得了较优的传感膜配方,并以此制作用于本仪器系统的氧传感膜。

2.3 可逆性、稳定性及响应时间

用于在线监测的传感器必须对分析物有可逆、稳定和快速的响应,在 28 °C 恒温条件下,用本仪器系统测定浓度从氮气饱和水溶液(荧光强度 F_{N_2})到空气饱和水溶液(荧光强度 F_{air})交替变化时氧传感膜对溶解氧的响应曲线(图 2)和响应信号(F_{N_2}/F_{air})值。响应信号的 RSD 为 0.7% ($n = 6$);从氮气饱和的水溶液到空气饱和的水溶液响应达到稳态值的 95% 所需的时间为 5 s;从空气饱和的水溶液到氮气饱和的水溶液响应达到稳态值的 95% 所需的时间为 25 s。在连续流动状态下,观察氧传感膜对蒸馏水中溶解氧的响应信号。结果表明,96 h 内荧光强度除有轻微波动外(RSD = 8%, $n = 24$),未出现明显衰减;使用 3 个月后,传感膜的荧光强度 F_{N_2} 和 F_{air} 同使用初期相比均下降了 14%,响应信号(F_{N_2}/F_{air})未发生明显变化。上述结果表明氧传感膜对溶解氧的响应具有良好的可逆性,稳定性,较快的响应时间和较长的使用寿命。

2.4 响应曲线及其线性

配制浓度范围在 $0.00 \sim 37.23 \mu\text{g}/\text{mL}$ 区间内的溶解氧溶液。测定氧传感膜对溶解氧的响应曲线以及由氮气饱和的载液流经传感膜的荧光强度 F_0 与各溶解氧浓度下荧光强度 F 的比值,共测定 6 次。根据最小二乘法原理求得以下响应信号 F_0/F 与溶解氧浓度 $[Q]$ 的线性回归方程:

$$F_0/F = 1.090 + 0.150[Q], r = 0.9956. \quad (2)$$

式中截距和斜率在 95 % 水平上的置信区间分别为 $1.090 \pm 0.138, 0.150 \pm 0.013$ 。结果表明,在测定的浓度范围内,响应信号与浓度间存在良好的线性关系。这一范围覆盖了在大气中水中溶解氧的浓度范围 ($0.00 \sim 15.9 \mu\text{g}/\text{mL}$)。当信噪比为 3 时,得此方法的最低检出限为 $0.03 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.5 干扰因素考察

配制按文献^[8]报道的标准海水主要离子浓度放大 1 倍后的样品溶液、盐度在 $0 \sim 49$ 范围内的人工海水,以及 pH 在 $1 \sim 13$ 范围内的缓冲溶液,作为本法干扰因素考察的分析对象。用氧传感器测定经氮气饱和后上述溶液的荧光强度 F 和经氮气饱和后蒸馏水的荧光强度 F_0 ,共测定 6 次,用 t -检验法进行 F 与 F_0 的比较。结果表明,在试验的浓度范围内,上述考察对象对氧传感器用于水中溶解氧的响应均无显著性干扰。

2.6 方法的可用性试验

将本法与国标法^[7]相比较,以确证本法的可用性。采集不同盐度的人工海水流经氧传感器时的荧光强度值,由标准曲线回归方程预报溶解氧的浓度。作为标准对照,每个样品中溶解氧的浓度也同时用 Winkler 法给出。结果表明,本法与国标法测得的结果之间不存在显著性差异。本法的日内和日间 RSD 在 $2.4\% \sim 6.1\%$ 之间,满足在线监测对分析方法的要求。

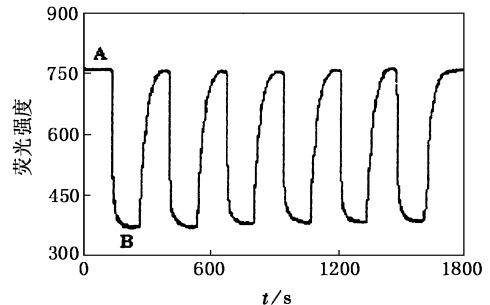
3 结 论

为提高光纤氧传感器对溶解氧的识别能力,本文选择了以荧光分子探针茈丁酸为主体的化学传感膜用于对水中溶解氧的响应,通过优化传感膜配方,使该传感器的各项性能指标达到了预期目标。进一步寻找激发光谱在可见区范围、对氧具有良好响应特性的荧光分子探针,以便减小光源的体积,实现整体仪器的微型化是今后本课题的努力方向。

值得一提的是,本文将 FOCS 耦合于流通池系统中,其目的在于控制试验条件,以便进行样品测试的方法学研究。在现场测试中,可直接将 FOCS 探头插入水体,进行溶解氧的原位监测。

参 考 文 献

- 1 Chan M A, Lawless J L, Lam S K, et al. Fiber Optic Oxygen Sensor Based on Phosphorescence Quenching of Erythrosine B Trapped in Silica-gel Glasses. *Anal Chim Acta*, 2000, 408: 33 ~ 37



A. 氮气饱和水溶液; B. 空气饱和水溶液

图 2 浓度交替变化时光纤氧传感器对溶解氧的响应曲线

Fig. 2 Short-term repeatability of the fluorescence intensity value for fiber optic oxygen sensor

- 2 Choi M M F, Xiao D. Single Standard Calibration for An Optical Oxygen Sensor Based on Luminescence Quenching of A Ruthenium Complex. *Anal Chim Acta*, 2000, 403: 57 ~ 65
- 3 Chuang H, Arnold M A. Linear Calibration Function for Optical Oxygen Sensors Based on Quenching of Ruthenium Fluorescence. *Anal Chim Acta*, 1998, 368: 83 ~ 89
- 4 Ishiji T, Kaneko M. Photoluminescence of Pyrenebutyric Acid Incorporated into Silicone Film as A Technique in Luminescent Oxygen Sensing. *Analyst*, 1995, 120: 1 633 ~ 1 638
- 5 陈坚, 李伟, 阎超, 等. 基于多猝灭响应原理的 PBA 光纤化学膜传感器的性能和应用研究. *中国科学(C 辑)*, 1997, 27: 69 ~ 75
- 6 Li W, Chen J. Continuous In-vivo Monitoring of Metronidazole in Cerebrospinal Fluid by A On-line Flow-cell Fiber-optic Chemical Sensor System. *Anal Chim Acta*, 1996, 331: 103 ~ 109
- 7 国家技术监督局. 中华人民共和国国家标准 GB12763.4-91, 1991: 11 ~ 13
- 8 樊邦棠. 环境化学. 杭州: 浙江大学出版社. 1991. 75 ~ 81

On-line Monitoring of Dissolved Oxygen in Water by a Fiber-optic Chemical Sensor Based on Fluorescence Quenching

LI Wei CHEN Xi ZHUANG Zhixia SUN Dahai WANG Xiaoru

(The Key Laboratory of Analytical Sciences of MOE and Department of Chemistry,
Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract A novel circulatory system for on-line monitoring of dissolved oxygen that makes use of a fiber-optic chemical sensor is presented. An oxygen sensitive optode was combined with a membrane onto which was immobilized pyrenebutyric acid as a fluoroprobe, the membrane was composed of cellulose triacetate as a polymer and di-(2-ethyl hexyl)- σ -phthalate as a plasticizer. The dissolved oxygen in water was determined via quenching of the fluorescence of pyrenebutyric acid. The optode shows a satisfactory linear response for the dissolved oxygen in water ($r = 0.9956$, $n = 6$). The relative standard deviations were 2.4% ~ 6.1%. The detection limit was 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($S/N = 3$). The exposure time and recovery time of the optode membrane are 5s and 25s respectively. The reversibility of the fluorescence signal was evaluated by alternate measurements in air saturated water and nitrogen-purged water. The relative standard deviation ($n = 6$) were found to be 0.7%. The fluorescence intensity of the membrane in contact with flowing water was recorded over a period of 96 h. From fluorescence intensity values taken every 4 h ($n = 24$) a RSD of 8% was obtained. After 3 month, the fluorescence signal of the membrane had decreased by 14%. The decrease may be due to washing out of fluoroprobe, but this was not an obstacle to its further use; the quantitative information (F_0/F) did not change significantly, where F_0 and F are the fluorescence intensities in the absence and in the presence of oxygen, respectively. The sensor has good reproducibility and long-term stability. The interference was investigated and the selectivity of method in seawater was affirmed by a conventional method.

Key words fiber optic; chemical sensors; oxygen sensor; dissolved oxygen