

文章编号 1004-924X(2015)增-0000-08

准确测量微藻生物量的塑料光纤倏逝波传感器

刘洋, 钟年丙*, 陈明, 邱思炜

(重庆理工大学现代光电检测与仪器重庆市重点实验室, 重庆 400054)

摘要:为了准确测量微藻生物量,研制了新型倏逝波传感器。首先,采用研磨法制备了两根D形光纤,对D形区域进行升温-降温循环水浴处理后,将处理后的D形光纤制备成U形;然后,将其中一根U形光纤标记为传感器传感臂,用于测量藻液中细胞和液相变化信息;在另一根U形光纤表面包裹一层混合纤维素酯多孔微藻滤膜并标记为传感器参考臂,用于测量藻液中液相变化信息;最后,利用传感臂和参考臂构成双探针U形塑料光纤倏逝波生物量传感器。建立了传感器测量理论模型,测试了传感器性能参数及对生物量的响应特性。研究表明:传感器输出信号不受藻液中液相浓度及成分变化的影响,只与微藻生物量有关。该传感器能准确测量低浓度和高浓度微藻生物量,对于生物量为0~598.998 mg/L及吸光度($OD_{680\text{ nm}}$)为0~2.986的蛋白核小球藻,传感器测量值与拟合值之间的最大相对误差为2.46%,相对误差均值为1.28%。

关键词:塑料光纤;光纤传感器;倏逝波传感器;双探针;微藻生物量

中图分类号:TN253 文献标识码:A doi:10.3788/OPE.20152313.0000

Plastic optical fiber evanescent wave sensor for accurate measurement of microalgae biomass

LIU Yang, ZHONG Nian-bing*, CHEN Ming, QIU Si-wei

(Chongqing Key Laboratory of Modern Photoelectric Detection Technology and Instrument,
Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China)

* Corresponding author, E-mail:zhongnianbing@163.com

Abstract: A plastic optical fiber sensor with double U-shaped probes (i. e. the sensor and reference probes) was created to accurately measure microalgae biomass. Firstly, two D-shaped fibers were created by a grinding method. The D-shaped fibers were subjected to numerous rounds of heating-cooling treatment to obtain U-shaped ones. One of the prepared U-shaped fibers was employed as the sensing probe and to sense the algal cells and changes in the liquid-phase (concentration and composition), and the other prepared U-shaped fiber coated with a hydrophilic mixed cellulose ester membrane was used as the reference probe to separate the liquids from the cells and to measure the liquid concentration and composition. Furthermore, the plastic optical fiber sensor with double U-shaped probes was implemented based on the sensing probe and the reference probe. A theoretical model was established to examine the performance parameters of the probes and the response properties of the sensor for the microalgae biomass. The measuring results show that the output signal of

收稿日期:2015-06-16;修订日期:2015-07-08.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 51406020)

the prepared sensor is a function of the biomass and is not affected by changes in the liquid-phase composition or concentration. The developed sensor can accurately measure the low and high level biomasses. When the biomass of the *Chlorella pyrenoidosa* in the range of 0 – 598.998 mg/L (the absorbance at OD680 nm in the range of 0 – 2.986), the maximum relative error between the fitted curve and the experiment results is 2.46%, and the relative error mean is 1.28%.

Key words: plastic optical fiber; optical fiber sensor; evanescent wave sensor; double probe; microalgae biomass

1 引言

光合微藻是一种在光能驱动下,利用 CO_2 和水合成有机物进行生长的低等植物,其种类繁多、分布广泛,具有光合速率高、繁殖快、环境适应性强等优点^[1]。同时,微藻的生物量大、脂质含量高,还是制备生物质液体燃料的良好材料^[2]。因此,光合微藻是集生物能源、生物固碳和氮磷废水处理等多种功能于一体,在国际上被认为是一种最具潜力的碳减排方法和可再生能源^[3]。影响微藻降解 CO_2 光生物反应器降解性能的主要因素包括微藻生物量、离子浓度、光照条件及温度等^[4]。其中,生物量是影响悬浮培养微藻光生物反应器 CO_2 降解性能的最主要因素之一^[5]。因为低生物量藻液虽有利于底物、产物和光能的传输,微藻细胞活性高,但是由于生物量小, CO_2 降解效率低;而生物量高的藻液虽然生物量大,但藻液色素高,导致光衰减严重,远离光源区为暗区,微藻细胞活性低,同样导致 CO_2 降解效率低。因此,实时准确地获取反应器内的微藻生物量信息对提高微藻降解 CO_2 的效率尤为重要。

目前,微藻生物量的测量主要有离线测量和在线测量。离线测量主要有干重法和吸光度法,其共同缺点是测量过程中需从反应器内取出样品,取样过程中极易引入杂菌而污染反应器,且不易实施自动化控制。干重法虽测量结果准确,但耗时;吸光度法测量操作简单,但是不能测量生物量高的藻液,即要求藻液吸光度小于 1,且测量结果受藻液中液相成分及浓度(色素、底物及产物成分和浓度)的影响显著,测量结果准确度低。在线检测法主要有电阻抗法、电容率频谱法及光纤法等^[6-8]。其中,光纤法能够实现反应器内生物量浓度的在线原位测量,同时光纤传感器因具有微结构、耐腐蚀、抗电磁干扰、远距离传输等优点而

成为最有前途的一种方法。但目前关于微藻生物量光纤测量方法的研究较少,多数研究集中在细菌生物量浓度光纤测量上。文献[9]报道了一种光纤衰减全反射传感器,它通过测量局部菌悬液的浓度估计反应器内的生物量,精度较低,且传感器探头体积大;更为重要的是在测量过程中未考虑菌悬液中液相浓度及成分变化对传感器输出信号的影响,传感器测量结果的准确性和重复性较低。Zibai 等^[10]采用锥形光纤对细菌生长情况进行了在线监视,由于采用的是单通隐失场吸收方式,传感器灵敏度低;同样没有考虑培养基浓度变化对传感器输出信号的影响,因此传感器测量结果的准确性和重复性较低。因此,探索一种能消除液相环境变化信息,实现对生物量准确测量的光纤传感器十分必要。

塑料光纤由于具有易加工、弯曲性能好、直径大、操作方便、价格低廉、便于连接等优点,已广泛应用于传感、通信及医学等领域^[11-13]。因此,在现有石英和塑料光纤传感器的基础之上^[8-10,14],探索一种价格低廉、制作方便且便于与光源直接耦合的塑料光纤微藻生物量传感器是适应科学发展和工程实际应用需要的。本文为了准确测量微藻生物量,利用塑料光纤研制了双探针 U 形微藻生物量光纤倏逝波传感器,传感器由传感臂和参考臂组成。传感臂敏感区用于感知藻液中微藻细胞和液相变化的信息;参考臂敏感区表面包裹一层混合纤维素酯多孔藻细胞滤膜,用于感知藻液中的液相变化信息。然后在此基础上建立了传感器测量的理论模型,测试了传感探头(传感臂和参考臂)的传输光谱,参考臂对葡萄糖溶液的响应时间,传感探头对葡萄糖溶液的响应特性及传感器对微藻生物量的响应特性。

2 实验材料及系统

2.1 光纤材料及传感探头

实验用光纤为阶跃形塑料光纤(江西大圣塑料光纤有限公司),纤芯、包层和保护层材料分别为聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、氟树脂和黑色聚乙烯(PE),纤芯折射率为 1.49,数值孔径为 0.5,包层直径为 2 000 μm ,保护层直径为 3 800 μm ,工作温度为 $-50 \sim +70 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

传感器制备过程如下:①利用美工刀将两根相同的光纤保护层去除 5 cm;②将去除包层的光纤固定在与光纤直径相当的凹槽中,该凹槽由有机玻璃板加工制备;③采用光纤研磨机对裸光纤进行研磨,氧化铝研磨纸的粒度为 2 μm ,研磨后的裸光纤为 D 形结构,如图 1(a)所示。图中 D_r 为研磨深度,2000 - D_r 为研磨后光纤的直径,本文中 $D_r = 500 \text{ } \mu\text{m}$,那么研磨后光纤的直径为 1 500 μm ;④为了获得温度独立的光纤传感器,根据文献[15]将 D 形光纤放入高精度冷热恒温水槽中进行升温-降温循环 10 次处理,温度为 $-5 \sim 110 \text{ }^\circ\text{C}$,升降-降温的温速率为 $1 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$;⑤将经过温度处理后的两根光纤再次浸入 $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 的蒸馏水中进行软化,以制备出 U 形光纤(裸光纤被研磨后的 D 形区域为弯曲区域的外表面,未被研磨区域为弯曲区域的内表面)。本文中 U 形光纤弯曲区域的弯曲半径为 45 mm,将弯曲后的其中一根 U 形光纤标记为传感器的传感臂,传感臂用于测量藻液中微藻细胞和液相的变化信息;⑥为消除藻溶液中液相成分及浓度变化对微藻生物量测量带来的影响,在另外一根 U 形光纤表面包裹一层孔径为 0.45 μm 的混合纤维素酯滤膜,标记为传感器参考臂,用于测量藻液中的液相变化信息;⑦将制作好的传感器传感臂和参考臂采用耐高温耐腐胶带封装在一起,即获得微藻生物量塑料光纤倏逝波传感器。

2.2 测量系统

传感器测量系统框图如图 1(b)所示,该系统由光源、样品池、分析样品、U 形塑料光纤传感器、光谱仪、光功率计等组成。

实验系统中,光源为 AvaLight-DHS 型氙-卤钨灯(氙灯 10 W,卤钨灯 15 W),光谱为 215 ~ 2 500 nm;光谱仪(AvaSpec-2048,爱万提斯,荷兰)可探光谱为 200 ~ 1 100 nm,分辨率为 0.04 ~ 20 nm,杂散光 $< 0.1\%$,信噪比为 200:1。

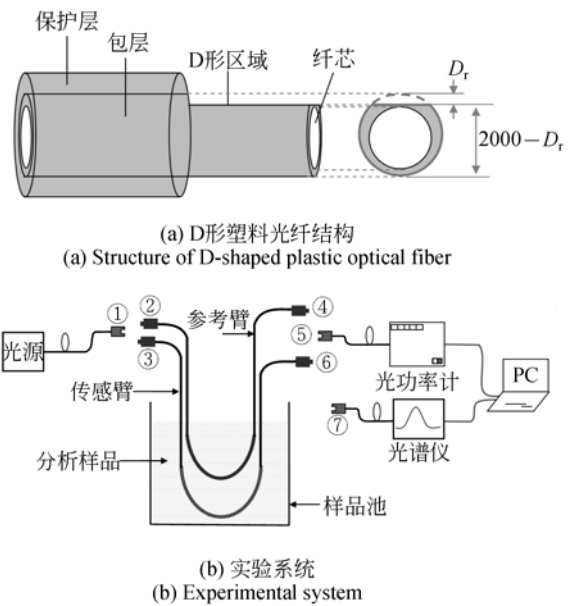


图 1 U 形探头及测量系统

Fig. 1 U-shaped probe and its measurement system

高分辨率光功率计(UV 0.2, Newport Corporation, 美国)可探光谱为 200 ~ 1 100 nm,可探功率为 100 pW ~ 0.2 W,不确定度为 1% ~ 4%。

系统工作原理为:当图 1(b)中①②④⑤接通时,用于分析传感器参考臂对分析样品的响应特性(透射光强);当①②④⑦接通时用于分析参考臂的传输光谱特性。当图 1(b)中①③④⑤接通时,用于分析传感器传感臂对分析样品的响应特性(透射光强);当①③⑥⑦接通时用于分析传感臂的传输光谱特性。在对传感器灵敏度进行表征的实验中,当分析样品为葡萄糖溶液时,其浓度为 0 ~ 125 mg/L;当分析样品为蛋白核小球藻时,其浓度为 0 ~ 598.998 mg/L(吸光度 $\text{OD}_{680 \text{ nm}}$ 为 0 ~ 2.986)。本文采用的蛋白核小球藻购于中国科学院水生生物研究所藻种库,其培养基成分和藻种培养方式参见文献[16]。

3 微藻生物量传感器测量原理

光纤倏逝波传感器中光纤传输的光经过分析样品吸收后,输入和输出光强之间满足:

$$I_{\text{out}} = I_{\text{in}} e^{-\xi L}, \quad (1)$$

式中: I_{out} 和 I_{in} 分别为输出光强和有效输入光强, ξ 为分析样品对倏逝波的吸收系数(光衰减系数), L 为传感器感应区的长度。当 D 形结构的感应区进一步制备成 U 形时,衰减系数 ξ 可以描

述为:

$$\xi = [\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{outer}} + [\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{inner}}, \quad (2)$$

式中: $[\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{outer}}$ 和 $[\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{inner}}$ 分别表示倏逝波在 U 区域内表面和外表面的光衰减系数, 如图 2 所示。

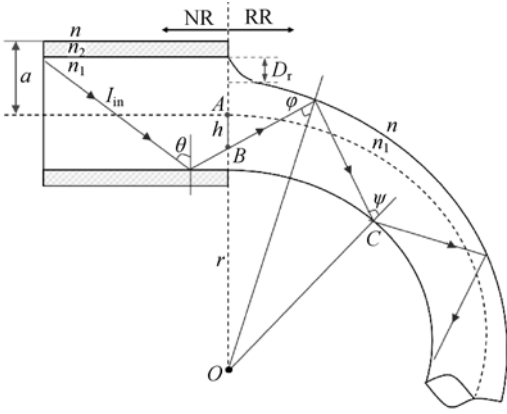


图2 光传输路径示意图(NR 为正规光纤, RR 为研磨光纤)

Fig. 2 Schematic diagram of light transmission in fiber (NR: normal region; RR: removed region)

对于 $[\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{outer}}$ 可以进一步描述为:

$$[\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{outer}} = \frac{\alpha \lambda n_1 K'_{(a, D_x, n_1, \theta), \text{outer}}}{r(n_1^2 - n^2)}, \quad (3)$$

$$K'_{(a, D_x, n_1, \theta), \text{outer}} = \frac{\int_0^{2a-D_x} \int_{\varphi_1}^{\varphi_2} \frac{\cos^3 \theta}{(1 - n_1^2 \cos^2 \theta)^2 (n_1^2 \sin^2 \theta - 1)^{1/2}} d\theta dh}{4\pi \int_0^{2a-D_x} \int_{\varphi_1}^{\varphi_2} \frac{\sin \theta \cos \theta}{(1 - n_1^2 \cos^2 \theta)^2} d\theta dh}, \quad (4)$$

式中: α 为分析样品的容积吸收系数; λ 为入射光源的波长; n_1 为光纤包层的折射率; r 为光纤弯曲半径, $r = AO$; n 为分析样品的折射率; D_x 为光纤研磨深度; θ 为图 2 中光束入射到正规光纤与 D 形光纤分界面上的入射角, 当光束传输到锥形光纤的 U 形区域后, θ 将在其内外表面分为 φ 和 ψ ; h 为图 2 中光束从正规光纤(含光纤纤芯和包层)区域传输到 D 形区域分界面时与轴线之间的距离, $h = AB$ 。式(4)中, θ 在外表面的积分范围为 φ_1 到 φ_2 , 且 φ_1 和 φ_2 可描述为:

$$\varphi_1 = \arcsin\left[\frac{(r-h)n_2}{(r+a)n_1}\right], \quad (5)$$

$$\varphi_2 = \arcsin\left(\frac{r-h}{r+a}\right), \quad (6)$$

式中: n_2 为光纤包层的折射率; a 为正规光纤的

半径。

同样光束在 U 形区域的内表面的吸收系数 $[\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{inner}}$ 也可以描述为:

$$[\xi_{\text{eff}}(n)]_{\text{inner}} = \frac{\alpha \lambda n_1 K'_{(a, n_1, \theta), \text{inner}}}{r(n_1^2 - n^2)}, \quad (7)$$

$$K'_{(a, n_1, \theta), \text{inner}} = \frac{\int_0^{2a} \int_{\psi_1}^{\psi_2} \frac{\cos^3 \theta}{(1 - n_1^2 \cos^2 \theta)^2 (n_1^2 \sin^2 \theta - 1)^{1/2}} d\theta dh}{4\pi \int_0^{2a} \int_{\psi_1}^{\psi_2} \frac{\sin \theta \cos \theta}{(1 - n_1^2 \cos^2 \theta)^2} d\theta dh}, \quad (8)$$

$$\psi_1 = \arcsin\left[\frac{(r-h)}{r} \sin \varphi_1\right], \quad (9)$$

$$\psi_2 = \arcsin\left[\frac{(r-h)}{r} \sin \varphi_2\right]. \quad (10)$$

利用公式(1)、(2)、(3)和(7), 光纤通过分析样品, 经过倏逝波衰减后, 输出光强可描述为:

$$I_{\text{out}} = I_{\text{in}} \exp\left\{-\left[\frac{2\delta \lambda n_x (K'_{(a, n_1, \theta), \text{inner}} + K'_{(a, D_x, n_1, \theta), \text{outer}})}{r(n_1^2 - n^2)}\right] \times L\right\}. \quad (11)$$

此外, 当分析样品为藻液时, 因为微藻悬浮液的折射率 n 接近于水的折射率, 而塑料光纤纤芯的折射率约为 1.49, 因此, 藻液的折射率小于光纤纤芯的折射率, 即 $n < n_1$, $n/n_1 < 1$ 。利用泰勒展开, 式(6)可以进一步简化为:

$$I_{\text{out}} = I_{\text{in}} \eta_1 \exp(-\eta_2 n^2), \quad (12)$$

$$\eta_1 = \exp\left[-\frac{4(\alpha_b + \alpha_1) \lambda L (K'_{(a, n_1, \theta), \text{inner}} + K'_{(a, D_x, n_1, \theta), \text{outer}})}{r n_1}\right], \quad (13)$$

$$\eta_2 = \frac{4(\alpha_b + \alpha_1) \lambda L (K'_{(a, n_1, \theta), \text{inner}} + K'_{(a, D_x, n_1, \theta), \text{outer}})}{r n_1^3}, \quad (14)$$

式中 α_b 和 α_1 分别为藻液中微藻细胞和液相的容积吸收系数。从式(12)~(14)可以看出, 当 D_x , L , λ , r 和 a 为常数时, 有效输出光强 I_{out} 为 α 和 n 的函数。微藻悬浮液由液体和藻细胞构成; 因此, 传感器传感臂敏感区外界环境的折射率 n 可以描述为:

$$n^2 = V_b n_b^2 + V_1 n_1^2, \quad (15)$$

式中: V_b 和 n_b 分别为藻细胞与藻液总体积比和藻液折射率(微藻折射率与微藻生物量有关); V_1 和 n_1 分别为液相与藻液总体积比和液相折射率。因

此,根据式(13)和(15),传感器传感臂的有效输出光强可进一步描述为:

$$I_{out,s} = I_{in,s} \eta_{1,s} \exp[-\eta_{2,s}(V_b n_b^2 + V_1 n_1^2)], \quad (16)$$

式中: $I_{in,s}$ 为传感器传感臂的输入光强, $\eta_{1,s}$ 为传感臂对入射光强的修正系数, $\eta_{2,s}$ 为入射光强修正后传感臂感应区对光的衰减系数。

由于传感器参考臂表面包裹一层混合纤维素酯多孔微藻滤膜,因此,参考臂只响应藻液中液相环境的变化信息,其输出光强可描述为:

$$I_{out,f} = I_{in,f} \eta_{1,f} \exp(-\eta_{2,f} V_1 n_1^2), \quad (17)$$

式中: $I_{in,f}$ 为传感器参考臂的输入光强, $\eta_{1,f}$ 为参考臂对入射光强的修正系数, $\eta_{2,f}$ 为入射光强修正后参考臂感应区对光的衰减系数。

根据式(16)和式(17),传感器的最终输出信号可以表述为:

$$K = \frac{I_{out,f}}{I_{out,s}} = \frac{I_{in,f}}{I_{in,s}} \exp(\rho V_b n_b^2), \quad (18)$$

式中: ρ 为常参数,其数值由 $\eta_{2,s}$ 和 $\eta_{2,f}$ 确定。从式(18)可以看出,当藻种和藻液体积 V_b 及传感器特征参数 $I_{in,f}$ 、 $I_{in,s}$ 、 D_x 、 L 、 λ 、 r 和 a 确定后,传感器输出信号参数 K 为微藻生物量折射率 n_b^2 的函数。由此可以看出,传感器输出信号不受液相浓度及其成分变化的影响。此外微藻生物量 C_b 与 $V_b n_b^2$ 具有一一对应关系,因此微藻生物量 C_b 可以描述为:

$$V_b n_b^2 = f(C_b). \quad (19)$$

由式(18)和式(19)可以进一步将传感器的输出信号表述为:

$$K = \frac{I_{in,f}}{I_{in,s}} \exp[\rho f(C_b)]. \quad (20)$$

将式(20)进行泰勒展开,并取前两项可以得出:

$$K = \frac{I_{in,f}}{I_{in,s}} \left[1 + \rho f(C_b) + \frac{1}{2} \rho^2 f^2(C_b) + \dots \right]. \quad (21)$$

由式(21)可知,传感器输出信号 K 只与微藻生物量 C_b 有关,且传感器输出信号随着生物量的增加而增大。因此,该传感器可实现微藻生物量的准确测量。

4 实验结果与讨论

4.1 传感探头光谱传输及对葡萄糖溶液的响应

特性

在分析传感器测量微藻生物量之前,首先对传感臂和参考臂(传感探头)的性能参数进行了研究,即观测了传感探头的光谱传输性能,参考臂对葡萄糖的响应时间,以及传感探头对葡萄糖溶液的响应特性。图3为传感探头在空气中的传输光谱,图4为参考臂在25℃时对葡萄糖溶液(浓度为7.5 g/L)的响应时间,图5为传感探头在25℃时对葡萄糖溶液的响应特性曲线。图4中参考臂时间响应测试步骤为:①配制500 mL葡萄糖浓度为75 mg/L的溶液;②将经过蒸馏水浸润后的传感器参考臂浸入到葡萄糖溶液中,待输出光强稳定后立即抽出,并参浸入到蒸馏水中,待输出光强稳定后又立即从蒸馏水中抽出,并浸入到葡萄糖溶液中;重复实验步骤②,即可得到传感器参考臂对时间的响应特性曲线。

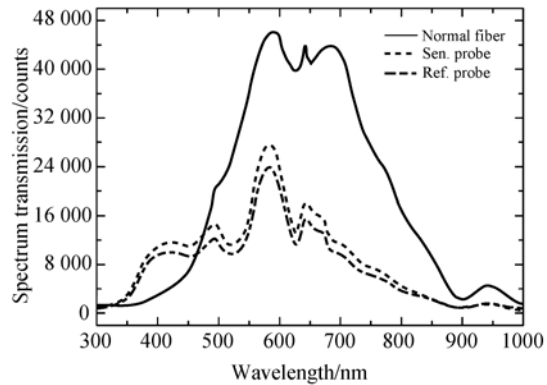


图3 传感探头传输光谱

Fig. 3 Transmission spectra of probes

图3中,Normal fiber表示未经温度老化处理的传感探头的传输光谱(D_r 和弯曲半径分别为500 μm 和45 mm);Sen. probe表示传感器传感臂;Ref. probe表示传感器参考臂。从图中可以看出,传感探头在蒸馏水中经10次升温-降温循环处理后,传输光谱特性相比原始光谱发生了变化,对350~490 nm的光谱传输能力增强,而对600~1100 nm的光谱产生了严重衰减。这是因为经多次老化处理后,PMMA材料吸收的水分子后在高温下与聚合物链发生了反应^[17],并完成了玻璃化转变^[18],从而增强了对短波光谱的传输能力,对长波光谱产生了强衰减。此外,从图3中还可以看出,传感臂的传输光谱质量高于参考臂,这是因为参考臂表面包裹一层混合纤维素酯多孔微藻滤膜,微生物滤膜对光纤表面透射出的光产生

了吸收。

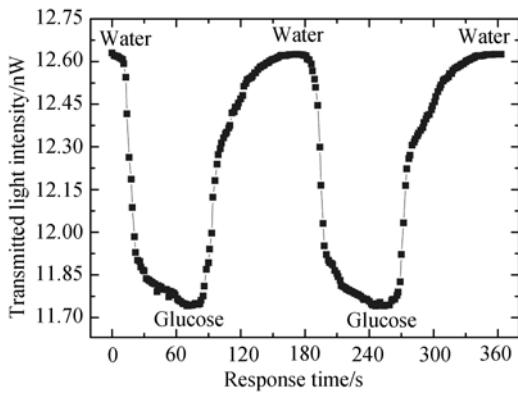


图 4 参考臂对葡萄糖的响应时间曲线
Fig. 4 Time response curve of Ref. probe

从图 4 可以看出,参考臂对葡萄糖溶液的响应时间快,且输出光强的变化具有重复性。当参考臂从蒸馏水中浸入到葡萄糖溶液中并到达稳定的时间大约为 80 s,从葡萄糖溶液拔除浸入到蒸馏水中并到达稳定的时间大约为 94 s。可见,采用亲水混合纤维素酯膜作为微藻滤膜可即时响应微藻生长过程中液相浓度的变化信息。因为微藻生化转化过程为缓变过程,即反应器内底物和产物浓度不会在瞬间发生较大的变化;因此,参考臂的测量结果能真实地反映微藻生长过程中液相浓度的变化信息。

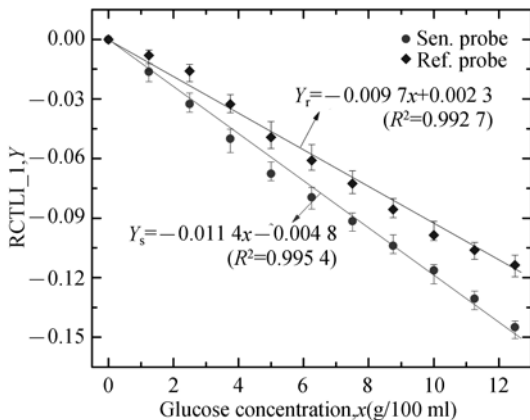


图 5 传感探头对葡萄糖溶液的响应特性曲线
Fig. 5 Response curves of probes for glucose solutions

图 5 中传感探头输出光强的相对变化量 (Relative Change of Transmitted Light Intensity, RCTLI) 用来表征传感器对葡萄糖溶液的灵敏度。RCTLI 定义为 $RCTLI = (I_c - I_0) / I_0$, I_c 为传感探头在葡萄糖溶液(浓度为 0 ~ 125 mg/L)中的输出光强, I_0 为传感探头在葡萄糖浓度为 0 mg/L 时的

输出光强。

从图 5 可以看出,传感臂和参考臂的 RCTLI 都随葡萄糖溶液浓度的增大而减少。其原因在于随着葡萄糖浓度的增大,光纤表面倏逝场与葡萄糖溶液的作用强度增强,倏逝场的衰减强度增大;同时由于葡萄糖溶液的折射率随着浓度的增大而增大,导致光纤内部更多的高阶模逃逸光纤而进入葡萄糖溶液。因此光纤输出光强随着葡萄糖浓度的增大而减弱,即 RCTLI 随着葡萄糖浓度的增大而减少。此外,从图中还可以看出,传感器传感臂对葡萄糖浓度的灵敏度高于参考臂,其原因在于传感臂光纤内部对光传输的能力高于参考臂,如图 3 所示。由文献[19]可知,倏逝波衰减系数即传感器灵敏度随光纤内部的有效传输光强的增大而增强;因此,传感器传感臂对葡萄糖溶液的灵敏度高于参考臂。

4.2 传感器对微藻生物量的响应特性

为研究传感器对蛋白核小球藻生物量的响应特性,本文利用蒸馏水和微藻母液配制了不同生物量的微藻溶液,其藻液的配制参数、 $OD_{680\text{ nm}}$ 及干重如表 1 所示。为了获得传感器输出信号与微藻生物量的关系,利用公式(21)对传感器传感臂和参考臂的输出信号进行了处理,其结果如图 6 所示。

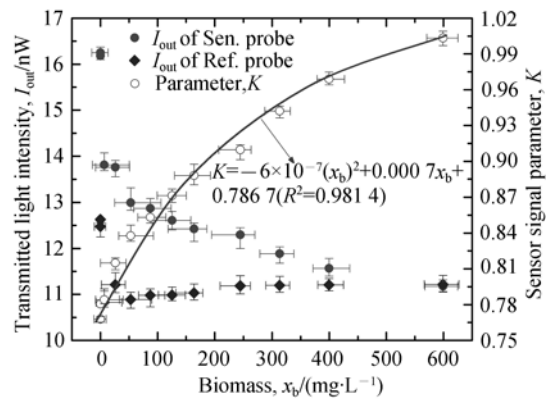


图 6 传感探头与传感器输出信号与生物量之间的关系
Fig. 6 Output signals of probes and sensor as a function of biomass

从图 6 可以看出,随着微藻生物量的增大,传感器传感臂的输出信号先快速减小后缓慢减小。传感臂输出信号减小的原因是随着微藻母液向蒸馏水中的加入(如表 1 所示),分析样品(藻液和蒸馏水混合液)中的藻细胞数量增多,藻细胞对波长为 400 ~ 700 nm 的光有强吸收^[20],从而对光纤表面发出的光产生衰减;同时,随着微藻母液的

增加,分析样品中液相浓度增大,导致光纤内部更多的高阶模逃逸光纤并被藻细胞吸收;因此传感臂输出光强随着生物量(微藻母液含量)的增大而减小。当微藻生物量较高时,藻细胞数量和液相浓度大,理论上传感臂输出信号的衰减量大,但此时传感臂输出光强由于受光纤表面倏逝场强度和光纤内部高阶模数量的限制,从而限制了传感器对高浓度藻液的响应灵敏度。

表1 分析样品(藻液)参数
Tab. 1 Analytical sample parameters

分析样品编号	蒸馏水 /mL	藻液 /mL	吸光度 (OD _{680 nm}) / (mg · L ⁻¹)	干重
1	50	0	0.000	0.000
2	50	1	0.019	0.001
3	50	4	0.077	6.651
4	50	9	0.173	26.027
5	50	16	0.308	52.853
6	50	25	0.482	87.428
7	50	35	0.674	125.581
8	50	45	0.867	163.932
9	50	65	1.252	244.435
10	50	85	1.638	313.137
11	50	105	2.023	399.64
12	50	155	2.986	598.998

从图6还可以看出,随着微藻生物量的增大,传感器参考臂的输出光强先快速减小后缓慢增大。参考臂输出信号快速减小的原因在于参考臂敏感区表面包裹了一层混合纤维素酯膜多孔微藻滤膜,经滤膜过滤后的参考臂只响应藻液中液相的变化信息;随着微藻母液向蒸馏水中的加入,液相浓度变大及液相中物质成分种类增多,从而导致倏逝场衰减增强和逃逸光纤内部的高阶模数量增多。参考臂输出光强随着微藻生物量缓慢增大的原因:虽液相浓度增大有利于光纤内部高阶模逃逸光纤,但由于微生物细胞被微藻滤膜分离,液相在参考臂敏感区的光纤表面形成光反射膜,从而将光反射回光纤内部,且光反射膜对光反射

的能力随着分析样品中微藻母液含量的增加而增强^[19];因此,当分析样品中微藻母液含量(生物量)较大时,参考臂的输出光强随着分析样品中微藻母液含量的增加而增大。

此外,从传感器输出信号 K 可以看出,在生物量干重(吸光度 OD_{680 nm})为 0 ~ 598.998 mg/L (0 ~ 2.986),传感器输出信号与生物量之间满足固定函数关系,其拟合函数表达式为: $K = -6 \times 10^{-7} (x_b)^2 + 0.0007x_b + 0.7867$ ($R^2 = 0.9814$),该拟合式与理论关系式(21)一致。从图6中还可看出,在微藻生物量测量区,传感器灵敏度达到 1.675/(g · L⁻¹)。此外,对比拟合值和传感器输出值,可以发现在生物量吸光度为 0 ~ 2.986,最大相对误差为 2.46%,相对误差均值为 1.28%,由此表明本传感器可准确测量藻液中生物含量信息。

5 结论

本文为了准确测量微藻悬浮液中的微藻生物量,利用阶跃型塑料光纤研制了双探针 U 形塑料光纤倏逝波传感器,建立了传感器测量的理论模型,分析了传感器的性能参数以及传感器对微藻生物量的响应特性。研究表明:传感器的输出信号不受液相变化信息的影响,只与藻液中微藻生物量有关;光纤表面包裹一层混合纤维素酯多孔微藻滤膜的传感器参考臂能快速响应葡萄糖浓度的变化信息,在葡萄糖浓度为 0 ~ 75 mg/L 时,响应时间小于 94 s;当采用本文研制的传感器对小球藻悬浮液进行测量时,传感器既能准确测量低生物量藻液,也能准确测量高生物量藻液,在生物量为 0 ~ 598.998 mg/L 及吸光度(OD_{680 nm})为 0 ~ 2.986 时,传感器对微藻生物量的灵敏度达到 1.675/(g · L⁻¹),且传感器测量值与拟合值之间的最大相对误差为 2.46%,相对误差均值为 1.28%。本传感器可广泛地运用于液相中微藻及微生物细胞含量的准确测量。

参考文献:

- [1] BARROS A I, GONÇALVES A L, SIMÕES M, et al. Harvesting techniques applied to microalgae: A review [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, 41: 1489-1500.
- [2] RITTMANN B E. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 100(2): 203-212.
- [3] RUMPEL S, SIEBEL J F, FARÈS C, et al. Enhancing hydrogen production of microalgae by redirecting electrons from photosystem I to hydrogenase [J]. *Energy & Environmental Science*, 2014, 7(10): 3296-3301.

- [4] BRILMAN W, GARCIA A L, VENEMAN R. Capturing atmospheric CO₂ using supported amine sorbents for microalgae cultivation [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2013, 53: 39-47.
- [5] AHMAD A L, YASIN N H M, DEREK C J C. *et al.*. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011, 15(1): 584-593.
- [6] LUCHTERHAND B, NOLTEN J, HAFIZOVIC S, *et al.*. Newly designed and validated impedance spectroscopy setup in microtiter plates successfully monitors viable biomass online [J]. *Biotechnology Journal*, 2015, 10(8): 1259-1268.
- [7] HEILEMAN K, DAOUD J, TABRIZIAN M. Dielectric spectroscopy as a viable biosensing tool for cell and tissue characterization and analysis [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013, 49(15): 348-359.
- [8] ZHONG N B, LIAO Q, ZHU X, *et al.*. Fiber Bragg grating with polyimide-silica hybrid membrane for accurately monitoring cell growth and temperature in a photobioreactor [J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(18): 9278-9285.
- [9] 赵明富, 钟年丙, 罗彬彬, 等. 用于生物量浓度在线检测的光纤衰减全反射传感器[J]. *光学精密工程*, 2010, 18(8): 1707-1714.
- ZHAO M F, ZHONG N B, LUO B B, *et al.*. Optical fiber attenuated total reflection sensor for on-line measurement of biomass concentration [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2010, 18(8): 1707-1714. (in Chinese)
- [10] ZIBAI M I, KAZEMI A, LATIFI H, *et al.*. Measuring bacterial growth by refractive index tapered fiber optic biosensor [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2010, 101(3): 313-320.
- [11] GARITO A F, WANG J, GAO R. Effects of random perturbations in plastic optical fibers [J]. *Science*, 1998, 281(5379): 962-967.
- [12] KOIKE Y, ASAI M. The future of plastic optical fiber [J]. *NPG Asia Materials*, 2009, 1(1): 22-28.
- [13] MIZUNO Y, HAYASHI N, TANAKA H, *et al.*. Propagation mechanism of polymer optical fiber fuse [J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 1-4.
- [14] ZHONG N B, LIAO Q, ZHU X, *et al.*. Temperature-independent polymer optical fiber evanescent wave sensor [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 11508.
- [15] ZHONG N B, LIAO Q, ZHU X, *et al.*. Fiber-optic differential absorption sensor for accurately monitoring biomass in a photobioreactor [J]. *Applied Optics*, 2015, 54(2): 228-235.
- [16] 夏建荣, 高坤山. 不同 CO₂ 浓度下培养的蛋白核小球藻细胞结构的变化 [J]. *武汉植物学研究*, 2002, 20(5): 403-404.
- XIA J R, GAO K SH. Change of cell structure of chlorella pyrenoidosa grown under different CO₂ concentration [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2002, 20(5): 403-404. (in Chinese)
- [17] KOVAČEVIĆ M S, SAVOVIĆ S, DJORDJEVIĆ A, *et al.*. Measurements of growth and decay of radiation induced attenuation during the irradiation and recovery of plastic optical fibres [J]. *Optics and Laser Technology*, 2013, 47: 148-151.
- [18] DAI X H, HE J, LIU Z, *et al.*. Stability of high-bandwidth graded-index polymer optical fiber [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2004, 91: 2330-2334.
- [19] ZHONG N B, ZHU X, LIAO Q, *et al.*. Effects of surface roughness on optical properties and sensitivity of fiber-optic evanescent wave sensors [J]. *Applied Optics*, 2013, 52(17): 3937-3945.
- [20] MULLER-FEUGA A, LE GUÉDES R, HERVÉ A, *et al.*. Comparison of artificial light photobioreactors and other production systems using *Porphyridium cruentum* [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1998, 10(1): 83-90.

作者简介:



钟年丙(1981-),男,重庆云阳人,博士,副教授,硕士生导师,2006年、2010年于重庆理工大学分别获得学士、硕士学位,2013年于重庆大学获得博士学位,主要从事光纤传感、光纤生物材料、微生物能源等方面的研究。E-mail: zhongnianbing@163.com