

## 中文摘要

（发展多参数、多功能的传感器是目前传感器研究的一个极富挑战性的方向。在现阶段，将单参数化学与生物传感器发展为多参数、多功能化学与生物传感器是一条现实可行的重要思路，目的在于不增加阵列规模，甚至在单个传感探头的情况下，能够显著提高体系化学信息的获取量。光化学传感器以其光学信号表达的丰富多样性而在这方面具有独特的优势，而且，各种光学信号表达均可在同一光学波导中实现，这使得在单个光极上同时获得多个光学信号成为可能。）

本论文从基于光纤模式滤光检测的机理入手，致力于研究一类新型的基于模式滤光检测的光纤化学与生物传感器。（所谓模式滤光，是指分析对象进入光纤包层引起光纤芯包界面的折射率增加，导致光纤内的部分传导模不满足传导条件而从光纤的包层中侧漏出来的光学信号，它与包层折射率的增量在一定条件下线性相关。因此，模式滤光检测为光学式化学与生物传感器获取光学信息发展了一条新的途径。模式滤光检测和传统的检测方式相比，检测器的位置由光纤末端改放在光纤侧面，获取光纤侧面产生的模式滤光信号，由于光纤侧面的背景光远较光纤末端的出射光背景小，因而较之检测光纤末端的出射光有高得多的信噪比和灵敏度。同时，结合电荷耦合器件（CCD）的多通道检测技术和色谱分离技术，可以巧妙地实现对多组分的同时分离和多通道信号响应，实现单个传感器的多参数化。）

本论文的研究工作分为两部分。第一部分开展了仪器的开发和研制工作，以及基于光纤模式滤光检测的信号传感理论研究。

（一、开发和研制基于裸光纤体系和基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置。这部分工作涉及如下几个关键问题：

1. 光源与光纤之间的光耦合技术；
2. 进样装置的构造以及参数的选择；
3. 处理和修饰光纤/毛细管环状柱传感元件的技术平台；
4. 传感装置各部件尺寸或参数的选择，设计、加工和组装；

5. 多通道检测系统的构造, 数字信号的采集及软件的开发;  
等等。

根据我们的设想, 我们研制出了基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感装置和基于多组分同时选择性响应的修饰光纤模式滤光色谱传感装置。由于这项研究工作的新颖性, 香港浸会大学从本实验室购置了两台我们自行研制的模式滤光传感装置, 并开展了相关的合作研究。在此基础上, 我们进一步发展了全新的基于光纤模式滤光检测的毛细管电泳装置, 并申请了专利。

二、从光学波导的基本原理出发, 从理论上探讨了光纤模式滤光检测在获取高信噪比和高灵敏度的信号上所具有的突出优势。为了解决实验中裸光纤体系与修饰光纤体系在获取模式滤光信号上出现的不一致现象, 即裸光纤体系中随着分析对象的折射率增大, 获取的模式滤光信号呈下降趋势, 而在修饰光纤体系中分析对象的折射率增大, 获取的模式滤光信号却是增大的, 我们从光的能量辐射学入手, 详细地讨论了光辐射能在传输路径上的反射与透射, 获得了模式滤光信号产生的细节, 以此建立了模式滤光检测的新模式。通过详细的理论推导和分析, 合理地解决了这一看似矛盾的问题, 二者看似不一致, 实际上是对立统一的。

在修饰光纤体系中, 定量分析待测物质与光纤涂层相互作用所产生的模式滤光信号, 是我们开展光纤模式滤光化学与生物传感的理论基础。在修饰光纤体系定量获取模式滤光信号的理论研究中, 我们以我们所用的石英光纤为例, 推导了光纤模式滤光信号的理论表达式。我们获得了模式滤光信号的函数关系, 它与分析对象的容量因子, 分析对象的折射率、进样体积和进样浓度以及流动相的线性流速有关。对这个表达式的研究表明, 对一给定值的装置, 检测器的灵敏度主要由两项决定。一项是随着分析对象和包层间的 RI 差值的增大, 灵敏度将提高, 这一项类似于普通 RI 检测器中描述分析对象选择性的项, 只不过 RI 差值在模式滤光检测中是相对于固定相而言, 而在普通 RI 检测中是相对于流动相而言。另一项是分配常数  $K_d$ , 它表明聚合物包层的亲和性越强, 对分析对象的灵敏度越高, 这一项同时还显示模式滤光检测方法受化学的选择性和 RI 的灵敏度共同决定。增加流动相中水的含量能使疏水分析对象的分配常数变得很大, 然而, 分配常数的增大也引起容量因子和保留值的生长, 从而导致分析时间的延长并导致流动相中分析对象区带的展宽和稀释。对这个表达式的研究还表明,

减小固定相涂层的厚度，有利于在增大分配常数  $K_d$  的同时保持适当的容量因子，这对获得理想的模式滤光信号具有十分积极的意义。

论文的第二部分工作开展了基于多通道光纤模式滤光检测的化学与生物传感的应用研究。利用基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感装置，我们实现了对乙醇体系、乙二醇体系和醋酸体系的实时、快速监测，利用基于多组分同时选择性响应的修饰光纤模式滤光色谱传感装置，我们获得了溴苯和甲苯混合组分的同步光学和色谱信息，利用模式滤光毛细管电泳装置，我们实现了混旋氨基酸的手性拆分。

（三、利用研制的裸光纤模式滤光传感装置分别对乙醇、醋酸和乙二醇的水溶液体系进行了实时、快速监测。实验表明，在 0~50%(v/v) 的范围内，对乙醇的测定线性相关，相关系数为 0.9972；测定醋酸的线性范围是 0~90%(v/v)，相关系数是 0.9980；测定乙二醇的线性范围是 0~60%(v/v)，相关系数是 0.9966。应用该传感器装置分别对白酒中的乙醇、食用醋中的醋酸含量进行测定，并用通用方法作了对照实验，获得满意结果。该传感器通用性好，响应迅速，具有良好的重现性和可逆性，接上流动注射进样系统还可进行流动注射分析(FIA)。

四、利用修饰光纤模式滤光色谱传感装置开展了溴苯和甲苯混合组分的同时选择性响应和多通道信号分析的研究。在以往的化学传感器中，一般较少涉及色谱内容，而在复杂的真实体系中，选择性就成为构造化学传感器的一个重要参数。多通道在柱同步分离分析光纤色谱传感器将色谱分离技术与化学传感技术结合起来，为发展多通道和多功能光化学传感器提供了一条切实可行的重要思路。我们发展的固定相涂渍方法解决了色谱传感器中敏感膜的稳定性和使用寿命的问题，灵敏度和色谱峰形也得到了极大的改善，同时我们对修饰涂层做了 AFM 表征。实现在柱同步分离分析的一个重要内容是通过多通道检测提取整段色谱过程中的实时、在柱信号，并通过对这些多通道信号进行解析，从而获取多元体系中分析物质的组成和浓度等化学信息，显著提高多组分混合物中分析组分测定的精度。本研究采用了多元校正的偏最小二乘方法对溴苯、甲苯混合物体系进行了定量分析，获得了满意的结果。

五、利用模式滤光毛细管电泳装置开展了基于 sol-gel 包埋 BSA（牛血清白蛋白）手性固定相对混旋氨基酸进行手性拆分的研究。模式滤光检测是一种基于 RI 测量的光纤传感技术，RI 检测作为一种浓度型且非破坏性的通用型检测

技术，在 CE 检测方法的研究中一直为研究者所关注。sol-gel 技术对于热稳定性和化学稳定性差的蛋白质等生物大分子而言是一种理想的固定化方法。我们较深入地研究了实验体系的影响因素和优化条件。研究表明，基于光纤表面修饰的模式滤光 CE 无论在获取体系的分离信息还是在检测信号上，较之无涂层修饰的模式滤光 CE 都有明显的改进。从理论和实验两方面来看，我们期望多通道模式滤光 CE 在生物分子和药物分子的手性拆分上、在研究生物大分子和药物分子之间相互作用的生物特征上，可以获得良好的应用。

关键词：(光纤) 化学传感器；模式滤光检测；(多通道)

生物传感；

## Abstract

In this thesis, kinds of novel fiber-optic chemo- and bio- sensors based on mode-filtered light detection (MFLD) were presented, originating from the proposition of MFLD mechanism. The term of mode-filtered light refers to the observation that light initially propagating down an optical fiber can be decoupled from that fiber by increasing the cladding RI at the core/clad interface with a permeating analyte, thus changing the allowable propagating modes within the fiber, resulting in a continuous and nearly linear increase in mode-filtered light with increasing cladding RI. So, MFLD provides a new way to obtain optical information for optical chemo- and bio-sensors. Compared with conventional detection methods, in which the detector was placed at the distal end of the fiber, MFLD has advantages in much higher signal-to-noise (S/N) ratio and sensitivity, since the analyte signal is measured against a much lower background by placing the detector at the fiber-optic profile instead of the distal end.

The contents of the thesis include two parts. In the first part, the work has been done toward the development and fabrication of the instruments, and discussion about the signal sensing theories based on the fiber-optic mode-filtered light detection.

1. Develop and fabricate the mode-filtered light sensing instruments. This part of work involves several key problems as follows:

- 1) Coupling technology of laser source with the optical fiber;
- 2) The construction of the sampling device and the selection of relevant parameters;
- 3) The technical platform for the treatment and modification of fiber/capillary annular column sensing element;
- 4) The selection of the size or parameters, design, machining and assembly of the sensing instruments;
- 5) The construction of the multichannel detection system, the collection and processing of the digital signals and the exploitation of relevant software;

And so on.

According to our design, we constructed an uncoated fiber-optic mode-filtered

light sensing instrument based on general and fast detection and a modified fiber-optic mode-filtered light sensing instrument with synchronization of selective response to mixed components. Due to the novelty of this research work, two of mode-filtered light sensing instruments assembled by our lab were purchased by Hong Kong Baptist University for cooperative research. On the basis of this, we further developed a novel fiber-optic mode-filtered light equipment for capillary electrophoresis, and obtained a patent.

2. Derived from optical waveguide fundamentals, outstanding advantages of MFLD in high S/N ratio and sensitivity were theoretically presented. To resolve inconsistent change tendencies of mode-filtered light obtained in bare core sensing system and in modified sensing system, that is, the mode-filtered light signal declines with the increase in analyte RIs in bare core sensing system but increases with the increase in analyte RIs in modified sensing system, we started with light energy radiation theory, and obtained the details of MFLD mechanism by discussing in detail the radiant energy's reflection and refraction at the interface, thus establishing a mathematical model of MFLD. We concluded that the inconsistent change tendencies of mode-filtered light were essentially coherent.

In modified fiber-optic sensing system, quantitative analysis of the interaction of the analytes with the cladding is the theoretical foundation of fiber-optic mode-filtered light chemo- and bio- sensing. In our study, we took example for the fused silica fiber that we used, to deduce a mathematical expression for MFLD. We derived an expression that related the mode-filtered light signal as a function of the capacity factor of the analyte, RI of the analyte, injected volume and concentration of the analyte and the mobile phase linear flow velocity. Inspection of this equation reveals that detector sensitivity for a given configuration is primarily determined by two terms. One term predicts increasing sensitivity with increasing difference between the RIs of the analyte and cladding. This term is similar to the term that describes analyte selectivity for standard RI detectors, except that the RI difference is relative to the stationary phase in MFLD rather than the mobile phase as with standard RI detection. The other term is analyte distribution coefficient  $K_d$ . It predicts increased analyte sensitivity with increased affinity for the polymeric cladding. It also suggests that the MFLD method is governed by both chemical selectivity and RI sensitivity. The distribution constant can be made quite large for hydrophobic analytes by increasing the water content of the mobile phase. However, an increase in the distribution

coefficient also causes an increase in the capacity factor and increased retention, which results in increased analysis time and consequent broadening and dilution of the analyte zone in the mobile phase. Inspection of this equation also reveals that a decrease in stationary phase thickness is propitious to the increase of the distribution coefficient  $K_d$ , while maintaining a reasonable capacity factor, which has positive significance in obtaining ideal mode-filtered light signal.

In the second part of the thesis, the work had been done toward chemical and biological applications of the fiber-optic sensors based on multichannel MFLD. Using the uncoated fiber-optic mode-filtered light sensing equipment with general and fast detection, we achieved real-time, fast monitoring of ethanol, acetic acid and ethylene glycol, respectively. Using the modified fiber-optic mode-filtered light sensing equipment with simultaneous selective response of mixed components, we obtained the synchronous optical and chromatographic information of the mixtures of bromobenzene and toluene. Using the mode-filtered light capillary electrophoresis equipment, we successfully achieved chiral separation of D,L-tryptophan.

3. The uncoated fiber-optic mode-filtered light sensing equipment was applied for the real time and fast monitoring of ethanol, acetic acid and ethylene glycol, respectively. It showed that the linear response to ethanol covered the range of concentration 0~50%(v/v) and relative coefficient was the value of 0.9972. The linear responses to acetic acid and ethylene glycol were 0~90%(v/v) and 0~60%(v/v) respectively, and their relative coefficients were the values of 0.9980 and 0.9966. The results were satisfied when applying the sensor for the measurements of distilled spirit and edible acetic acid, and comparing this method with the standard methods as control experiments. The sensor has advantages in good applicability, reproducibility, reversibility and short response time. It can be applied for flow injection analysis (FIA) after fixing a flow injection sampling system.

4. The modified fiber-optic mode-filtered light sensing equipment was applied for simultaneous selective response and multichannel signal analysis of the mixture of bromobenzene and toluene. In conventional chemical sensors, little work has been involved in chromatography. In real complicated systems, however, selectivity is a significant parameter to the construction of chemical sensors. Multichannel fiber-optic chromatographic sensor with on-column synchronization of separation and assay combines the technologies of chromatographic separation and chemical sensing, thus

providing a feasible idea to develop multichannel and multifunctional chemical sensors. The stationary phase coating method that we developed not only solved the problems of the stability and life-time of the sensing membrane in the chromatographic sensor, but also greatly improved its sensitivity and retention behavior. At the same time, the modified surface was determined with atomic force microscopy (AFM) to investigate the conformational aspects. For on-column synchronization of separation and assay, it is important to distil real-time and on-column signals of the whole chromatographic process by multichannel detection, and obtain chemical information such as the composition and concentration of the analytes from multi-componential systems by the analysis of these multichannel signals, thus remarkably enhance measurement precision of the analytes in the multi-componential mixtures. In this research, the partial least squares (PLS) method was applied to quantitative analysis of the mixture of bromobenzene and toluene. Approving results were obtained.

5. The mode-filtered light capillary electrophoresis equipment was used for chiral separation of D, L-tryptophan with BSA (bovine serum albumin) doped sol-gel served as the chiral stationary phase. MFLD is a kind of fiber-optic sensing technique based on RI measurement. As a universal detection technique, which is a concentration-based and nondestructive detection, RI measurement is always regarded in CE detection methods. The sol-gel technique is an ideal approach to immobilize macro biomolecules such as protein, because the biomolecules have poor thermodynamic and chemical stability. We studied carefully the effect factors and optimization for the experiment system. The investigation showed that the modified fiber-optic mode-filtered light CE was a great improvement upon the uncoated one in regard to the separation information and detection signals of the system. In view of the theory and practice, multi-channel mode-filtered light CE has potentials in chiral separation of the biomolecules and the pharmic molecules, and in study of biological characteristics of the interaction of the bio-molecules with the pharmic molecules.

**Keywords:** fiber optic; chemical sensor; mode-filtered light detection; multi-channel



## 本文常用英文缩略词表

缩略词	中文名称
AFM	原子力显微镜
BSA	牛血清白蛋白
CCD	电荷耦合器件
CE	毛细管电泳
CEC	毛细管电色谱
FIA	流动注射分析
HPLC	高效液相色谱
LD	半导体激光二极管
LED	半导体发光二极管
LIF	激光诱导荧光
MFLD	模式滤光检测
MIP	分子印迹聚合物
OTEC	开管柱电色谱
OTGC	开管柱气相色谱
OTLC	开管柱液相色谱
PD	光电二极管
PMT	光电倍增管
PLS	偏最小二乘
$\mu$ -TAS	微全分析系统
RI	折射率
sol-gel	溶胶-凝胶
SPR	表面等离子体共振
WCOT	壁涂开管柱

# 第一章 绪论

## 1.1 化学与生物传感新技术

在化学与生物传感技术发展的前沿领域，研究者们正在将目光越来越多地集中在两大方面，一是发展多参数、多功能甚至智能化的传感器，期望对实际体系或复杂体系中的多种参量进行提取以反映其真实情况和更多的信息，二是发展微型化的、纳米尺寸上的传感探针，以实现生命科学在单细胞、单分子层次上的检测和分析。这两大方向已表现出诱人的前景，而且相互之间在发展中往往互为手段，相互交融和整合。像生物芯片的研究就是一个生动的例子。

一方面，发展多参数、多功能和智能化的传感器是目前传感器研究的一个极富挑战性的方向。这一研究方向涉及到材料、生物、化学、电子、计算机、数学、物理等多学科领域的交叉。根据研究的侧重点不同还可细为多个分支方向。较早发展起来的是基于场效应的气敏传感器阵列，始于 70 年代对氢气敏感 MOS 晶体管的研究<sup>[1]</sup>，经历 20 来年的发展，人们对影响气敏场效应装置的灵敏度和选择性因素已经积累了大量的知识<sup>[2~7]</sup>。现已成功地检测了氢、硫化氢、乙醇、氨和饱和烃等许多气体分子，检测空气中的气体分子其灵敏度通常可达到 1ppm 数量级。1998 年在北京召开的第七届国际化学传感器会议上，几百篇论文中有数篇是关于对电子鼻<sup>[8-16]</sup>和电子舌<sup>[17, 18]</sup>的研究。可以预见，随着新型材料的不断开发和传感技术的进一步创新，像仿生嗅觉与味觉这样一类智能型传感器的研究将会有新的突破。

在现阶段，将单参数化学与生物传感器发展为多参数、多功能化学与生物传感器是一条现实可行的重要思路，目的在于不增加阵列规模，甚至在单个传感探头的前提下，能够显著提高体系化学信息的获取量。光化学传感器以其光学信号表达的丰富多样性而在这方面具有独特的优势，像荧光<sup>[19-34]</sup>、吸光<sup>[35-43]</sup>、化学发光<sup>[44-46]</sup>、磷光<sup>[47, 48]</sup>、偏振光<sup>[49]</sup>、拉曼散射<sup>[50-53]</sup>、折射光<sup>[54-60]</sup>、衍射<sup>[61, 62]</sup>和干涉<sup>[63-65]</sup>等等，而每一种光学信号又有不同的测定机理，例如荧光有荧光增强、荧光熄灭、荧光寿命等，而且重要的是，各种光学信号表达均可在同一光学波导中实现，这使得在单个光极上同时获得多个光学信号成为可能。

模糊传感器是近年来备受关注的热点研究课题，始于 80 年代末<sup>[66]</sup>，受到了研究者的广泛重视。获取被量测的模糊信息，是在不同量测体系中普遍存在的客观现象。模糊逻辑在传感器量测领域的应用，模糊传感器的出现，拓宽了经典量测科学，使量测科学向人类自然语言理解方面迈出了重要的一步。所谓模糊传感器，它是一种智能型的传感装置，由具有简单选择性的传感器和推理器组成，是以数值量测为基础，产生和处理与其相关量测的符号信息的传感器件。可见，模糊传感器是在经典传感器数值量测的基础上，经过模糊推理与知识集成，以自然语言符号描述的形式输出量测结果。模糊传感器在一些领域内已获得实际应用。例如，应用于移动机器人身上的模糊视觉传感器（模糊眼）<sup>[67]</sup>，基于神经网络的模糊传感器在气体分类识别中的应用<sup>[68]</sup>等等。

另一方面，发展微型化的、纳米尺寸上的传感探针，是化学与生物传感技术顺应大科技发展的自然而然的趋势。生物技术和纳米技术已成为当今国际学术研究的最前沿、最活跃的领域。生命科学的发展已经深入到了单细胞、亚细胞、单分子及核酸的单个碱基这样的层次，而纳米技术使得人们可以对物质世界的研究范围深入到纳米尺度，实现对微观世界的有效控制。这样的时代赋予了化学与生物传感技术崭新的研究内容，势必对该领域产生深远的影响。纳米技术与生物技术的结合是九十年代末期才开展的国际前沿性工作，各国的科学家们投入了巨大的热忱和精力。哈佛大学的 G. M. Whitesides 小组目前正在从事动物细胞、病毒、细菌的生物芯片固定和研究，以及纳米结构、微流控系统和三维微结构的制造工艺等，制出的生物芯片可以捕捉和固定单个细胞，并进行细胞分类和纯化等<sup>[69-75]</sup>。哥伦比亚大学及密西根分子所的 D. A. Tomalia 一直致力于研究树型聚合物（dendrimers），该树形聚合物在生物传感和生物芯片的表面修饰上有巨大的潜力，可提供各种不同的线型分子自组装单分子层的表面修饰，并用它发展了能够捕获病毒的纳米陷阱<sup>[76-79]</sup>。印第安纳大学的 S. Nie 小组发展了基于量子点的超灵敏荧光检测应用于单分子和活细胞成像<sup>[80-86]</sup>。佛罗里达大学的 W. Tan 小组将注意力集中在生物纳米颗粒与生物纳米通道技术上，开展了许多单分子成像和分子信标的研究工作<sup>[87-90]</sup>，等等。

化学与生物传感技术在有机地结合纳米与生物技术并在纳米尺度上快速、灵敏和有选择性地获取生物信息、了解化学过程、研究生命的本质上具有潜在的优势，开展相关研究成为其面临的一个重大课题。随着微加工技术的日益深

入发展和应用范围的不断拓展，化学与生物传感技术不断朝着微型化、集成化和芯片化方向发展，可以实现实时、活体、原位测定细胞内化学物质的浓度和空间分布情况，为医学、生物学的研究提供专一性、快速、低成本的分析方法。我们的研究小组在这方面开展了许多探索性的研究。研制的亚微米光纤 pH 传感器成功地用于鱼类活体胚胎的 pH 监测，而常规方法实现这一测量需要将 1000 个活体细胞捣碎后才能进行<sup>[91]</sup>。分子信标 DNA 荧光探针是一种连有荧光基团和熄灭基团的单链低聚核苷酸，对单碱基不匹配的单链低聚核苷酸具有很高的识别性<sup>[92]</sup>，我们通过生物素-亲和素反应固定分子信标在光学波导和亚微米光纤表面，制备了 DNA 生物传感器用于活体细胞的分析<sup>[93]</sup>。为了进一步降低传感元件的尺度，我们发展了核壳型生物纳米颗粒，并建立了相应的痕量分析新方法<sup>[94]</sup>。<sup>95]</sup>。在荧光纳米颗粒上进行生物修饰固定羊抗人 IgG 抗体，获得具有特异性识别功能的生物荧光纳米颗粒，实现了对人外周血中 SmIgG<sup>+</sup>B 淋巴细胞的识别<sup>[96]</sup>。

目前在国际上，化学与生物传感技术在仪器化、商品化方向已取得较大进展，许多生物物质如糖类、氨基酸、蛋白质、DNA、抗原、抗体等和一些药物、致癌物质等小分子物质都有相应的分析仪器，而且能快速同时测定多种生物物质的生物芯片也已出现。利用化学与生物传感技术和先进的微加工技术制成的各种微全分析系统（Micro-Total Analysis System,  $\mu$ -TAS）或称芯片实验室（Lab-on-Chip）已取得令人瞩目的进展，毛细管电泳芯片即是其中代表之一<sup>[97-115]</sup>。人类基因组工程的进程提前五年完成，就大大得益于 96 根阵列毛细管电泳的实用化。毛细管自由溶液电泳是最早移植到芯片上的一类方式，D. J. Harrison 和 A. Manz 等人在玻璃芯片上用 15 秒钟完成了六种氨基酸的分离<sup>[100]</sup>。此外，在应用于对氨基酸的手性分析中，Hutt 等在 4 分钟内完成了样品分析，并用 HPLC 对结果进行了验证，表明芯片完全可以满足要求<sup>[106]</sup>。图 1-1 是毛细管电泳芯片的一个实例（R.S. Pai et al., 从因特网下载）。经过十几年的发展，毛细管电泳芯片已从研究实验阶段逐步向实用化、产业化方向发展，现已有几家领先企业如 Agilent、Caliper 和 Shimadzu 等公司可以制造出较为完备的毛细管电泳芯片分析仪器。可以相信，新型传感技术和分析仪器的不断深入研究，必将促进生命科学和其他相关领域的快速发展。

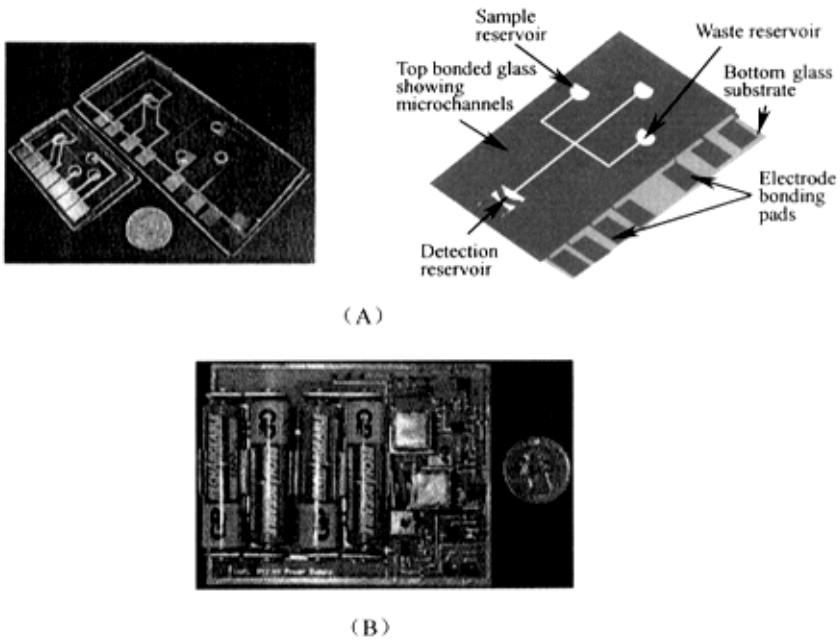


Fig.1-1 Lab-on-chip microsystems (A) and CE portable high voltage power supply (B).

## 1.2 基于 RI 量测技术的光纤/毛细管液相色谱传感器

在光纤化学传感器中，开发光纤包层的色谱分离性能，实现具有同步分离分析功能的色谱传感是一种新颖、独特的构思<sup>[116-121]</sup>。其思想是在光纤表面涂敷一层薄的色谱固定相，该涂层亦作为光纤的包层保证光纤内的光束可以在临界角处以全内反射的方式<sup>[122]</sup>传输；将这根光纤插入一根长的毛细管中，构成一个环状柱形的传感元件，待分离的样品则从毛细管的另一端由流动相引入，当样品中的分析对象在流动相与光纤表面的固定相之间进行分配时，进入光纤包层的分析对象会改变所处位置的包层折射率（RI），从而改变光纤的传光属性，导致部分传输光不满足全内反射，形成漏模，在光纤侧面散射出来；此时结合模式滤光检测<sup>[119]</sup>，即将检测器置于光纤/毛细管侧面，检测这些散射出来的模式滤光，即可在色谱分配的同时获得高灵敏的实时响应信号。在这样的传感体系中，在对分析对象完成了色谱分离的同时也获得了光化学信号。可以认为，基于光导纤维的色谱传感是光学式化学传感信号转换技术的一项重要发展。

### 1.2.1 折光率检测

在光纤化学传感器领域，有大量的研究工作都是开发光纤本身作为传感元件，即在光纤的侧壁进行化学或生物修饰，这样分析对象与修饰层的作用会改变光纤的传输光的能力，从而利用对光纤中传输光的调制实现对分析对象的检测<sup>[123, 124]</sup>。（在光纤化学传感器中，另一部分工作是在光纤末端端面进行修饰，分析对象与修饰层的作用不会影响光纤的传光能力，光纤的功能主要是起传光作用<sup>[125, 126]</sup>。）基于消失波检测的光纤化学传感器是这方面工作的突出体现，在这方面的文献报道中占了一大部分<sup>[127-133]</sup>。不过消失波检测却很少应用于气相样品<sup>[134]</sup>，一般多用于液相样品，其原因主要是因为气相介质较液相介质稀释了一千多倍，因而使痕量组分的检测困难得多。基于样品折射率变化的监测是光纤化学传感器的另一种重要的检测方式，在这一类传感器中，其传感元件大多未经化学或生物修饰，无需通过化学或生物反应进行信号的转换，直接检测样品基于折射率的光学信息变化。由于这类传感器不像化学或生物修饰型光化学传感器那样存在修饰层中试剂的洗脱、光漂白或失效的问题，其寿命相对而言长得得多，稳定性也更好。另外，在响应机理方面也不存在样品与修饰层中敏感试剂的相互作用过程，因而响应时间较之修饰型传感器要快得多。虽然这类传感器的选择性受到制约，在检测的分析对象方面也远不及修饰型的光纤化学传感器，但由于稳定性好、寿命长、响应迅速，这类传感器在实际应用方面处于领先地位<sup>[122]</sup>。

早在 1976 年，D. J. David 等成功的构造成一类光纤折光仪，并用作 HPLC 的检测器，检测了苯、甲醇和丙酮，灵敏度达到  $7 \times 10^{-5}$  折射率单位<sup>[135]</sup>。基于样品折射率变化的测定血样中葡萄糖浓度的光纤化学传感器也研制了出来，该传感器在测定血样中葡萄糖的浓度时，灵敏度好于 0.1%<sup>[136]</sup>。另一种有趣的双光纤缠绕传感器装置被提出，该传感器在用于燃油质量的鉴定，油中水的含量和油中 TCE(三氯乙烷)的含量的测定中获得良好结果<sup>[137]</sup>。化学修饰型的基于样品折射率变化的光纤化学传感器也有报道。基于消失波耦合的对折射率敏感的化学修饰光纤化学传感器被用于具有快速响应的 pH 测定，体系中的敏感材料包含一离子交换膜，用于对 pH 的选择性响应，若修饰薄层进行化学识别后其折射率变化高于  $5 \times 10^{-3}$ ，则该传感器的检测可覆盖敏感层的整个 pH 范围<sup>[138]</sup>。

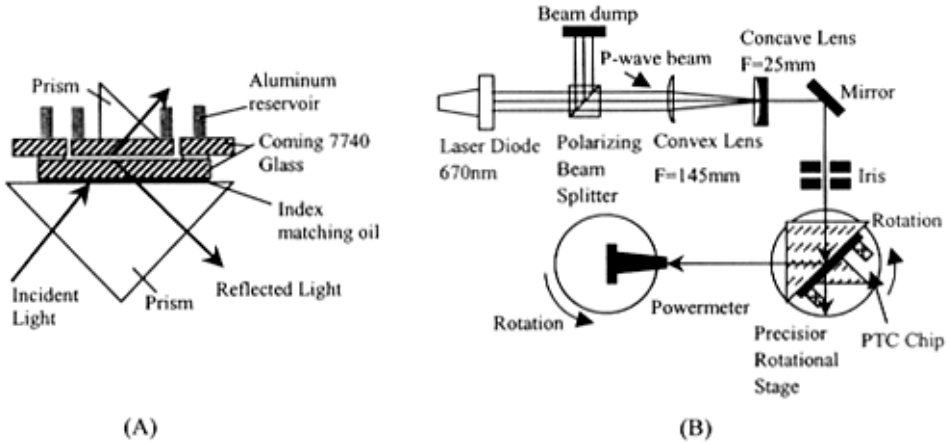
光纤/毛细管色谱传感采用的正是一种基于折射率变化的检测技术。作为一种通用检测技术,折射率检测已得到许多应用,已经应用于大多数物质在固相、液相和气相状态下的检测。在高效液相色谱(HPLC)和毛细管电泳(CE)分离技术中,将RI测量作为一种通用型检测一直受到人们的关注。一般说来,溶液的折射率与溶液组成、浓度及温度有关,RI检测法作为一种浓度敏感型且非破坏性的技术,在传统的HPLC分离中受到一定应用。一般的RI检测器的最主要的缺点是灵敏度低,但与其它类型检测器相比,它的通用性强,并且具有非破坏性,可以不需要衍生,即可直接检测分离组分,像激光诱导荧光(LIF)检测器虽然灵敏度很高,但对大多数样品需要衍生,特别是对多数生物样品,难于直接进行荧光检测,而实际上,在许多情况下,要求快速分离检测,特别是对生物样品,要求保持生物活性或需要回收,甚至要求在体分离检测的情况,衍生操作更是不适宜的。紫外-可见吸收检测器属于较通用的检测器,但在毛细管色谱和CE中,由于吸收光程短,检测灵敏度受到限制。由于这些原因,研究者门一直在努力将RI检测发展成为一种能满足毛细管分离所需的具有相当灵敏度的通用型检测方法,实现毛细管在柱的直接监测。目前,RI检测在毛细管分离应用中遇到的关键问题是如何在低至纳升的微体积范围内实现检测的微型化,而不牺牲检测的灵敏性能。

在S. D. Woodruff和E. S. Yeung的工作中,Fabry-Perot干涉仪提供了很好的灵敏度,它能提供微升体积的检测,但是构造昂贵<sup>[139]</sup>。G. Gauglitz等报道了折光干涉光谱法测量水中的有机毒害物,这项技术利用了溶质在反向溶胀的膜上因吸收产生的光程变化进行检测,该法在毛细管技术的应用中受到限制<sup>[140, 141]</sup>。D. J. Bornhop等研究了一种激光离轴毛细管在柱检测技术,能够探测纳升体积,并且已应用于微LC分离中,可以检测糖至pg的量<sup>[142, 143]</sup>。A. E. Bruno及合作者进一步发展了前向散射离轴技术,显示如果将毛细管浸入RI匹配液中还将提高其检测性能<sup>[144]</sup>。近年来发展的浓度梯度检测法和干涉型的RI检测法等都是基于对灵敏的微体积RI检测法的研究。

一个发展起来的重要的基于折射率敏感的传感技术就是表面等离子体共振(SPR)。SPR生物传感分析技术作为研究生物大分子间相互作用的有力工具,已经在生命科学中获得了迅猛的发展。由于该技术的实时监测性、样品无需标记及快速自动化等突出的优点,其应用领域已从最初的单纯研究免疫中抗原抗

体相互作用的动力学机制扩展到了细胞粘附、蛋白伴侣等许多新型领域。金钦汉等用人工合成  $\gamma$ -干扰素寡聚核苷酸作为 DNA 探针，化学法标记生物素探针，利用生物素-亲和素系统相互作用在传感器表面固定 DNA 探针，实时检测 DNA 探针的固定过程及 DNA 杂交反应的进行<sup>[145]</sup>。R. M. Georgiadis 等研究了在静电场存在下 SPR 光谱原位监测未标记 DNA 在金表面核酸单分子层的杂交动力学<sup>[146]</sup>。我们研究小组研制出了基于波长信号变化的高灵敏度的乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 免疫传感器，能定量检测人血清中 HbsAg 的含量<sup>[147, 148]</sup>。

在新近的研究进展中，有一种基于光子隧道效应的折光率传感器值得一提<sup>[149]</sup>。研究者利用成熟的微加工技术，将传感器部件设计并构造成纳米级超微流体通道的所谓光子隧道芯片，芯片的尺寸大小只有 1.5cm×2.0cm，被用于检测超微体积流体中化学成分的变化。其传感部件及光学构造如图 1-2 所示。



**Fig.1-2** (A) The design of photon tunneling chip and sensor system. The sensor chip is mounted on the large prism and the small prism is mounted on the chip to extract the tunneling light. (B) Optics set-up.

### 1.2.2 涂层技术：

基于模式滤光检测的光纤/毛细管液相色谱传感技术的一个关键内容是在光纤表面进行色谱固定相的涂渍。在这里，光纤/毛细管液相色谱传感属于开管柱液相色谱 (OTLC) 范畴。因此，它的固定相涂渍方法与通常的 OTLC 中固定相涂渍有类似之处，但由于前者是在光纤的侧壁表面上涂渍，而后者是在毛细



管的内壁表面上涂渍，因而在涂渍技术上具体有所区别。

开管柱毛细管柱首先是在气相色谱中（GC）得到应用，这是 Golay 在五十年代开创的工作，如今开管柱气相色谱（OTGC）已成为复杂组分分离的重要工具。开管柱液相色谱是七十年代开始发展起来的，目的是实现 LC 更高的柱效、更好的检测性能、更少的进样量，以及极大地降低流速和流动相的耗费<sup>[150-161]</sup>。但是，与 OTGC 相比，OTLC 目前仍处在实验室研究阶段。最重要的原因是溶质在传质过程中的扩散速率在液相和气相中存在很大的差距，在气相中几乎是在液相中的  $10^4$  倍，这导致液相毛细管柱的管径要比气相毛细管柱要细得多。举例而言，在 OTGC 中，假设流动相流速为 10cm/sec，管柱内径为 250  $\mu\text{m}$ ，若流速控制在 1cm/sec，则毛细管内径只有 8  $\mu\text{m}$  左右<sup>[152]</sup>。显然，毛细管内径的大幅降低会给常规的毛细管涂层、检测等技术带来不小的困难。研究者们多年来进行了不懈的努力以解决这些问题。例如，在发展高灵敏的检测器上，最近有工作将 OTLC 与电喷射离子质谱（ESI-MS）结合起来，实现 OTLC 的高柱效和 ESI-MS 的高灵敏检测<sup>[162]</sup>。

选用合适的固定相涂渍材料制备具有良好的保留特性的毛细管柱是发展 OTLC 的关键技术。给毛细管内部涂敷合适的材料，可以达到抑制样品吸附、改善分离、改变分离机制等目的。有关固定相涂层方面的工作有物理涂敷<sup>[119, 153]</sup>、化学键合<sup>[154]</sup>、离子交换<sup>[155]</sup>、sol-gel<sup>[163]</sup>以及分子印记<sup>[164-167]</sup>等等。可以说，制管技术是毛细管色谱（包括电泳）中非常重要的内容，在这方面的研究有很大的发展潜力。

早期的毛细管柱多使用塑料及不锈钢等金属作材料，现在，石英由于其表面化学惰性好，抗张强度高，可拉制成优质的弹性薄壁毛细管柱，而成为制备毛细管柱的理想材料。在壁涂开管柱（WCOT）中，玻璃表面的化学性质对色谱行为有着显著的影响，其表现为色谱峰的拖尾，甚至出现被分离物质完全被吸附或分解。当 WCOT 柱壁上的固定液涂层很薄时，分析对象与柱壁间的相互作用还很大。研究者们借助许多表面分析技术对玻璃表面特性的研究表明，毛细管柱壁的吸附和催化活性主要受玻璃表面的金属杂质和表面活性基团的影响。若要制得高效、惰性的毛细管柱，形成一层薄而均匀的固定液膜是至关重要的。因此，在涂渍固定液之前必须对柱表面进行适当的预处理，以除去表面的活性中心，和改变表面特性提高对固定液的润湿性。为达此目的，通常采用

两种途径对玻璃表面进行改性，一是表面粗糙化处理，二是表面去活。玻璃表面的粗糙化可增大表面积，使得它与液体间的接触角减小，从而提高表面的浸润性，这通常是采用表面腐蚀和表面沉积惰性微粒物质来实现。但表面的粗糙化使活性也随之增大，这对于涂渍非极性和中等极性固定液的柱子将会造成严重吸附，对于极性固定液柱，固定液膜的热稳定性也受到不利影响。现在最常用的去活方法是表面硅烷化，它是消除表面羟基活性基团的最有效方法。

经过处理的柱表面上可以涂渍一层均匀的、厚度通常为  $0.05 - 0.5 \mu\text{m}$  的固定液膜。对于获得柱子可能的最高分离效率、分辨能力和柱容量来说，这一点是十分必要的。

最近的研究表明,新型涂层技术如 sol-gel 技术、分子印迹技术等已在 WCOT 上获得了较好的应用。Y. Guo 和 L. A. Colón 使用 sol-gel 技术成功地涂渍了 OTLC 和开管柱电色谱(OTEC)的  $C_8$  固定相，用该方法涂渍的固定相比表面大，固定相的保留特性可通过调节 sol-gel 溶液的配比来控制，OTLC 的柱效达到了 204,000—285,000 塔板数/米，而 OTEC 的柱效更是高达 280,000—500,000 塔板数/米<sup>[163]</sup>。分子印迹技术目前发展十分迅猛，已在化学仿生传感器、模拟酶催化、酶分离技术、特别是色谱中对映体和异构体的分离等领域表现出良好的应用前景。目前尽管已有直接的手性合成，酶拆分和其它一些分离技术，但由于分子印迹聚合物(MIP)与酶相比具有不受各种恶劣环境的影响而又具有与酶相似的专一性和选择性，因此，分子印迹技术在分离对应异构体方面有其独到之处<sup>[165]</sup>。这方面工作已获得应用，Z. J. Tan 和 V. T. Remcho 在  $25 \mu\text{m}$  内径的毛细管内壁上壁涂了 MIP 固定相用于反相 HPLC 和 CEC<sup>[166]</sup>，O. Brüggeman 等人也制备了壁涂 MIP 毛细管用于 CEC 中<sup>[167]</sup>。

涂渍方法分动态涂渍和静态涂渍两种，这方面工作有很多篇论文和专著论及，在此不再详述。

### 1.3 本论文开展的研究工作

本论文从基于光纤模式滤光检测的机理入手，致力于研究一类新型的基于模式滤光检测的光纤化学与生物传感器。所谓模式滤光，是指分析对象进入光纤包层引起光纤芯包界面的折射率增加，导致光纤内的部分传导模不满足传导条件而从光纤的包层中侧漏出来的光学信号，它与包层折射率的增量在一定条

件下线性相关。因此，模式滤光检测为光学式化学与生物传感器获取光学信息发展了一条新的途径。模式滤光检测和传统的检测方式相比，检测器的位置由光纤末端改放在光纤侧面，获取光纤侧面产生的模式滤光信号，由于光纤侧面的背景光远较光纤末端的出射光背景小，因而较之检测光纤末端的出射光有多得多的信噪比和灵敏度。

本论文的研究工作分为两部分。第一部分开展了仪器的开发和研制工作，以及基于光纤模式滤光检测的信号传感理论研究：

一、开发和研制基于裸光纤体系和基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置。这部分工作涉及如下几个关键问题：

1. 光源与光纤之间的光耦合技术；
  2. 进样装置的构造以及参数的选择；
  3. 处理和修饰光纤/毛细管环状柱传感元件的技术平台；
  4. 传感装置各部件尺寸或参数的选择，设计、加工和组装；
  5. 多通道检测系统的构造，数字信号的采集及软件的开发；
- 等等。

根据我们的设想，我们研制出了基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感装置和基于多组分同时选择性响应的修饰光纤模式滤光色谱传感装置。由于这项研究工作的新颖性，香港浸会大学从本实验室购置了两台我们自行研制的模式滤光传感装置，并开展了相关的合作研究。在此基础上，我们进一步发展了全新的基于光纤模式滤光检测的毛细管电泳装置，并申请了专利。

二、从光学波导的基本原理出发，从理论上探讨了光纤模式滤光检测在获取高信噪比和高灵敏度的信号上所具有的突出优势。为了解决实验中裸光纤体系与修饰光纤体系在获取模式滤光信号上出现的不一致现象，即裸光纤体系中随着分析对象的折射率增大，获取的模式滤光信号呈下降趋势，而在修饰光纤体系中分析对象的折射率增大，获取的模式滤光信号却是增大的，我们从光的能量辐射学入手，详细地讨论了光辐射能在传输路径上的反射与透射，获得了模式滤光信号产生的细节，以此建立了模式滤光检测的新模式。通过详细的理论推导和分析，合理地解决了这一看似矛盾的问题，二者看似不一致，实际上是对立统一的。

在修饰光纤体系中，定量分析待测物质与光纤涂层相互作用所产生的模式

滤光信号，是我们开展光纤模式滤光化学与生物传感的理论基础。在修饰光纤体系定量获取模式滤光信号的理论研究中，我们以我们所用的石英光纤为例，推导了光纤模式滤光信号的理论表达式。我们获得了模式滤光信号的函数关系，它与分析对象的容量因子，分析对象的折射率、进样体积和进样浓度以及流动相的线性流速有关。对这个表达式的研究表明，对一给定值的装置，检测器的灵敏度主要由两项决定。一项是随着分析对象和包层间的 RI 差值的增大，灵敏度将提高，这一项类似于普通 RI 检测器中描述分析对象选择性的项，只不过 RI 差值在模式滤光检测中是相对于固定相而言，而在普通 RI 检测中是相对于流动相而言。另一项是分配常数  $K_d$ ，它表明聚合物包层的亲和性越强，对分析对象的灵敏度越高，这一项同时还显示模式滤光检测方法受化学的选择性和 RI 的灵敏度共同决定。增加流动相中水的含量能使疏水分析对象的分配常数变得很大，然而，分配常数的增大也引起容量因子和保留值的增大，从而导致分析时间的延长并导致流动相中分析对象区带的展宽和稀释。对这个表达式的研究还表明，减小固定相涂层的厚度，有利于在增大分配常数  $K_d$  的同时保持适当的容量因子，这对获得理想的模式滤光信号具有十分积极的意义。

论文的第二部分工作开展了基于多通道光纤模式滤光检测的化学与生物传感的应用研究。利用基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感装置，我们实现了对乙醇体系、乙二醇体系和醋酸体系的实时、快速监测，利用基于多组分同时选择性响应的修饰光纤模式滤光色谱传感装置，我们获得了溴苯和甲苯混合组分的同步光学和色谱信息，利用模式滤光毛细管电泳装置，我们实现了混旋色氨酸的手性拆分。

三、利用研制的裸光纤模式滤光传感装置分别对乙醇、醋酸和乙二醇的水溶液体系进行了实时、快速监测。实验表明，在 0~50%(v/v) 的范围内，对乙醇的测定线性相关，相关系数为 0.9972；测定醋酸的线性范围是 0~90%(v/v)，相关系数是 0.9980；测定乙二醇的线性范围是 0~60%(v/v)，相关系数是 0.9966。应用该传感器装置分别对白酒中的乙醇、食用醋中的醋酸含量进行测定，并用通用方法作了对照实验，获得满意结果。该传感器通用性好，响应迅速，具有良好的重现性和可逆性，接上流动注射进样系统还可进行流动注射分析(FIA)。

四、利用修饰光纤模式滤光色谱传感装置开展了溴苯和甲苯混合组分的同时选择性响应和多通道信号分析的研究。在以往的化学传感器中，一般较少涉

及色谱内容，而在复杂的真实体系中，选择性就成为构造化学传感器的一个重要参数。多通道在柱同步分离分析光纤色谱传感器将色谱分离技术与化学传感技术结合起来，利用色谱分离技术实现传感器对混合体系中多组分的同时选择性响应，并利用电荷耦合器件（CCD）的多通道检测技术，巧妙地实现对多组分的同时分离和多通道信号的检测，从而为发展多通道和多功能光化学传感器提供了一条切实可行的重要思路。我们发展的固定相涂渍方法解决了色谱传感器中敏感膜的稳定性和使用寿命的问题，灵敏度和色谱峰形也得到了极大的改善，同时我们对修饰涂层做了 AFM 表征。实现在柱同步分离分析的一个重要内容是通过多通道检测提取整段色谱过程中的实时、在柱信号，并通过对这些多通道信号进行解析，从而获取多元体系中分析物质的组成和浓度等化学信息，显著提高多组分混合物中分析组分测定的精度。本研究采用了多元校正的偏小二乘方法对溴苯、甲苯混合物体系进行了定量分析，获得了满意的结果。

五、利用模式滤光毛细管电泳装置开展了基于 sol-gel 包埋 BSA（牛血清白蛋白）手性固定相对混旋氨基酸进行手性拆分的研究。模式滤光检测是一种基于 RI 测量的光纤传感技术，RI 检测作为一种浓度型且非破坏性的通用型检测技术，在 CE 检测方法的研究中一直为研究者所关注。sol-gel 技术对于热稳定性和化学稳定性差的蛋白质等生物大分子而言是一种理想的固定化方法。我们较深入地研究了实验体系的影响因素和优化条件。研究表明，基于光纤表面修饰的模式滤光 CE 无论在获取体系的分离信息还是在检测信号上，较之无涂层修饰的模式滤光 CE 都有明显的改进。从理论和实验两方面来看，我们期望多通道模式滤光 CE 在生物分子和药物分子的手性拆分上、在研究生物大分子和药物分子之间相互作用的生物特征上，可以获得良好的应用。

## 第一部分 基于光纤模式滤光检测的化学传感理论与仪器研制

### 第二章 基于裸光纤体系和基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置的开发及研制

我们的研究工作是从基于裸光纤体系的模式滤光传感装置的研制上开展起来的。由于是一个新的研究方向，我们在设计和构造传感装置方面进行了许多探索，积累了一定的知识和经验，利用该传感装置开展了基于通用和快速检测的裸光纤体系的理论分析和应用研究。在此基础上，我们进一步发展了基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置，开发了传感装置的固相萃取和多通道检测功能，传感装置的整体性也得到了很大的提升。

#### 2.1 基于裸光纤体系的模式滤光传感装置的开发及研制

##### 2.1.1 关键部件

###### 1、光源

在光纤传感器中，光源具有非常重要的地位。对任何光纤系统而言，高亮度光源都是极其重要的，在选用光源时，应注意实现与光纤的最佳功率耦合。光源通常分为两大类，即相干光源和非相干光源，这是就基于原子的受激辐射和自然辐射所发射的不同光而言。激光器属于相干光源，白炽灯、半导体发光二极管(LED)为非相干光源。光纤传感器性能各异，对光源的具体要求有很大的差别。

激光器是一类性能极其优良的光源，基本上是由放置在由两个(或多个)反射镜构成的谐振腔内的具有光增益的介质组成。在介质中先产生自发辐射，再通过受激发射进行放大，谐振腔对光学放大器提供反馈。根据激光材料的形态可以将激光器分成固体激光器、气体激光器、液体激光器和半导体激光器等四种。作为光源，激光器具有非常好的单色性、相干性、方向性以及高亮度等特性。在构造传感器时，我们选用了半导体激光二极管(LD)作光源。简单地说，

一个激光二极管原则上就是由一个串联电阻尽可能低的 p-n 结组成，它是工作在激光区的半导体光源。和其他激光器相比，LD 除了具有激光四性外，还具有半导体器件的体积小、重量轻、结构简单、使用方便、效率高和工作寿命长等优点，与光纤的特性相容，同时光耦合效率高。因此，在研制基于样品折射率变化的光纤模式滤光化学传感器时，我们选用了 LD(由 Power Technology Inc.提供)作为最佳光源。

## 2、检测器

检测器的灵敏度是非常重要的参数。光辐射的检测一般是先将辐射能转换成电信号，再用常规方法测定电学信号的强度。在光纤化学传感器中较常用的检测器有光电二极管(PD)和光电倍增管(PMT)，它们具有较高的灵敏度。

电荷耦合器件(CCD)是一类较新型的半导体检测器件，由纵横排列有序的众多(现已可达百万个)光电二极管及译码寻址电路组成。当入射光子照在 CCD 上时，每个光电二极管会因感受到的不同数量的光子而耦合出不同数量的电荷，这些电荷通过译码电路被传输到输出端，经 A/D 转换形成一个二进制数字量。简而言之，CCD 就是一种以电荷包的形式存贮和传输信息的检测器件。将 CCD 应用于分析化学领域已有十余年历史，如今将 CCD 作为重要组件的科研仪器也已经商品化，作为检测器，CCD 在分析化学的许多领域中得到了应用，例如，分子发光(包括荧光<sup>[168-170]</sup>、化学发光<sup>[171]</sup>等)、原子发射光谱<sup>[172, 173]</sup>、拉曼光谱<sup>[174-176]</sup>、X-射线衍射<sup>[177]</sup>、显微术<sup>[178]</sup>、分离<sup>[179-182]</sup>和质谱<sup>[183]</sup>等等。CCD 获得如此大的发展，在于 CCD 为分析量测技术提供了多通道检测、高灵敏度、低检测下限以及低噪声等优点，特别是 CCD 作为二维阵列检测器，它提供的多通道检测技术与单通道检测相比具有无法比拟的优势。而且，CCD 坚固耐用，价格选择范围也很宽，高端和低端 CCD 系统都有，可根据实验要求进行选择。目前，国内的 CCD 技术和应用尚处在起步阶段，在分析化学领域内开展应用研究工作的不多。基于 CCD 系统的上述优势，结合实验要求，本研究工作选用了天津联惠利有限公司开发的 TCD1206UD 线阵 CCD 数据采集系统。该系统价格便宜，体积小，带有一个数据采集卡，与计算机联用很方便，但没有相应的应用软件，需自己开发解决。该 CCD 的使用保证了传感器的检测灵敏度，并且为传感器获取多维响应信号提供了多通道检测条件。

### 3、敏感元件

敏感元件由一段石英光纤和石英毛细管组成。石英光纤由北京玻璃研究所购得，去掉敷层后的裸光纤直径为  $380\mu\text{m}$ ；空柱石英毛细管内径为  $530\mu\text{m}$ ，由河北永年光导纤维厂生产。将石英光纤的裸光纤部分插入毛细管中即构成传感体系的敏感元件，让待测溶液在光纤与毛细管之间的空间流动，溶液的体积可控制在数微升。

### 4、进样系统

进样系统包括一个液体进样阀和一个蠕动泵，进样阀从大连化物所购得，LDB-M 电子蠕动泵为浙江象山定山仪器厂生产。该进样系统结构简单，价格便宜，操作方便，可控制进样速度和进样量。而且，对传感装置稍加改进还可用于流动注射分析(FIA)。

### 5、光纤及光源微调定位器件

光源与光纤端面的光耦合是研制该传感器的一个关键技术。为了保证良好的光耦合，从上海联谊光纤激光器械厂购买了 5-01-5VO 型  $0.1\mu\text{m}$  精密五维光纤微调架、S-J-2 圆柱形微调升降支架、S-B-2VB 型精密二维微调平移台及光纤夹，并加工了一个定位圆盘。

### 6、平台

加工了一操作平台，将传感器的各部件全部固定在平台上，以保证传感器操作时的稳定性。

### 7、暗箱

避免环境光对传感器的干扰。

## 2.1.2 仪器的研制和组装

根据构想，我们设计的新型传感装置如图 2-1 所示：取一段长约 24cm、内径  $530\mu\text{m}$  的石英毛细管，毛细管一端与进样阀相连，使分析对象通过进样阀被引入毛细管。毛细管的另一端插入一根石英光纤，插入毛细管的光纤部分被剥去了涂层，芯径为  $380\mu\text{m}$ 。自制一平台，用于传感装置各部件的固定和组装。将连上进样阀的光纤毛细管柱装在平台的固定位置上。



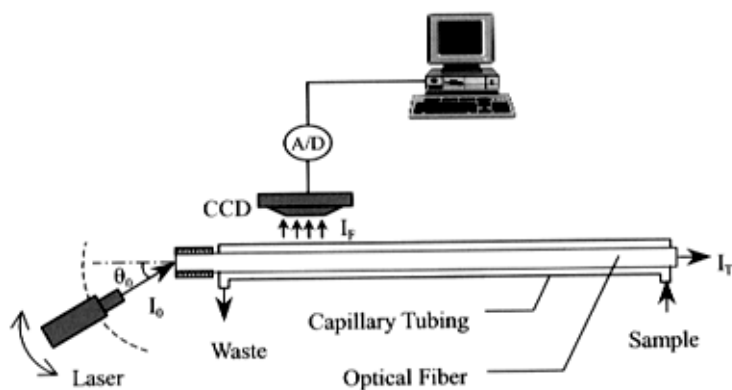


Fig.2-1 Schematic of unmodified fiber-optic mode-filtered light chemical sensor.

激光源的光束与光纤端面的耦合情况如图 2-2 所示。加工一个定位圆盘，将光纤端面正好置于圆心处并固定，光源放在圆周上，可沿圆周移动，光源发出的光正好射在圆心处，这样，在一定角度范围内改变光源到光纤端面的入射角  $\theta_0$  时，耦合进去的光的总量理想状况下基本保持不变。

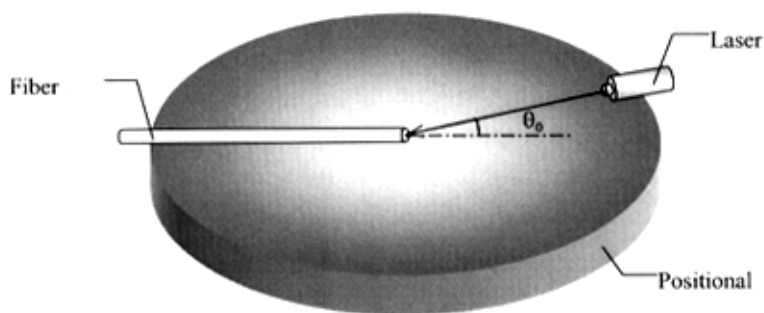


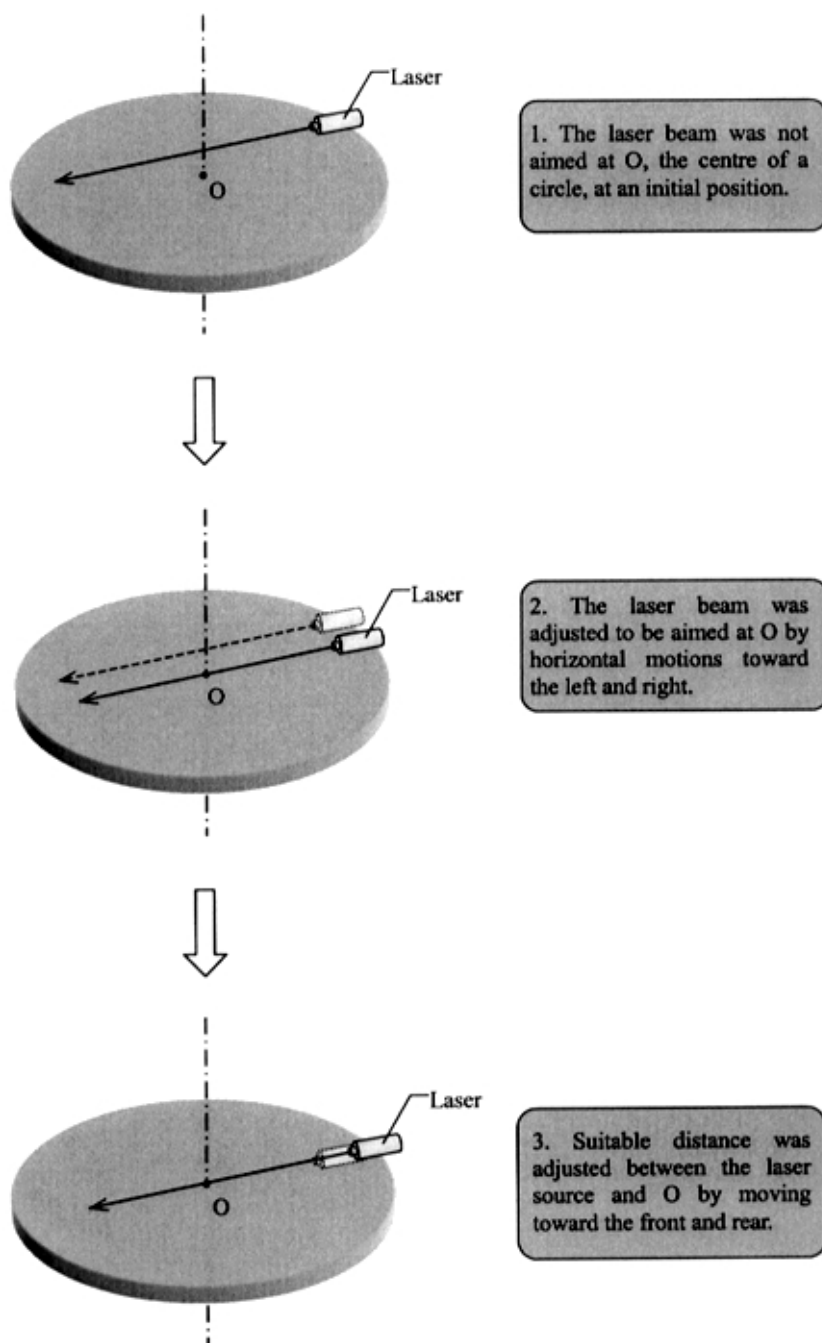
Fig.2-2 The positioning stage for coupling the laser beam in one distal end of the fiber optic.

检测系统由带有一块数据采集卡的 CCD 组成，CCD 检测器通过一根塑料光纤收集光纤侧面散射出的模式滤光信号，然后通过数据采集卡由计算机记录和处理。CCD 置于光纤/毛细管柱一侧，与组装好的光纤/毛细管环状柱传感元件一样，固定在一个加工好的暗箱中。

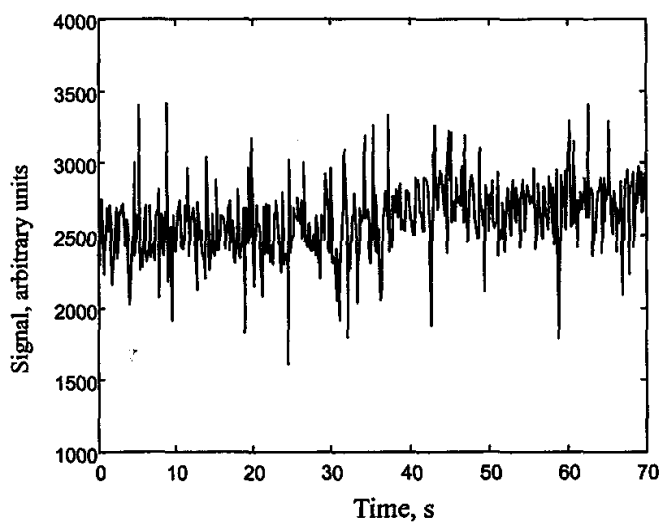
### 2.1.3 结果与讨论

光源与光纤的光耦合是研制该传感器的关键。为了保证光源在一定的入射角范围内均有良好的光耦合，我们设计并加工了一个定位圆盘，如图 2-2 所示，激光源固定在圆周上可沿圆周移动，光源发射的光正对圆心，而光纤端面正置于圆心处。这样，在一定角度范围内改变光源到光纤端面的入射角，耦合到光纤内的光的总量就可以基本保持不变。为了保证光源对准光纤端面，首先将激光源固定在一个二维微调平移台上(可前后和左右两个方向移动)，以调整光束通过定位圆盘的圆心。图 2-3 显示调整激光源对准圆心的过程：假设激光源最初未对准圆心，那么通过平移台的左右移动可将激光调至对准圆心，然后再通过前后移动调整激光源与圆心的距离。激光调准好后，接着，通过五维光纤微调架，将光纤端面调整到定位圆盘的圆心上方，再调节光纤端面中心与光束保持同一水平。这样，便解决了最关键的光耦合技术上的问题。

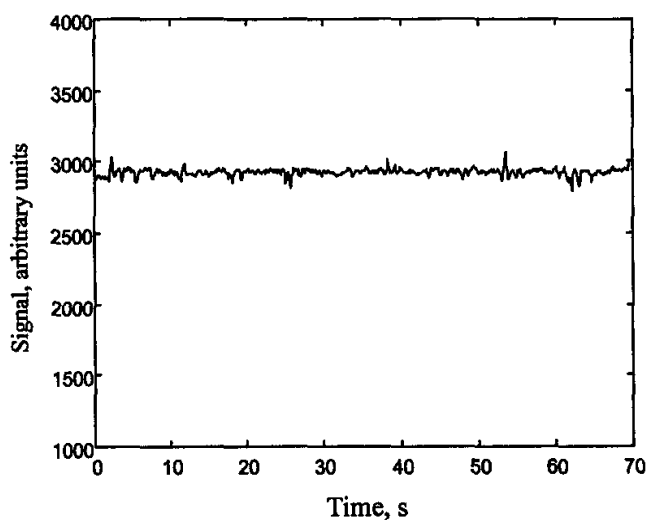
装置的稳定性是影响传感器性能的一个重要因素。在该传感器中，装置的稳定性由一个固定平台提供，进样阀、敏感元件、检测器都紧固在平台上的既定位置。在敏感元件中，毛细管一端通过连接件与进样阀相连，另一端供废液流出。由于毛细管细长而具有一定的柔韧性，需要有一个托架将其托住固定以保证其不发生微小的振动或位移，给检测带来影响。我们考察了装置的光耦合与稳定性对模式滤光检测的影响，从图 2-4 可以看出，装置的光耦合与稳定性未得到改善前，模式滤光信号的噪声较大，而且信号不稳定，有漂移现象；而装置的光耦合与稳定性得到改善后，噪声则降低了较低的水平，且信号稳定。不过，我们购置的 CCD 数据采集卡性能不太稳定，最初购买的数据采集卡噪声较大，后更换了一块，性能得到了改善。在此提到这一点，主要是想说明在我们的日常研究工作中，随时会有各种可能因素困扰着我们，影响研究进度，因此需要我们从多个角度去思考和解决问题。



**Fig.2-3** Position adjustment of the laser source on the positioning stage for focusing the laser beam on the centre of a circle, O.



(A) by unimproved device



(B) by improved device

Fig. 2-4 Noise comparison of the unimproved sensing device and the improved sensing device.

传感器的安装是一个谨慎和细心的工作。在构造敏感元件时，需要先对石英光纤和石英毛细管进行处理。石英光纤插入毛细管内的部分要剥去敷层，变成裸光纤，做法是将这段要剥去敷层的光纤部分浸泡在浓  $H_2SO_4$  中，放置两天左右，待敷层脱落后再将光纤取出，用水洗净。

CCD 检测器与毛细管的检测部位之间通过一根塑料光纤连接起来，在毛细管侧面散射出的模式滤光由塑料光纤收集并传输给 CCD，再通过数据采集卡将信号传输给计算机，由计算机记录并处理。实验发现，实验室环境的温度对 CCD 的工作性能有影响，温度的变化会给基线带来漂移。故将实验室的室温控制在  $25^\circ C$ 。若要进一步改善 CCD 性能，应增加一个制冷装置，使 CCD 在低温状态下工作，这样可使暗电流大大降低，以降低背景噪声，提高信噪比和降低检测下限。与 CCD 硬件相配套，我们开发了信号采集软件。程序是用 Borland C 语言编写的，主要可实现 3 个方面的功能：采集信号随时间变化的数据，可获得信号—时间关系曲线；采集信号在不同像元上变化的数据，可获得在某一时刻信号在 CCD 不同像元上变化的曲线，即信号—像元关系曲线；采集信号同时随时间和像元变化的数据，可获得信号—时间—像元的三维响应曲线。开发的软件本身不具备数据处理和作图功能，但可以将采集到的数据以“\*.m”文件格式存于数学处理软件 Matlab 的目录下，由 Matlab 来处理 and 作图。经 Matlab 处理后的数据可以“\*.txt”文件保存，然后用其他作图软件作图，例如 Sigma Plot 软件。

利用研制的传感装置，我们对基于样品折射率变化的模式滤光检测进行了可行性论证。将具有不同折射率的几种溶液：一次水( $n=1.33299, 20^\circ C$ )、无水乙醇( $n=1.36143, 20^\circ C$ )、甘油( $1.474, 20^\circ C$ )、二氯甲烷( $1.4244, 20^\circ C$ )等依次引入毛细管中，并重复多次，发现 CCD 检测到的光信号随毛细管中被引入溶液的不同而发生明显的变化。接着，又配置了一系列不同浓度的甘油溶液(不同浓度的溶液有不同的折射率)，同样分别引入毛细管中，结果获得了相同的现象，即光信号随溶液的不同而有变化。实验证实了这一事实：当裸光纤周围介质的折射率发生变化时，光在光纤中的部分传导模将转变为模式滤光，并灵敏地被光纤侧面放置的检测器检测出来。这表明实验与理论相符。

基于裸光纤体系的模式滤光传感装置结构简单，操作简便，并具有良好的通用性。采用毛细管作流通池的设计，使流通池的池体积大大减小，进样一次

所需试液在微升级。

## 2.2 基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置的开发及研制

基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置是在裸光纤体系的基础上发展起来的，其特点是增加了传感器的色谱功能，其优点主要体现在三方面：一是利用色谱分离技术可以实现传感器对混合体系中多组分的同时选择性响应，二是修饰层的固相萃取可以大大提高模式滤光信号的灵敏度（因样品在光纤涂层中产生的折射率变化而获得的模式滤光信号远大于因样品在液相中产生的折射率变化而获得的模式滤光信号），三是进样量随之大大降低，可以实现亚微升水平上的微体积样品检测。

为了实现色谱传感，传感器的进样装置部件要做重新设计，这是考虑到色谱对进样和流动相都有很高的要求，需要色谱专用的进样系统。我们采用的进样阀是 Rheodyne model 7520 的 0.2 $\mu$ l 微量进样阀，流动相用 Cole-Parmer Instrument Company 生产的 74900 series 注射泵引入，装流动相的注射器是 5ml Hamilton GASTIGHT® Syringe。光源换用了波长 633nm 的半导体激光源（1.5mW 633nm CW laser diode module, RS stock no. 111-346, RS Components）。

用于光源与光纤耦合的定位圆盘被重新考虑设计和加工，原先购买的精密五维光纤微调架、圆柱形微调升降支架和精密二维微调平移台组装在一起稍嫌复杂，价格也不菲，因此在重新设计时将这些组件与定位圆盘作为一个整体加以考虑，加工成一个整体的具有四维微调功能的定位圆盘。重新加工的定位圆盘在功能上和尺寸上与整个传感装置都达到了和谐的统一。

我们在绪论中已经阐述，由于溶质在传质过程中的扩散速率在液相和气相中存在很大的差距，在气相中几乎是在液相中的  $10^4$  倍，因而导致液相毛细管柱的管径要比气相毛细管柱要细得多。出于这一原因，我们在修饰光纤体系中，将光纤和毛细管的尺寸进一步降低，使用的光纤直径为 200 $\mu$ m，毛细管的内径为 250 $\mu$ m。色谱传感实验表明，使用小尺寸的光纤/毛细管环状柱传感元件，在获取模式滤光信号上具有明显的优势。

模式滤光检测的一个潜在优势是可以结合 CCD 多通道检测技术提取整段色谱传感过程中的实时、在柱信号，并通过对这些多通道信号进行解析，从而可能获取多元体系中分析物质的组成和浓度等多参数的化学信息。基于这一目

标，我们将 CCD 检测器放置在毛细管侧面加以固定，并沿毛细管柱设置了四个检测通道，以检测从光纤侧面四个不同位点的模式滤光。

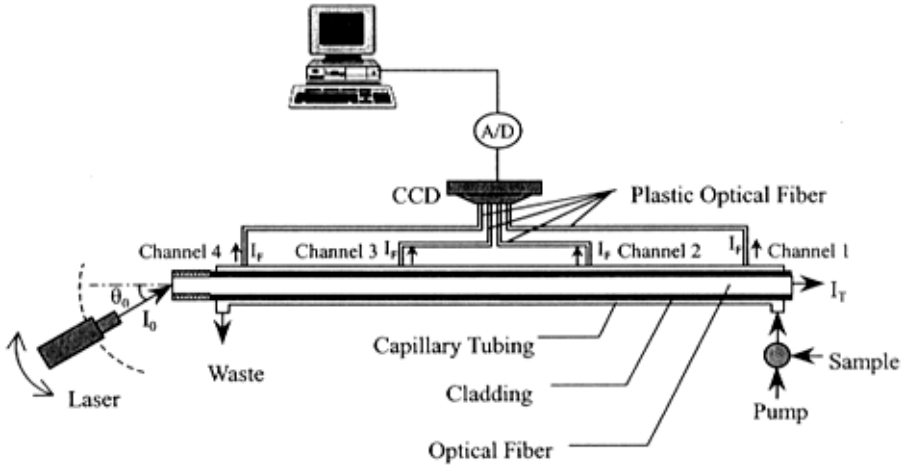
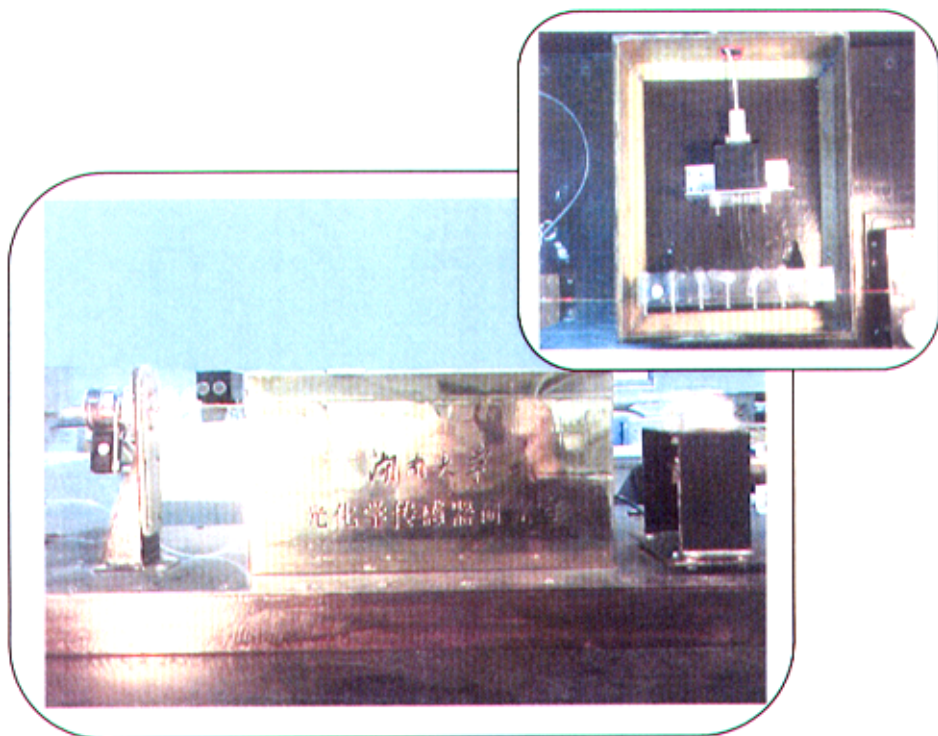


Fig.2-5 Schematic of multichannel fiber-optic mode-filtered light chromatographic sensor.

图 2-5 是基于修饰光纤体系的模式滤光传感装置的结构示意图。它与基于裸光纤体系的模式滤光传感装置的结构相似，最大的区别在进样系统上。另外，传感装置的整体性得到了很大的提升，已具备初步的分析仪器的一定性能和特征。由于这项研究工作的新颖性，香港浸会大学从本实验室购置了两台我们自行研制的模式滤光传感装置，并开展了相关的合作研究。图 2-6 是我们拍摄的模式滤光传感装置的实物原型。



**Fig.2-6** Photographs of multichannel fiber-optic mode-filtered light chromatographic sensing instrument.



### 第三章 基于裸光纤体系和基于修饰光纤体系的模式 滤光传感理论

#### 3.1 光学波导原理

光学波导是光化学传感器的基础，为了深入理解光化学传感器的响应机理与构造方法，在此有必要先了解光学波导的基本构型与原理。

在光化学传感器设计中，占主导地位的波导构型是光导纤维。图 3-1 显示了光导纤维的基本结构<sup>[184]</sup>，它是一种由多层透明介质构成的纤维状光学波导器件，实心纤芯可以由普通玻璃、石英或塑料等透光材料制成，其折射率略高于包层。仅有纤芯和包层的光纤脆弱易断，需经几次涂覆，才能成为有足够强度的成品光纤。起保护作用的敷层一般有一次敷层、垫层和壳层等 3 层结构，一次敷层使用折射率高于包层的快速固化材料，垫层使用硅橡胶等低弹性模数材料，壳层使用尼龙等高强度材料。

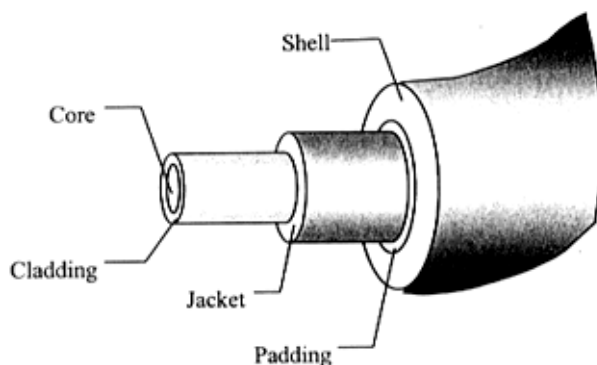


Fig.3-1 Fundamental structure of a fiber optic.

光在光纤中传播的理论，可主要阐述为射线理论和模式理论。射线理论考虑了光的粒子性，用光学中的反射和折射原理来解释光波在光纤中传播的现象，

由于它是根据直觉的物理现象，因而对实验工作者而言，比较容易理解，例如光源的光耦合到光纤端面时，用射线理论容易解释。模式理论则从光的波动性出发，把光波视为一种电磁波，把光纤当作光波导，用电磁场分布的模式来解释光纤中的传播现象。用模式理论可以比较完整和全面地解释光纤中的传播现象，但也存在不足之处。像刚才提到的光源中的光耦合到光纤端面的情形，用模式理论就不那么简单。所以，有时需把射线与模式的概念联系起来。

根据射线理论，光在光纤中传播必须满足全内反射条件。我们知道，当一束光线从光密介质到达与光疏介质相交的界面时，一部分入射光在界面处发生反射，另一部分入射光线则通过界面折射进入另一介质，反射光与入射光的相对强度取决于两种介质的折射率，也与入射光线的入射角有关。图 3-2 显示了一束光线从一种介质射到与另一种介质相交的界面时的情形。根据 Snell 定律，有

$$n_1 \sin\alpha = n_2 \sin\beta \quad (3-1)$$

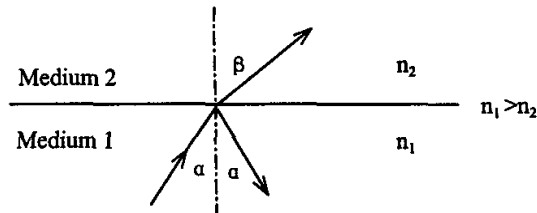


Fig.3-2 Reflex and refraction of light beam on the surface of two mediums.

由于  $n_1 > n_2$ ，所以  $\alpha$  将小于  $\beta$ 。增大  $\alpha$  至某一临界  $\alpha_c$  时， $\beta$  将恰好增大到  $90^\circ$ ，此时入射光不通过另一介质泄漏，全部在同一介质中反射，这时即发生了全内反射。当  $\alpha > \alpha_c$  时，会发生同样的情况。因此，满足全内反射的条件即是入射光的入射角  $\alpha$  等于或大于临界角  $\alpha_c$ 。临界角  $\alpha_c$  可由满足  $\beta = 90^\circ$  时的式(3-1)给出：

$$\alpha_c = \sin^{-1}(n_2 / n_1) \quad (3-2)$$

由此可见，当相邻两种介质的折射率之比发生变化时，临界角 $\alpha_c$ 亦会发生变化，进而使光在光纤中发生全内反射的条件发生变化。

这一现象同样可用模式理论进行解释。刘德森等对此进行了详细的讨论<sup>[185]</sup>。在光导纤维中，有两类主要的光线：束缚光线(即传导模)和折射光线(强漏模)。其中，传导模是指满足全内反射条件、在光纤中进行无损耗传播的模；强漏模亦即模式滤光，它们在传播中不满足全内反射，在两介质相交的界面反射时有能量的衰减，即有光的泄漏。传导模与强漏模是可以相互转换的，这是由于，光在光纤中的传播模式受光纤的物理属性影响，即与纤芯和包层的折射率有关，当纤芯或包层的折射率发生变化时，光的传播模式将随之变化，导致不同模式之间的转换。

基于折射率量测的普通光学波导传感器<sup>[60,135-138,186-188]</sup>正是基于这一光学波导原理发展起来的<sup>[122]</sup>。在构造传感元件时，如果将光纤的某段敷层剥去，使这段裸光纤置于样品介质中，则可构成最简单的基于样品折射率变化的普通光学波导传感器。这里，裸光纤被视为纤芯，样品介质被视为包层。当包层折射率发生变化时，全内反射条件将改变，亦即引起光在光纤中传播模式的改变，从而获得可被检测的光信号。

### 3.2 模式滤光检测新模式

所谓模式滤光检测，是指检测这样一种光信号，由于在芯包界面包层折射率发生变化，导致最初在光纤中的传导模亦发生改变，结果，在光纤的末端出射光增强或减小，相应地，在光纤侧面散射出的光则减小或增大；从光纤侧面检测所产生的这一光信号就称为模式滤光检测。模式滤光检测在信号传感的检测方式上是一种突破，为获取丰富的光学信号发展了一条新的途径。由于光纤侧面检测的背景光小，因而较之检测光纤末端的出射光有高得多的信噪比和灵敏度。有人研究过，与检测光纤末端出射光相比，侧面检测光纤模式滤光的信噪比是末端检测的 10~100 倍<sup>[118]</sup>。这无疑是光信号检测手段的一大发展。从检测信号上分析，二者所获得的光信号本质上是基本相当的，所不同的是二者间巨大的背景差别。我们可以通过简单的分析得出这个结论。

根据图 3-3，有下式成立：

$$I_0 = I_T + I_F \quad (3-3)$$

式中  $I_0$  为入射光强,  $I_T$  为出射光背景,  $I_F$  为模式滤光背景。若增大光纤包层折射率, 使光纤数值孔径减小, 则有部分传导光将变成模式滤光, 即检测信号  $\Delta I_F$ 。有

$$I_0 = (I_T - \Delta I_F) + (I_F + \Delta I_F) \quad (3-4)$$

检测出射光强的噪声正比于  $I_T$ , 检测模式滤光的噪声正比于  $I_F$ , 这里不考虑散粒噪声效应。那么, 检测模式滤光的信噪比与检测出射光的信噪比的比值

$$\beta = \frac{\Delta I_F / I_F}{\Delta I_T / I_T} = I_T / I_F \quad (3-5)$$

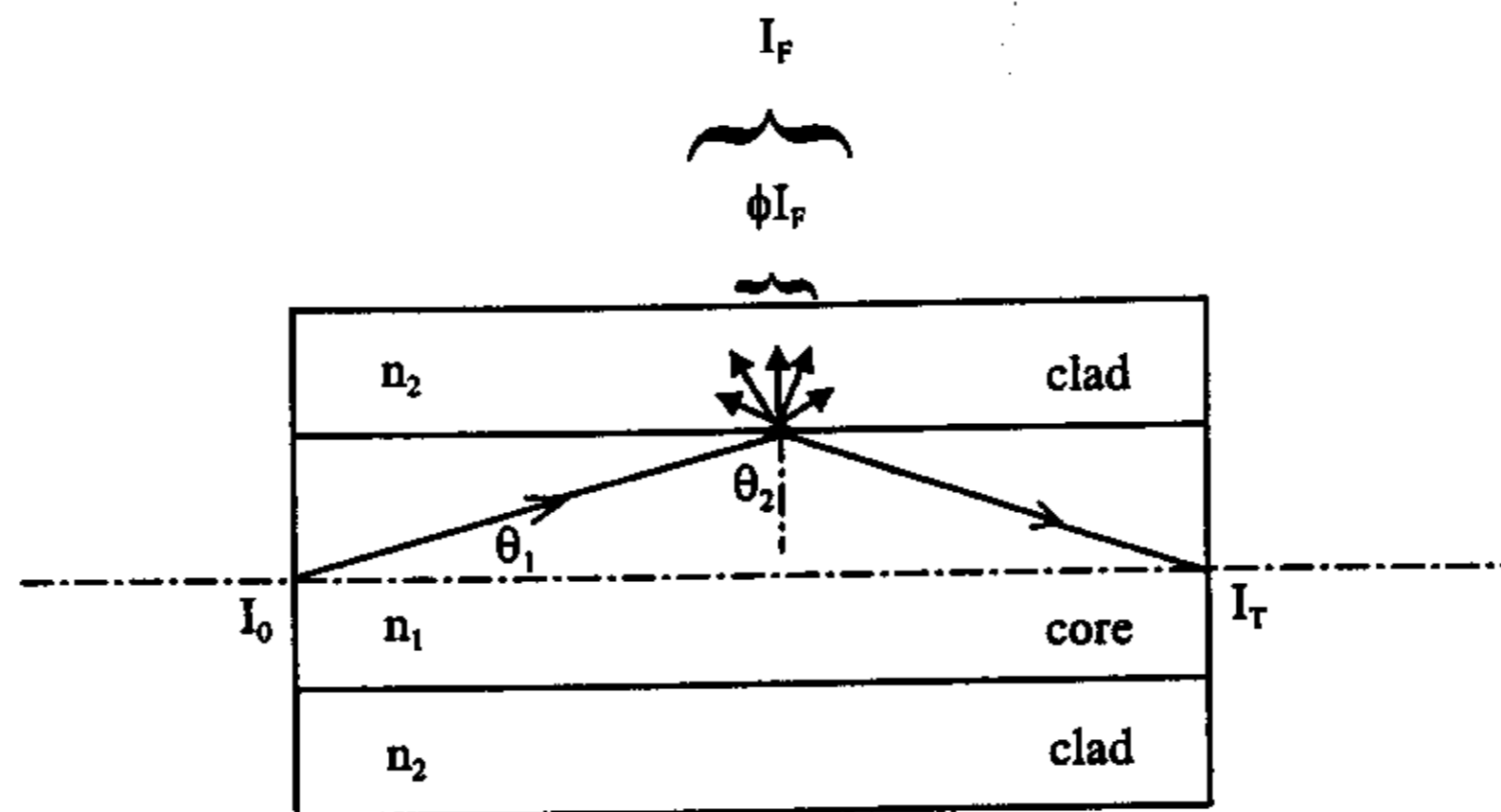


Fig.3-3 Mode-filtered light detection mechanism. Light is transmitted in the fiber optic.  $n_1$ , RI of the core;  $n_2$ , RI of the clad; and  $n_1 > n_2$ .  $I_F$  is the mode-filtered light of the entire fiber length and  $\phi I_F$  is a small fraction of  $I_F$ .

式(3-3)~式(3-5)是考虑整段光纤的情况。如果仅仅测量一小部分光纤的模式滤光  $\phi I_F$ , 那么这一部分的  $I_F$  和  $\Delta I_F$  将同时减小相同的倍数, 因此检测模式滤光的信噪比仍然是检测出射光的信噪比的  $\beta$  倍。

### 3.3 基于裸光纤体系的模式滤光传感理论

我们在实验中意外地发现，裸光纤体系与修饰光纤体系在获取模式滤光信号上出现了不一致的现象：在裸光纤体系中，随着分析对象的折射率增大，获取的模式滤光信号呈下降趋势，而在修饰光纤体系中，随着分析对象的折射率增大，获取的模式滤光信号却是增大的。为了解决这个令人困惑的实验现象，我们从光的能量辐射学入手，详细地讨论了光辐射能在传输路径上的反射与透射，获得了模式滤光信号产生的细节。通过详细的理论推导和分析，这一看似矛盾的问题得到了合理统一。

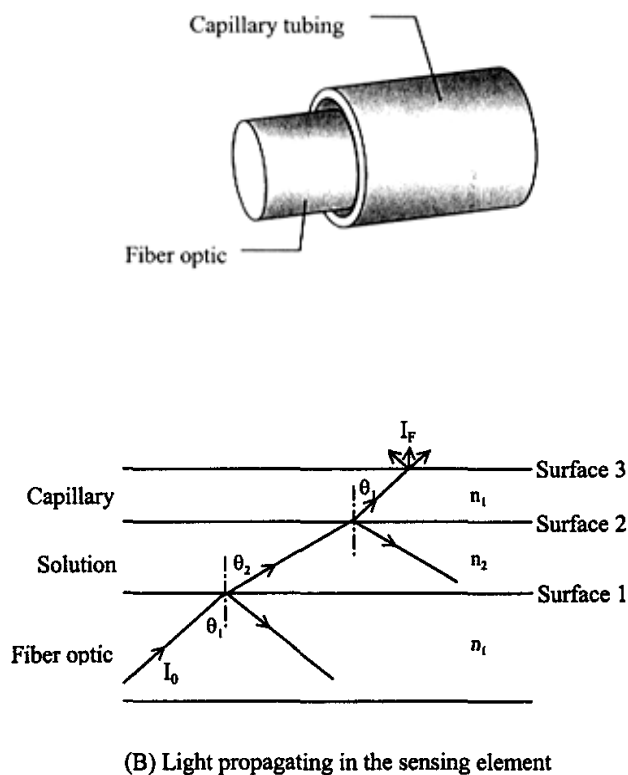


Fig.3-4 Output of mode-filtered light as signal in the sensing element of the sensor.

根据模式滤光检测机理，本论文构造了基于模式滤光检测的裸光纤化学传感器的敏感元件，图 3-4(A)显示了该敏感元件的结构示意图。取一段透明石英毛细管，往管内插入一根直径略小于毛细管内径的裸石英光纤，在光纤与管壁之间流样品溶液。在这一传感体系中，模式滤光从光纤侧面散射到最后为检测器接收，其间共经过 3 个界面，图 3-4(B)是光在敏感元件中传播的示意图。为了讨论的方便，在这里，我们假设石英光纤和石英毛细管的折射率相等，均为  $n_1$ ，溶液介质的折射率设为  $n_2$ 。在 3 个界面中，我们只考虑界面 1 和界面 2，界面 3 由于没有变化，可以不予考虑。

当入射光投射到某介质界面时，一般可分成三部分：一部分入射辐通量在介质界面反射，一部分透过界面而出射，还有一部分在穿过界面时被介质吸收。根据能量守恒定律，这三部分辐通量之和应该等于入射辐通量，即：

$$\Phi_r + \Phi_t + \Phi_a = \Phi_i \quad (3-6)$$

或写成：

$$\frac{\Phi_r}{\Phi_i} + \frac{\Phi_t}{\Phi_i} + \frac{\Phi_a}{\Phi_i} = 1 \quad (3-7)$$

记作：

$$\rho + \tau + \alpha = 1 \quad (3-8)$$

式中， $\Phi_r$ 、 $\Phi_t$ 、 $\Phi_a$  分别为反射、透射和吸收的辐通量， $\rho$ 、 $\tau$ 、 $\alpha$  分别叫做反射比、透射比、和吸收比。需要指出的是，反射比、透射比和吸收比都是波长的函数，他们与光源的入射光谱分布、积分的谱段有关。由于传感器选用的光源是波长为 650nm 的半导体激光二极管，单色性能非常好，因此波长的影响在此不予考虑。在传感器的敏感元件中，石英光纤和石英毛细管的侧壁均可视为光滑无吸收的透明介质界面，由此我们假设光辐射能是在光滑无吸收的透明介质的界面 1 和界面 2 进行反射和透射。由于无吸收，式(3-8)变为

$$\rho + \tau = 1 \quad (3-9)$$

将入射辐射能的电场矢量  $E_i$  分解成垂直入射平面的分量  $E_{\perp i}$  和平行入射平面的分量  $E_{\parallel i}$ 。在界面 1，入射辐射能一部分按反射定律反射，一部分按照折射定律由折射率为  $n_1$  石英玻璃介质进入折射率为  $n_2$  的透明待测溶液介质。反射和透射电场矢量类似的分解成  $E_{\perp r}$ 、 $E_{\parallel r}$ 、 $E_{\perp t}$ 、 $E_{\parallel t}$ ，下标  $r$  和  $t$  分别表示反射分量和透射分量，则反射比的垂直分量  $\rho_{\perp 1}$  和平行分量  $\rho_{\parallel 1}$  分别为

$$\rho_{\perp 1} = \left( \frac{E_{\perp r}}{E_{\perp i}} \right)^2 = \frac{\sin^2(\theta_1 - \theta_2)}{\sin^2(\theta_1 + \theta_2)} \quad (3-10)$$

$$\rho_{\parallel 1} = \left( \frac{E_{\parallel r}}{E_{\parallel i}} \right)^2 = \frac{\tan^2(\theta_1 - \theta_2)}{\tan^2(\theta_1 + \theta_2)} \quad (3-11)$$

透射比的垂直分量  $\tau_{\perp 1}$  与平行分量  $\tau_{\parallel 1}$  分别为

$$\tau_{\perp 1} = \left( \frac{E_{\perp t}}{E_{\perp i}} \right)^2 = 1 - \rho_{\perp 1} = \frac{\sin 2\theta_1 \sin 2\theta_2}{\sin^2(\theta_1 + \theta_2)} \quad (3-12)$$

$$\tau_{\parallel 1} = \left( \frac{E_{\parallel t}}{E_{\parallel i}} \right)^2 = 1 - \rho_{\parallel 1} = \frac{\sin 2\theta_1 \sin 2\theta_2}{\sin^2(\theta_1 + \theta_2) \cos^2(\theta_1 - \theta_2)} \quad (3-13)$$

式中， $\theta_1$  和  $\theta_2$  满足 Snell 定律： $n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2$

对于无偏振的入射光，有

$$\rho_1 = \frac{\rho_{\perp 1} + \rho_{\parallel 1}}{2}, \quad \tau_1 = \frac{\tau_{\perp 1} + \tau_{\parallel 1}}{2} \quad (3-14)$$

当入射光为垂直入射 ( $\theta_1=0$ ) 的特殊情况时，则

$$\rho_1 = \rho_{\perp 1} = \rho_{\parallel 1} = \left( \frac{n_2 - n_1}{n_2 + n_1} \right)^2 \quad (3-15)$$

$$\tau_1 = \tau_{11} = \tau_{11} = \frac{4n_2n_1}{(n_2 + n_1)^2} \quad (3-16)$$

在界面 2，入射辐射能即为从界面 1 出射的透射辐射能。同理，容易得到

$$\rho_{12} = \frac{\sin^2(\theta_2 - \theta_1)}{\sin^2(\theta_2 + \theta_1)} = \rho_{11}$$

$$\rho_{12} = \frac{\tan^2(\theta_2 - \theta_1)}{\tan^2(\theta_2 + \theta_1)} = \rho_{11}$$

$$\tau_{12} = \frac{\sin 2\theta_2 \sin 2\theta_1}{\sin^2(\theta_2 + \theta_1)} = \tau_{11}$$

$$\tau_{12} = \frac{\sin 2\theta_2 \sin 2\theta_1}{\sin^2(\theta_2 + \theta_1) \cos^2(\theta_2 - \theta_1)} = \tau_{11}$$

$$\rho_2 = \frac{\rho_{12} + \rho_{12}}{2} = \rho_1 \quad (3-17)$$

$$\tau_2 = \frac{\tau_{12} + \tau_{12}}{2} = \tau_1 \quad (3-18)$$

从式(3-17)可知，界面 2 的反射比 $\rho_2$ 与界面 1 的反射比 $\rho_1$ 的变化是相同的，反映了共同的变化规律，知道了界面 1 的反射比 $\rho_1$ 也就知道了界面 2 的反射比 $\rho_2$ ，因此，我们只需考察界面 1 的反射比 $\rho_1$ ，就可以对传感器的模式滤光检测进行理论分析和探讨。根据 Snell 定律及式(3-10)、(3-11)和式(3-14)，我们得到了入射辐射能在界面 1 由石英光纤( $n_1=1.47$ )进入折射率  $n_2=1.33$  的透明溶液介质时，反射比 $\rho_1$ 随入射角 $\theta_1$ 变化的曲线(图 3-5)。由图可以看出，随着入射角增大，界面的反射比也增大，而且，在经过一段极为平缓的增长后，在接近临界角( $\theta_c=64.8^\circ$ )的附近，反射比急剧上升。这说明，在小于临界角的绝大部分入射角



区间内(例如本图的 0~55°), 入射辐射能主要以透射的方式从界面出射, 且透射辐通量近似相等, 当入射角接近临界角时, 透射比急剧下降, 直至最后不透射, 入射光以全内反射方式在光纤内传播。当我们考虑入射辐射能从空气介质 ( $n_0=1.00$ )进入石英光纤( $n_1=1.47$ )时, 同样可得到反射比随入射角变化的曲线(图 3-5), 从该曲线可以知道, 当光从光疏介质进入光密介质时, 在小于 90°角的大部分入射角区间内, 透射辐通量近似相等, 而在入射角很大时, 透射比下降很快, 此时入射光主要发生反射。

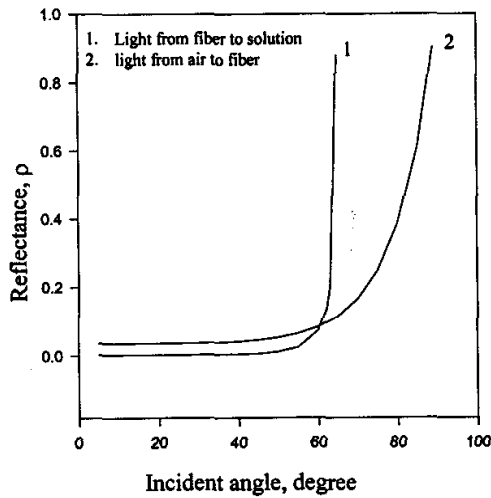


Fig.3-5 Reflectance  $\rho$  relative to the incident angles in the fiber optic/capillary sensing element.

图 3-6 画出了入射辐射能在界面 1 的反射比 $\rho_1$  随透明溶液介质  $n_2$  变化的曲线(固定入射角 $\theta_1=40^\circ$ )。该曲线很好地反映了溶液介质折射率变化时入射辐射能的反射比情况。图 3-6 显示, 当溶液介质折射率  $n_2$  小于  $n_1$ ( $n_1=1.47$ )时, 随着  $n_2$  增大, 反射比减小, 当  $n_2$  变化至大于  $n_1$  时, 此时反射比的值在回到最低点后又开始上升。

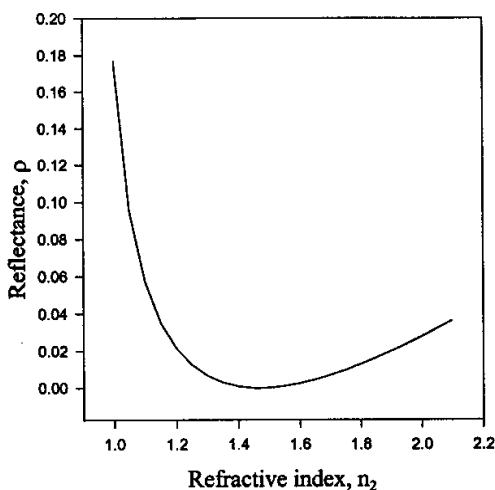


Fig.3-6 Reflectance  $\rho$  relative to the refractive index  $n_2$  in the fiber optic/capillary sensing element.

从上面的分析知道，模式滤光信号与入射光在界面 1 和界面 2 的反射比（或透射比）是密切相关的，由于界面 1 与界面 2 的反射比（或透射比）是相等的，因此只需考虑其中一个界面上的反射和透射情形。在传感体系中，敏感元件是不变的，入射辐射能也保持不变，则影响模式滤光信号的因素只有入射角和溶液介质的折射率。入射角越大，则透射比越小，因此模式滤光信号也减小；溶液介质折射率越大（但小于石英光纤折射率），则透射比越大，相应的，模式滤光信号也增大。此时如果在光纤侧面放置一检测器，用于检测整段光纤侧面的所有模式滤光信号，则理论上可获得与上述分析一致的信号变化趋势。但实际上，检测整段光纤侧面的模式滤光信号是很困难的，而检测光纤侧面某一局部的模式滤光信号则是可行的。下面我们来分析对于局部检测的模式滤光信号的变化规律。如图 3-7 所示，一束光在石英光纤内传播，入射光强为  $I_0$ ， $n_2$  为溶液介质折射率。当光在界面上发生第一次反射时，透射出的模式滤光的光强为

$$I_{F1} = I_0 (1 - \rho) \quad (3-19)$$

在界面上发生第二次反射时，透射出的模式滤光的光强为

$$I_{F2} = I_0 \rho (1-\rho) \quad (3-20)$$

很容易得到在界面上发生第 N 次反射时有

$$I_{FN} = I_0 \rho^{N-1} (1-\rho) \quad (3-21)$$

若增大  $n_2$ ，设此时折射率变为  $n'_2$ ，由前面的分析可知，反射比  $\rho$  将减小，设为  $\rho'$ ，同理可得到折射率  $n_2$  变化后的模式滤光信号的强度(设为  $I'_F$ ):

$$I'_{F1} = I_0 (1 - \rho') \quad (3-22)$$

$$I'_{F2} = I_0 \rho' (1 - \rho') \quad (3-23)$$

$$I'_{FN} = I_0 \rho'^{N-1} (1 - \rho') \quad (3-24)$$

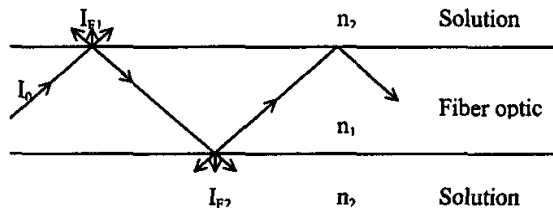


Fig.3-7 Detection of the mode-filtered light at N point where the incident light is reflected N times.

下面我们来比较折射率  $n_2$  增大后经第一次反射和第二次反射产生的模式滤光信号的变化  $\Delta I_{F1}$ 、 $\Delta I_{F2}$  及第 N 次反射产生的模式滤光信号的变化  $\Delta I_{FN}$ 。结合式 (3-19)和式(3-22)，可得到：

$$\Delta I_{F1} = I'_{F1} - I_{F1} = I_0(1 - \rho') - I_0(1 - \rho) = I_0(\rho - \rho') > 0 \quad (3-25)$$

结合式(3-20)和式(3-23), 可得到

$$\Delta I_{F2} = I'_{F2} - I_{F2} = I_0 \rho'(1 - \rho') - I_0 \rho(1 - \rho) = I_0(\rho' - \rho)(1 - \rho' - \rho) \quad (3-26)$$

式(3-25)和式(3-26)表明, 若检测器放在检测 $\Delta I_{F1}$ 的部位, 则随着溶液介质折射率 $n_2$ 增大, 模式滤光信号也增大; 若检测器放在检测 $\Delta I_{F2}$ 的部位, 则模式滤光信号 $\Delta I_{F2}$ 的变化与反射比 $\rho$ 、 $\rho'$ 的大小有关: 若 $\rho + \rho' > 1$ , 有 $\Delta I_{F2} > 0$ , 则 $\Delta I_{F2}$ 随溶液介质折射率 $n_2$ 增大而增大, 若 $\rho + \rho' < 1$ , 有 $\Delta I_{F2} < 0$ , 表明 $\Delta I_{F2}$ 随溶液介质折射率 $n_2$ 增大而减小。

根据式(3-21)和式(3-24)有

$$\Delta I_{FN} = I'_{FN} - I_{FN} = I_0 \rho'^{N-1}(1 - \rho') - I_0 \rho^{N-1}(1 - \rho) \quad (3-27)$$

而全部的模式滤光信号为:

$$\Delta I_F = \sum_{N=1}^N \Delta I_{FN} \quad (3-28)$$

式(3-27)是一个重要的推导关系式, 它表明了入射光在第 $N$ 次反射时透射出的模式滤光信号的变化情况,  $\Delta I_{FN}$ 可以大于0, 也可以小于0, 与反射次数 $N$ 和反射比 $\rho$ 、 $\rho'$ 有关。当 $N=1$ 时, 模式滤光信号 $\Delta I_{F1}$ 随 $n_2$ 的增大恒增大; 而当入射光经过几次反射后(通常只需2至3次反射), 在反射部位检测到的模式滤光信号的变化情况就会恰好反过来, 即检测到的模式滤光信号随着 $n_2$ 的增大而减小。

这一事实表明检测器在光纤侧面的检测位置对模式滤光检测会有影响, 灵敏度也有所不同。我们得到了如下几点结论: 模式滤光信号与入射光在界面1和界面2(图3-4(B))的反射比有关; 界面1与界面2的反射比随溶液的变化具有一致的变化趋势, 只需考虑其中一个界面的变化情况; 入射角越大, 反射

比也越大，则模式滤光信号减小；而溶液介质折射率越大(但小于石英光纤折射率)，反射比则越小，因而模式滤光信号就增大；模式滤光信号的检测与检测器在毛细管侧面的放置位置有关。

上述推导不仅合理地解释了裸光纤体系的实验结果，而且可以很好地理解在修饰光纤体系中分析对象进入光纤包层参与分配所导致的模式滤光信号增大的事实。在修饰光纤体系中，产生的全部模式滤光信号集中在一小段包层上，即进入包层的分析对象部分，因此检测到的模式滤光信号大致相当于 $\Delta I_F$ ，而在裸光纤体系中，检测到的模式滤光信号只是整段模式滤光信号的一部分，即 $\Delta I_{FN}$ 。这就是导致裸光纤体系和修饰光纤体系信号趋势不一致的原因。

### 3.4 基于修饰光纤体系的模式滤光传感理论

定量分析待测物质与光纤涂层相互作用所产生的模式滤光信号，是我们开展光纤模式滤光化学与生物传感的理论基础。我们以我们所用的石英光纤为例，来推导光纤模式滤光信号的理论计算公式。石英光纤的数值孔径(NA)是0.33，石英纤芯的折射率是1.458，包层的折射率是1.42。各种光学量如图3-3。

先让我们考察一下 $\theta_2$ 的变化与模式滤光的关系。当 $\theta_2$ 大于光纤内入射光的临界角 $\theta_c$ 时，光在光纤内以全内反射方式传输，此时在光纤侧面只有极少量的光侧漏出来，我们称为背景。当 $\theta_2$ 小于光纤的临界角 $\theta_c$ 时，在光纤侧面可以检测到不满足全内反射而侧漏出来的光。这表明，如果光纤的传光属性发生改变，例如包层的折射率因分析对象进入包层而增大，导致光纤的临界角 $\theta_c$ 亦随之增大，设为 $\theta_{c,A}$ ，那么，原来有部分在光纤内传输的光，其入射角 $\theta_2$ 会介于 $\theta_c$ 和 $\theta_{c,A}$ 之间，即 $\theta_c < \theta_2 < \theta_{c,A}$ ，这部分光在原来的条件下满足全内反射( $\theta_2 > \theta_c$ )，而在新条件下不满足全内反射( $\theta_2 < \theta_{c,A}$ )，因而成为模式滤光，在光纤侧面散射出来，这就是我们所检测的分析信号。

由分析对象进入包层引起的光纤临界角的变化可以表示为 $\Delta\theta_c$ ，所产生的净分析对象信号则表示为 $S(\Delta\theta_c)$ ，净分析对象信号可用下式表示：

$$S(\Delta\theta_c) = S(\theta_{c,A}) - S(\theta_c) \quad (3-29)$$

式中，

$$\Delta \theta_c = \theta_{c,\lambda} - \theta_c \quad (3-30)$$

对于绝大多数分析体系而言， $\Delta\theta_c$  的值都在 0 附近，变化范围很小；在这样小的范围内， $S(\Delta\theta_c)$  与  $\Delta\theta_c$  近似满足线性关系，故有

$$S(\Delta\theta_c) = \alpha \cdot \Delta\theta_c \quad (3-31)$$

式中  $\alpha$  为一比例常数。

下面我们推导固相萃取过程中分析对象改变包层折射率条件下的与  $\Delta\theta_c$  相关的表达式。根据 Snell 方程： $\sin\theta_c = n_2/n_1$ ，可推导出：

$$\begin{aligned} \cos\theta_c &= \sqrt{1 - \sin^2 \theta_c} \\ &= \sqrt{1 - \frac{n_2^2}{n_1^2}} \\ &= \sqrt{n_1^2 - n_2^2} / n_1 \\ &= NA / n_1 \end{aligned} \quad (3-32)$$

由于  $\theta_c$  与  $\pi/2$  接近（在我们使用的光纤中， $\theta_c$  为 1.34），下列近似关系成立：

$$\cos\theta_c = \sin(\pi/2 - \theta_c) = \pi/2 - \theta_c \quad (3-33)$$

将 (3-32) 式代入 (3-33) 式可得：

$$\theta_c = \pi/2 - (n_1^2 - n_2^2)^{1/2} / n_1 \quad (3-34)$$

在分析对象进入包层后，包层的 RI 将变为  $n_2 + \Delta n$ ， $\Delta n$  是 RI 的改变量，近似地有：

$$\Delta n = C_{v,c}(n - n_2) \quad (3-35)$$

式中， $C_{v,c}$  是分析对象在包层中的体积摩尔浓度， $n$  是分析对象的 RI。改变后的临界角  $\theta_{c,A}$  同样有下式成立

$$\theta_{c,A} = \pi/2 - [n_1^2 - (n_2 + \Delta n)^2]^{1/2} / n_1 \quad (3-36)$$

将 (3-34) 式和 (3-36) 式代入 (3-30) 式，有：

$$\Delta\theta_c = (NA/n_1) \{1 - [1 - (2n_2\Delta n + \Delta n^2)/NA^2]^{1/2}\} \quad (3-37)$$

由于要量测的  $\Delta n$  相对来说很小，因此 (3-37) 式可用泰勒级数展开近似，当  $x$  很小时，有  $(1+x)^a \approx 1+ax$ 。因此有

$$\Delta\theta_c = (2n_2\Delta n + \Delta n^2) / 2NA \cdot n_1 \quad (3-38)$$

由于  $\Delta n \ll 2n_2$ ，(3-38) 式可进一步化简，将 (3-35) 式代入得：

$$\Delta\theta_c = (n_2/n_1) [C_{v,c}(n - n_2)/NA] \quad (3-39)$$

对于我们所使用的石英光纤，NA 为 0.33，若包层 RI 的增量  $\Delta n$  为 0.0033，由 (3-37) 式计算出  $\Delta\theta_c$  为 0.01 弧度，而由 (3-39) 式计算出的  $\Delta\theta_c$  仅比 (3-37) 式的结果低 3%，因此这种近似是合理的。我们看到，(3-39) 式的  $\Delta\theta_c$  的改变与包层里分析对象的浓度有关。一般说来，分配过程可用分配常数  $K_d$  来描述：

$$K_d = C_{v,c} / C_{v,m} \quad (3-40)$$

式中  $C_{v,m}$  是分析对象在流动相中的体积摩尔浓度。

结合 (3-31)、(3-39)、(3-40) 式，我们便得到了模式滤光信号的理论计算公式：

$$\text{signal} = \frac{\alpha n_2 (n - n_2) K_d C_{v,m}}{n_1 NA} \quad (3-41)$$

对这个等式的研究表明，对一给定值的装置，检测器的灵敏度主要由两项决定。 $(n - n_2)$ 项预示随着分析对象和包层间的 RI 差值的增大，灵敏度也将提高。这一项类似于普通 RI 检测器中描述分析对象选择性的项。只不过 RI 差值在模式滤光检测中是相对于固定相而言，而在普通 RI 检测中是相对于流动相而言。 $K_d$ 项对于化学分析是很重要的，因为它表明聚合物包层的亲和性越强，则对分析对象的灵敏度越高。这一项很有意思，它显示模式滤光检测方法受化学的选择性和 RI 的灵敏度共同决定。显然，分析对象和固定相间亲和性的增大会使  $K_d$  和模式滤光检测的灵敏度都得到提高。增加流动相中水的含量能使疏水分析对象的分配常数变得很大，因为疏水分析对象的分配常数随着流动相中水含量的增加成指数增长。然而，分配常数的增大也引起容量因子和保留值的增大，从而导致分析时间的延长并导致流动相中分析对象区带的展宽和稀释。容量因子  $k$ ，是一个常用的色谱项，用于保留值的测量，对某一特定组分，定义为：

$$k = (V_R - V_m) / V_m \quad (3-42)$$

其中  $V_R$  是该组分的保留体积； $V_m$  是环状柱中从进样器到检测器间的总流动相体积，即死体积。容量因子和分配常数的关系为：

$$k = (V_s / V_m) / K_d \quad (3-43)$$

其中， $V_s / V_m$  是固定相和流动相的体积比； $k$  是容量因子。(3-41) 式是根据检测器中流动相里的分析对象浓度预计分析对象的信号，而没有考虑到区带展宽引起的分析对象区带的稀释。用正态分布曲线作为分析对象区带的合理模型，可知检测区域流动相内的分析对象区带的最大浓度与分析对象区带的体积标准偏差  $\sigma_v$  成反比：

$$C_{v,m} = C_{inj} V_{inj} / \sigma_v \sqrt{2\pi} \quad (3-44)$$



其中， $C_{inj}$  是进样浓度； $V_{inj}$  是进样体积。分析对象区带的分散同环形柱传感器的色谱效率  $H$  有关， $H$  可由下式得出：

$$H=L\sigma_v^2/V_m^2(1+k)^2 \quad (3-45)$$

其中  $L$  是环形柱的长度。这样，如果  $H$  已知或能够测得，就能在  $\sigma_v$  和  $k$  之间建立联系。由于和毛细管的半径比较起来，光纤和毛细管间的环状缝隙很小，因此，环状柱的流通特性应当和两平行平面的模型相似。Golay 提出了一个用于预计两平行平面间的流动体系色谱效率  $H$  的公式，该等式可近似用于在该情况下的环状柱内区带展宽的相关关系：

$$H = \frac{4UR^2(1+9k'+25.5k'^2)}{105D_m(1+k')^2} \quad (3-46)$$

其中  $U$  是线性流速， $D_m$  是分析对象在流动相中的扩散系数， $R$  是环形缝隙间距的一半。结合 (3-42) ~ (3-46) 式，对 (3-41) 式进行整理，可以得到信号的函数关系，它与分析对象的容量因子，分析对象的折射率、进样体积和进样浓度以及流动相的线性流速有关：

$$\text{signal} = \frac{\alpha'(n - n_2)C_{inj}V_{inj}k'}{\sqrt{U(1+9k'+25.5k'^2)}} \quad (3-47)$$

其中，常数  $\alpha'$  包括了几项，这几项对于一指定的传感器构造和分析对象来说是恒定的。

$$\alpha' = \frac{\alpha n_2 \sqrt{105LD_m}}{n_1 N A V_s R \sqrt{8\pi}} \quad (3-48)$$

(3-47) 式表明信号和进样体积数和进样浓度成正比，和流动相的线性流速的平方根成反比。我们注意到，(3-41) 式表明信号和分配常数呈线性增长。

最理想的状况是装置对于分析对象有很大的分配常数，但容量因子保持合适的值。要达到这个目的，只需考虑容量因子和分配系数间的关系，如(3-43)式所示。(3-43)式表明固定相厚度越小，相体积比就越低，因此在保持容量因子适度的前提下，可以通过增大流动相的极性而使疏水分析对象的分配常数增大。

## 第二部分 基于多通道光纤模式滤光检测的化学与生物传感应用研究

### 第四章 基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感器应用于乙醇的测定

#### 4.1 前言

近年来，光纤化学传感器已成为分析化学的前沿研究领域之一。在光纤化学传感器中，光纤的传光特性与纤芯及其包层的物理属性有关。如果纤芯或包层与分析对象相互作用后，其属性发生变化，则光纤的传光特性也将随之改变，由此可以实现化学识别和化学信号向光学信号的转换。基于样品折射率变化的普通光学波导传感器是光化学传感器的一大分支<sup>[122]</sup>，一批基于样品折射率变化的光学波导传感器已被研制出来<sup>[136~138,186~191]</sup>。光导纤维以其突出的优点被大量地用作传感器的光学波导器件，这些传感器在测定 pH<sup>[136]</sup> 和血样中葡萄糖的浓度<sup>[190]</sup>，辨别不同的溶剂，分析溶剂混合物、油水混合物、监测原油、柴油、汽油的质量等方面<sup>[186]</sup> 获得了实际的应用。最近发展的光纤色谱传感体系在检测方式上取得重大突破，通过采用模式滤光检测的方法来获取化学信息<sup>[117]</sup>，为发展新型检测方式提供了新的思路。

在这一章里，我们利用研制成功的新型基于样品折射率变化的未涂层光纤模式滤光化学传感器，对乙醇进行了测定应用，具体讨论了在乙醇体系中的模式滤光信号的变化趋势，考察了该传感器对白酒的响应性能和实用性能。

乙醇的用途极广，是各种有机合成产品的重要的基本化工原料，也是最常用的溶剂之一。在日常生活中，许多饮料均含有乙醇，特别像各种酒类。因此在许多场合，乙醇含量的测定是一个非常重要的参数。在工业中乙醇含量的测定通常使用比重法，将测定值与标准表对照，查得乙醇的纯度。测定微量乙醇时可用比色法。血样中乙醇含量的测定主要有气相色谱法<sup>[192]</sup> 和酶法<sup>[193, 194]</sup>。光纤化学传感器也被用于乙醇含量的测定，像荧光增强型 PVC 膜光纤化学传感器<sup>[195]</sup>、吸光型光纤化学传感器<sup>[196]</sup>、非酶乙醇光化学传感器<sup>[197]</sup> 等。我们研制的该传感器操

作简便、进样量小，无须在光纤上进行涂层修饰，直接检测样品折射率的化学信息变化，因而响应迅速，稳定性好。本文中该传感器对乙醇的响应及测定白酒酒精度的结果显示，该传感器在实际中有良好的应用前景。

## 4.2 原理

在乙醇水溶液体系中，乙醇的折射率为  $1.36143(20^{\circ}\text{C})$ ，水的折射率为  $1.33299(20^{\circ}\text{C})$ ，在同一温度下，任意乙醇水溶液的折射率会介于乙醇与水的折射率之间，并且随着溶液浓度的增加，溶液折射率也将增大。图 4-1 是入射光分别在光纤(折射率视为  $1.47$ )与乙醇介质界面和在光纤与水介质界面上的反射比随入射角变化的情况。从图可以看出，当介质为水时，界面的反射比大于介质为乙醇时的反射比，可以判断，若介质为任意乙醇水溶液，其反射比大小将介于水和乙醇的反射比之间。这表明，在乙醇水溶液体系中，随着溶液浓度增加，透射出的模式滤光信号会增大。

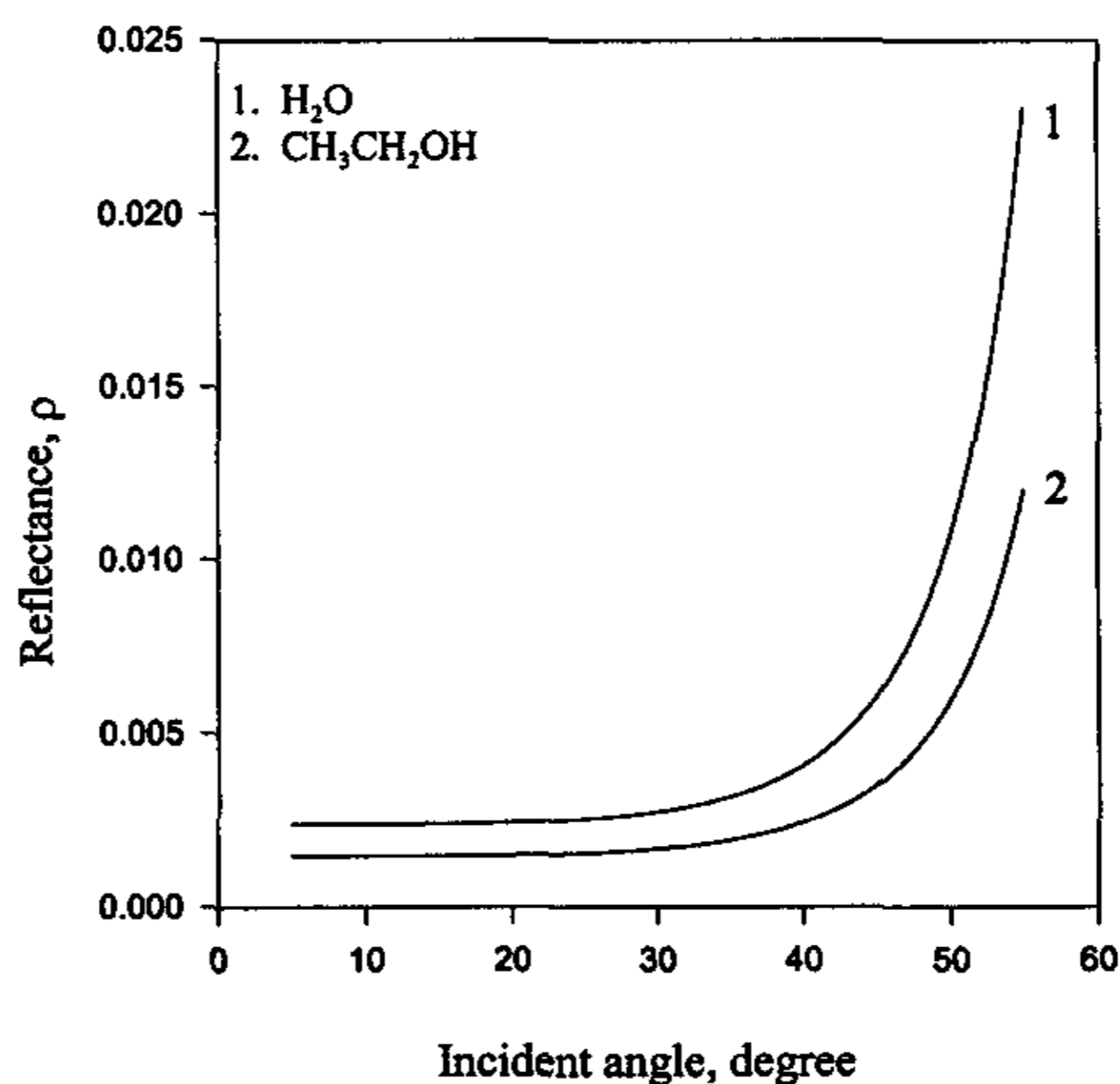


Fig.4-1 Reflectance  $\rho$  versus incident angle in ethanol sensing system.

但另一方面，模式滤光信号的局部检测又与从整段光纤侧面透射出来的模式滤光信号的变化情况有很大差别，通常还会出现相反的情况，即从整段光纤侧面散射出的模式滤光信号是增大的，但检测光纤侧面某一点的模式滤光信号却是减小的，原因已经在第三章分析过，与入射光在光纤中经  $N$  次反射后模式滤光的检测位置及反射比的大小有关。在第三章中，我们已经推导出了关系式（见（3-27）式）

$$\Delta I_{FN} = I_0 \rho^{N-1} (1 - \rho') - I_0 \rho^{N-1} (1 - \rho)$$

该式表明了入射光在第  $N$  次反射时透射出的模式滤光信号的变化情况。对乙醇水溶液体系而言，若固定入射角，当溶液介质从水变为乙醇时，我们发现在  $N > 1$  时，模式滤光信号  $\Delta I_{FN}$  将变小，也就是说，若固定检测器于  $N > 1$  的检测部位，当溶液浓度增大时，模式滤光信号降低。

### 4.3 实验部分

#### 4.3.1 仪器和试剂

仪器由本实验室研制和组装，主要由激光源、流通池和检测器组成（图 2-1）。自制一定位圆盘，将 650nm 的半导体激光源固定在定位圆盘上，使激光源在改变入射角时耦合进入光纤的入射光强  $I_0$  基本保持不变。激光导入直径为 380  $\mu\text{m}$  的裸石英光纤中，石英光纤的另一端长约 24cm 部分插入内径为 530  $\mu\text{m}$  的石英毛细管中。注意防止损伤光纤表面，以免因光纤损伤漏光，增加背景噪声。进样阀与毛细管一端连接，将样品引入毛细管流通池中。CCD 检测器置于毛细管一侧，用塑料光纤将毛细管侧面散射出的模式滤光引入 CCD 中检测。CCD 通过数据采集卡与一台计算机连接起来，CCD 采集的数据由计算机记录并处理。

所用试剂为分析纯无水乙醇(湖南师大化学试剂厂)，在 0~100%(v/v)的浓度范围内配成等份的 11 份标准乙醇水溶液。

市售湘泉白酒和双沟白酒分别作待测样品。

酒精计(湖南祁阳浮计仪表厂)用于做对照实验。

#### 4.3.2 实验方法:

固定一合适激光源入射角，将波长 650nm 的激光导入光纤。再将不同浓度的乙醇水溶液分别引入毛细管，检测模式滤光 $\phi I_f$ ，用计算机记录并处理。

## 4.4 结果与讨论

### 4.4.1 温度

一般说来，溶液的折射率与溶液组成、浓度及温度有关，因此，在基于样品折射率变化的传感器中，温度是一个必须加以考虑的因素。此外，温度对 CCD 的工作性能也有所影响。为了消除温度的影响，所有的实验都在室温 25℃ 下进行。

### 4.4.2 最佳入射角

往毛细管内引入某种浓度的乙醇标准溶液后，改变激光源入射角，测定不同入射角度时模式滤光的光强信号，由此可获得信号随角度变化的信号—角度图(图 4-2)。当光以全内反射方式在光纤中传播时，有很少的散射光从光纤侧面散射出来，此时检测到的信号为一基线。改变光源的入射角，使光纤中传播的光在光纤与液体界面处的入射角逐渐变小并接近临界角时，可观察到模式滤光信号急剧增大，并随着入射角的减小(小于临界角)而继续上升，在入射角到达一定值时，检测到的模式滤光达到最大。此后信号逐渐减小。我们解释峰值产生的原因是，多模光纤中传播的是多种模式的光，随着光在光纤与液体界面处的入射角(设为  $\theta_1$ )的越来越小，更多的光线将不满足全内反射条件，而从光纤侧面散射出来，因而信号有一个上升的过程；另一方面，随着光的入射角  $\theta_1$  越来越小，则要求光源耦合入光纤端面的入射角(设为  $\theta_0$ )越来越大，当  $\theta_0$  大到一定程度时，光线已无法很好地耦合进入光纤，绝大部分在光纤端部即反射或散射掉了，使得光纤中传导光的总量逐渐下降，因而可检测到的模式滤光信号也呈下降趋势。因此可以看出，光源与光纤的光耦合作用在信号峰值出现的前半段较为理想，而检测模式滤光信号的最佳角度在信号上升部位，此时模式滤光信号的变化最为灵敏。实验表明，激光源与光纤端面法线方向夹角  $\theta_1$  为 11-17° 时，为最佳实验条件。

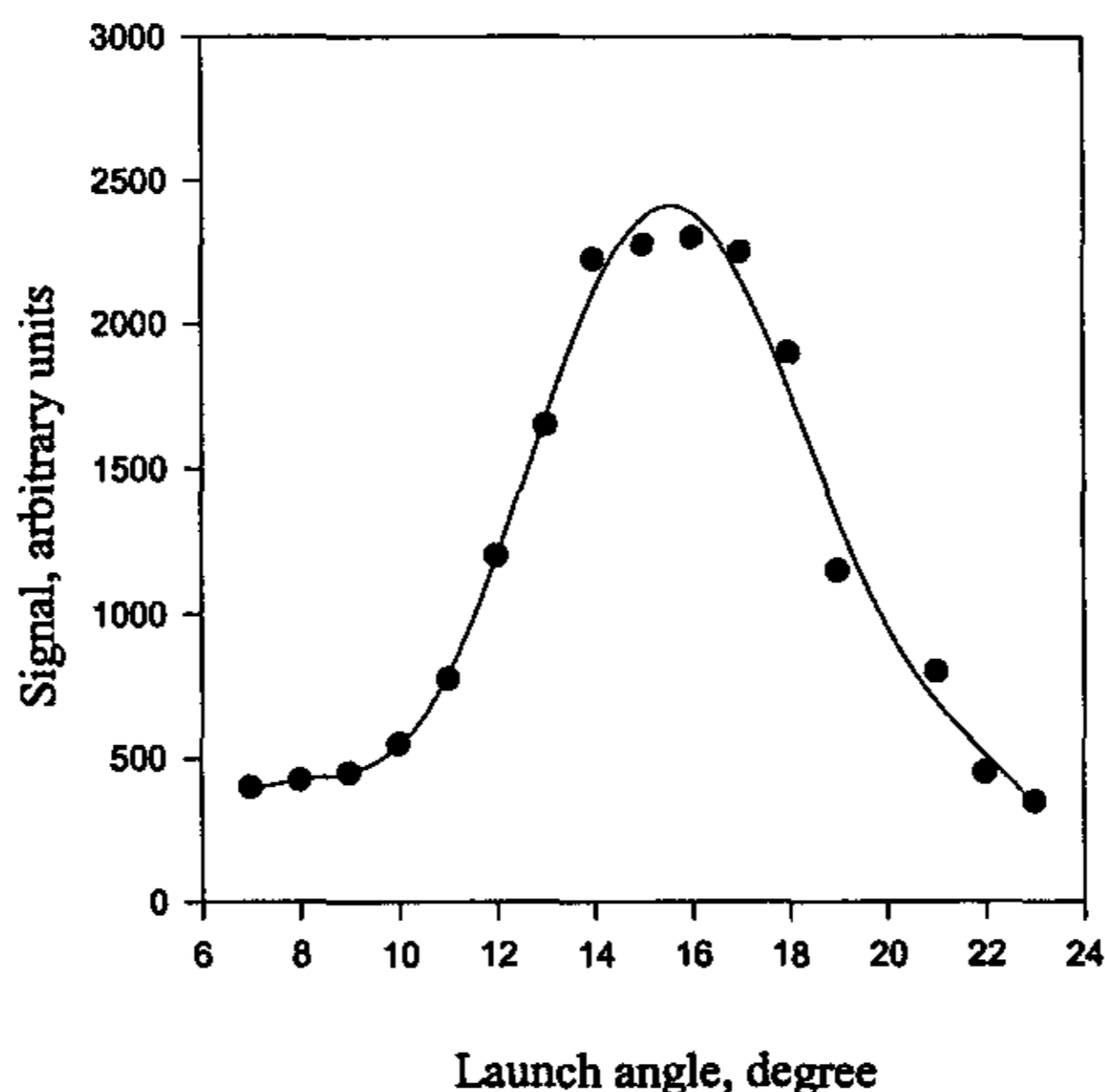
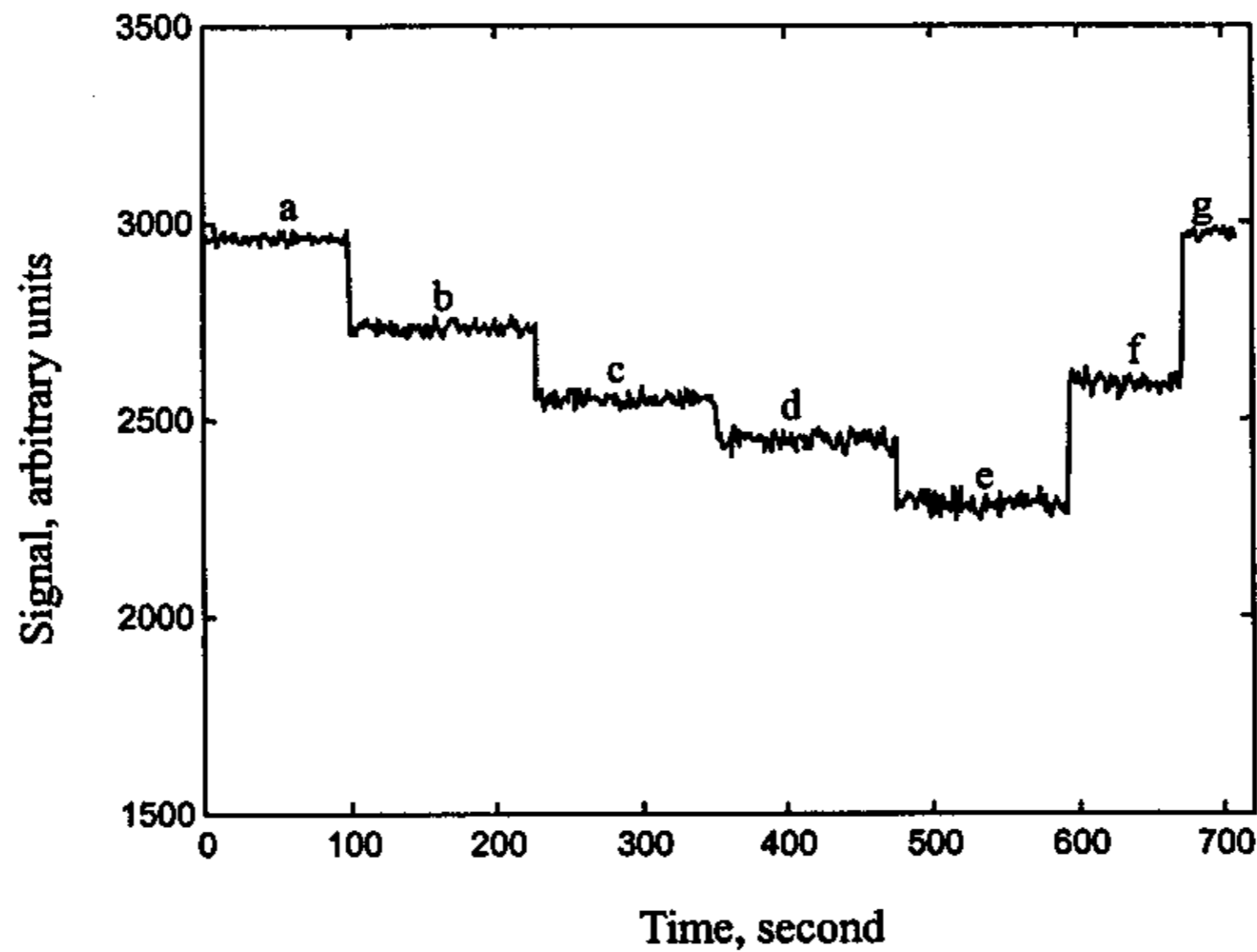


Fig.4-2 Signal intensity varied with the launch angle of the laser source to the fiber face normal.

#### 4.4.3 传感器的响应特性

我们对该传感器的响应特性进行了考察。由于不存在分析对象与修饰层发生相互作用的过程，因而这种基于裸光纤的模式滤光化学传感器对分析对象的响应非常迅速，这是该传感器的一个突出优点。图 4-3 为该传感器对乙醇的实时响应曲线。当待测溶液以一种浓度取代另一种浓度通过流通池时，能够被传感器实时检测出来，方波状曲线显示了这一点。此外，该传感器的重现性很好。在图 4-3 中，a 和 g 为同一浓度的溶液，c 和 f 同一浓度的溶液。实验显示，当一种溶液前后几次反复引入流通池时，检测到的信号值是一致的。这说明该传感器重现性好，性能稳定。传感过程中的信号噪声主要来自于激光源的波动和光纤表面的缺陷。图 4-3 还显示了模式滤光化学传感器的可逆性特征。该传感器无论是从低浓度检测回到高浓度检测，还是从高浓度检测回到低浓度检测，都具有良好的可逆性。



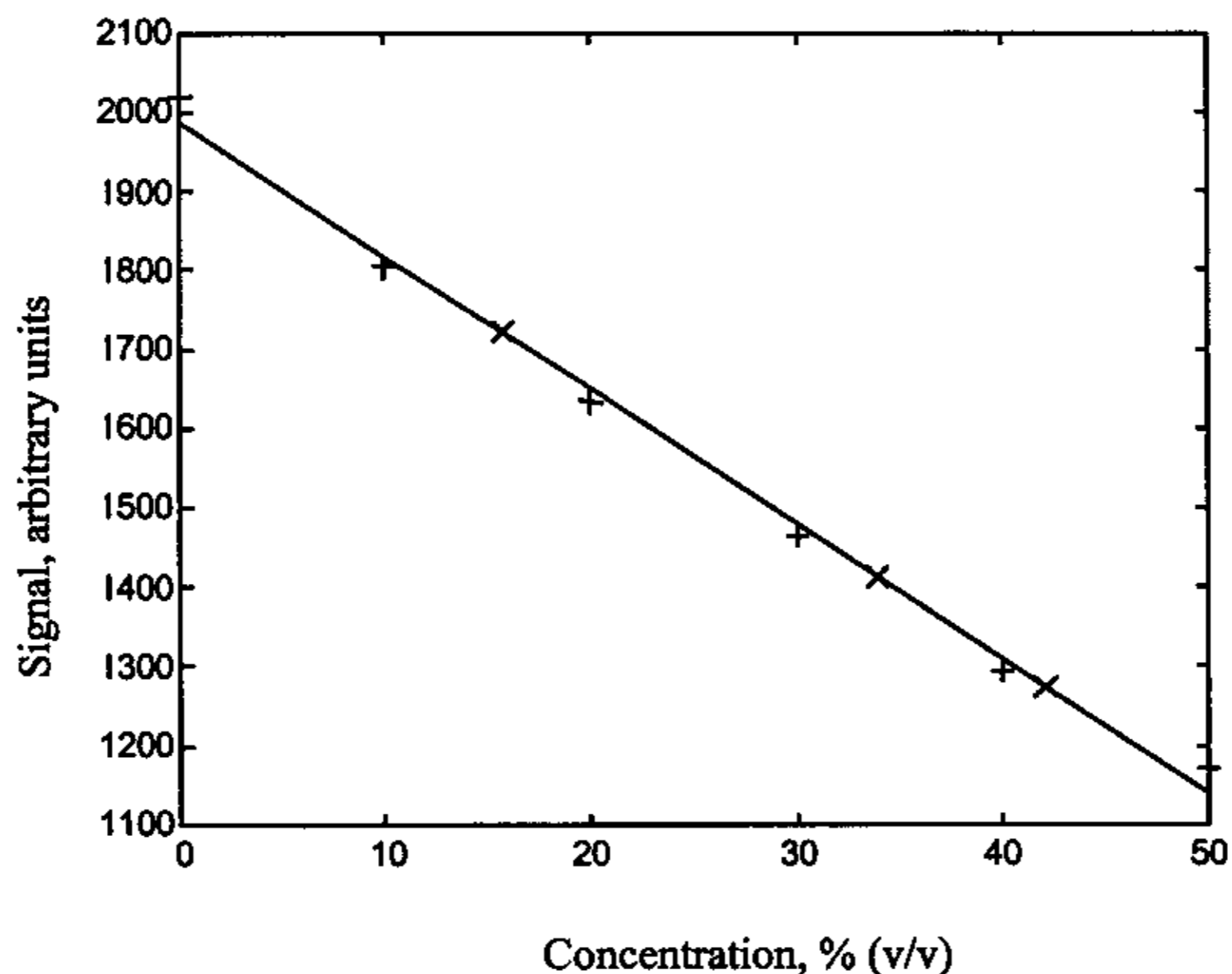
**Fig.4-3** Response curve of the sensor to ethanol with different concentration (v/v): a. 0; b. 20%; c. 30%; d. 40%; e. 50%; f. 30%; g. 0.

#### 4.4.4 白酒中乙醇含量的测定

该传感器进一步应用于白酒中酒精度的测定。目前，在测定含酒精饮料中乙醇含量时主要是使用比重法或比重计法。在含酒精饮料的生产中，乙醇的含量是个非常关键的指标。用该传感器进行测定获得良好结果，且一次取样量仅在几十微升范围。

取 11 份已配制好的不同浓度(0~100%，v/v)的乙醇标准溶液，分别引入毛细管中，测定与其对应的模式滤光信号，作图，得到了乙醇溶液的工作曲线，如图 4-4 所示。结果显示，在 0-50%(v/v)的乙醇浓度范围内线性相关，其相关系数  $r=0.9972$ 。取市售湘泉牌和双沟牌两种白酒做样品，分别引入毛细管，检测其模式滤光信号，然后通过做工作曲线测得它们的浓度分别为 34.0%和 42.1%。我们用酒精计做了对比实验，用酒精计测量酒精度是酒厂通常使用的方法。用酒精计测得湘泉和双沟两种白酒的乙醇含量分别为 34.5%和 41.5%。实验表明，两种方法测定的结果吻合一致。





**Fig.4-4** Calibration curve for measurement of ethanol by the sensor. The linear response covers the concentration of 0~50% (v/v) and the relative coefficient is 0.9972.

## 4.5 结论

本文研制的传感器在初次应用于乙醇的测定中获得了满意的结果，表现出了良好的响应特性。此外，该传感器操作十分简单、方便，测定样品快捷、准确，实用性很强。由于没有化学修饰，该传感器不具有选择性，但从另一方面来说，该传感器却具有良好的通用性，而且制备非常简单，稳定性很好。由于 RI 是绝大部分物质的固有属性，因此基于 RI 测量的模式滤光传感器在检测其它化学物质时有望得到很好的应用。

## 第五章 基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感器应用于醋酸的测定

### 5.1 前言

基于样品折射率变化的未涂层光纤模式滤光化学传感器在应用于乙醇的测定中取得了满意的结果，初步证实了该传感器良好的实用性和应用前景。由于该传感器是基于样品折射率的变化，因此，如果某一化学体系的化学信息与体系折射率的变化相关的话，那么该体系的化学信息就能够通过该传感器所获得，尽管这一体系可能是复杂的，所获得的光学信号是整个体系多个因素作用的结果。RI 是物质的固有属性，这使该传感器具备良好的通用性。因此，在考察了该传感器对乙醇体系的应用后，我们希望该传感器对其它化学物质有同样良好的响应，能够对实际生产中一些有重要用途的化学物质进行测定。

对于简单的二元体系，在恒定温度下，折射率的大小只与两个组分的组成有关，即与溶液浓度有关。而且，两组分的纯物质的折射率大小差别越大，体系折射率的变化随溶液浓度的不同就越明显，这给信号检测带来有利的影响，也就是说，传感器对体系的响应斜率更大，检测更灵敏。以乙醇水溶液体系为例，在 20℃ 时，纯水的折射率为 1.33299，乙醇的折射率为 1.36143，二者折射率的差别给模式滤光检测信号带来了 800 单位以上的差值。那么，如果换一个化学体系，使二组分纯物质的折射率差别更大，则模式滤光检测信号的差值也将比乙醇水溶液体系更大，因而灵敏度将更高。在这一章里，我们选择醋酸水溶液体系进行研究，在醋酸水溶液中，20℃ 时纯水的折射率为 1.33299，醋酸折射率为 1.3717，二者折射率差值比乙醇体系大。

测定醋酸有其重要的实际意义。醋酸是最重要的低级脂肪族一元羧酸，在有机化学工业中，醋酸的地位与硫酸在无机化学工业中的地位一样，是一种极为重要的化工产品，它的动态常常会反映出整个有机化学工业的面貌。我们平常食用的醋即是醋酸的稀水溶液。在醋酸检测中，仪器分析常用于生产中的质量控制，检测方法也很多，有气相色谱<sup>[198, 199]</sup>、GC-MS<sup>[200]</sup>、固相微量萃取<sup>[201]</sup>、毛细

管电泳<sup>[202]</sup>、离子交换色谱<sup>[203]</sup>、高效离子排阻色谱<sup>[204]</sup>等等。这些方法适用于较复杂体系低含量醋酸的测定。常量分析中一般可用酸碱滴定。为了实现简便、实时测定，基于羧酸荧光增强型 PVC 膜的光纤化学传感器被研制出来<sup>[205, 206]</sup>。本文利用基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光化学传感器实现了对醋酸快捷、实时的检测。该传感器同时应用于对食用醋的测定，并用食品工业标准分析方法进行了对照，结果令人满意。

## 5.2 原理

图 5-1 为入射光在光纤与溶液介质界面的反射比随入射角的变化情况。在醋酸水溶液体系中，醋酸的折射率为 1.3717(20°C)，水的折射率为 1.33299(20°C)，在同一温度下，任意醋酸水溶液的折射率会介于醋酸与水的折射率之间，并且随着溶液浓度的增加，溶液折射率也将增大。光纤的折射率视为 1.47。从图中可以看出，溶液介质为水时的反射比大于溶液介质为纯醋酸时的反射比，可以判断，对任意浓度的醋酸水溶液，其反射比的大小在水和醋酸的反射比之间。这表明，在醋酸水溶液体系中，随着溶液浓度增加，透射出的模式滤光信号会增大。

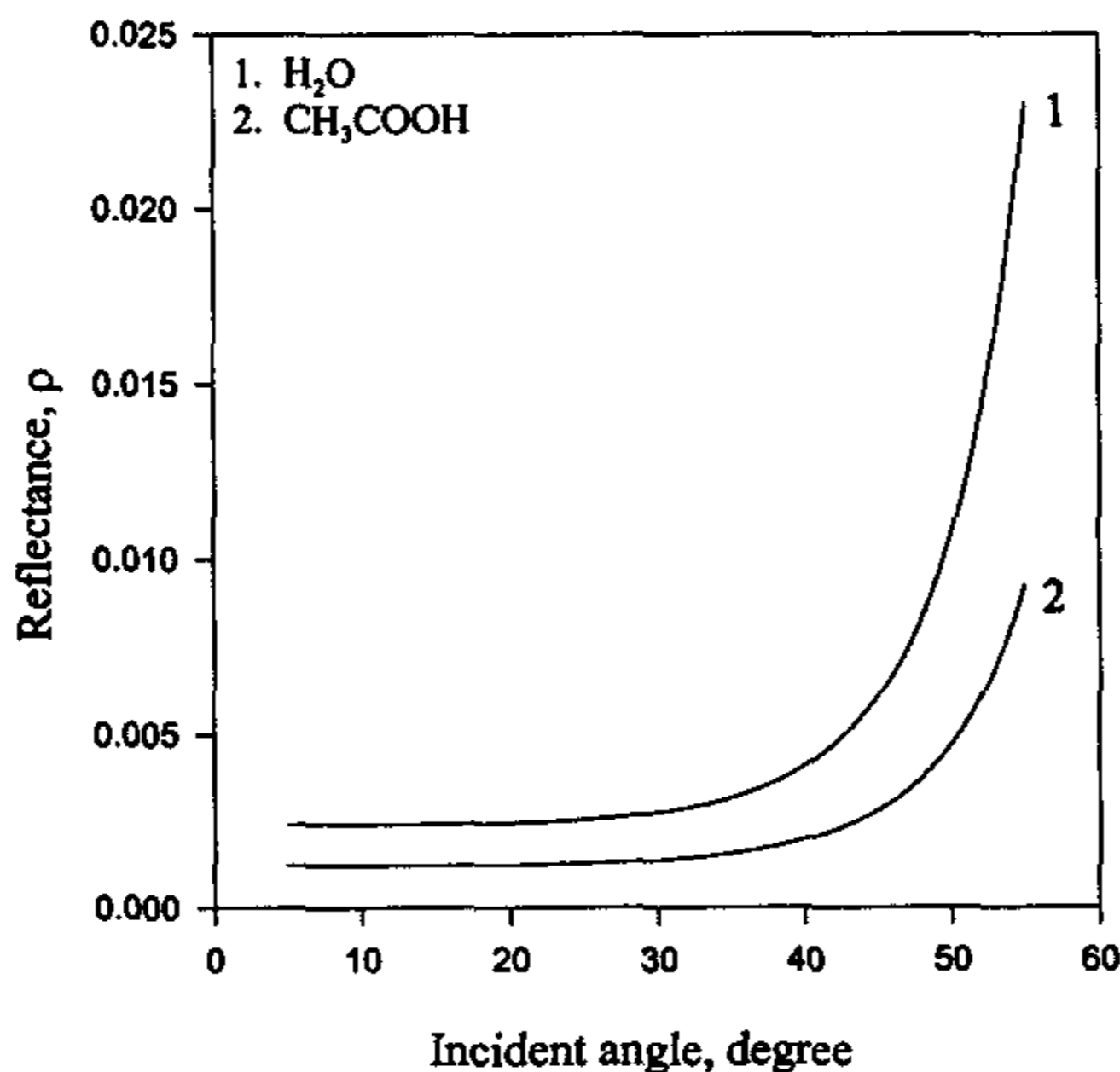


Fig.5-1 Reflectance  $\rho$  versus incident angle in acetic acid sensing system.

另一方面，模式滤光信号的检测与检测器在毛细管侧面的放置位置有关。根据式(3-27)，我们将水和醋酸的反射比 $\rho$ 和反射次数  $N$  代入计算，发现在  $N > 1$  时，模式滤光信号随溶液浓度增大而降低。

## 5.3 实验部分

### 5.3.1 仪器和试剂

将 650nm 的半导体激光源固定在自制定的位圆盘上，使激光源在改变入射角时耦合进入光纤的入射光强  $I_0$  基本保持不变。激光导入直径为  $380\mu\text{m}$  的裸石英光纤中，石英光纤的另一端长约 24cm 部分插入内径为  $530\mu\text{m}$  的石英毛细管中。注意防止损伤光纤表面，以免因光纤损伤漏光，增加背景噪声。进样阀与毛细管一端连接，将样品引入毛细管流通池中。CCD 检测器置于毛细管一侧，用塑料光纤将毛细管侧面散射出的模式滤光引入 CCD 中检测。CCD 通过数据采集卡与一台计算机连接起来，CCD 采集的数据由计算机记录并处理。

冰醋酸，分析纯，湖南试剂厂

0.1356N NaOH 标准溶液，

食用醋 (玉和醋厂)

### 5.3.2 乙酸标准溶液的配制

用移液管分别移取纯乙酸 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45ml 至 10 个 50ml 容量瓶中，加入蒸馏水稀释至刻度，配制成 0, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%(v/v)的醋酸标准溶液。

### 5.3.3 实验方法

调整激光源入射角，固定一合适角度，将波长 650nm 的激光导入光纤。再将不同浓度的醋酸溶液分别引入毛细管，检测模式滤光 $\phi I_f$ ，用计算机记录和处理。

### 5.3.4 对照实验<sup>[207]</sup>

准确吸取醋样 5.00ml，用新沸冷却的蒸馏水稀至 500ml 摇匀。以酚酞作指示剂，用 0.1N NaOH 标准溶液滴定至淡红色 1 分钟不退为终点。

## 5.4 结果与讨论

### 5.4.1 温度

前面已经讨论过温度对样品折射率及对 CCD 工作性能的影响, 本实验控制室温为 25°C。

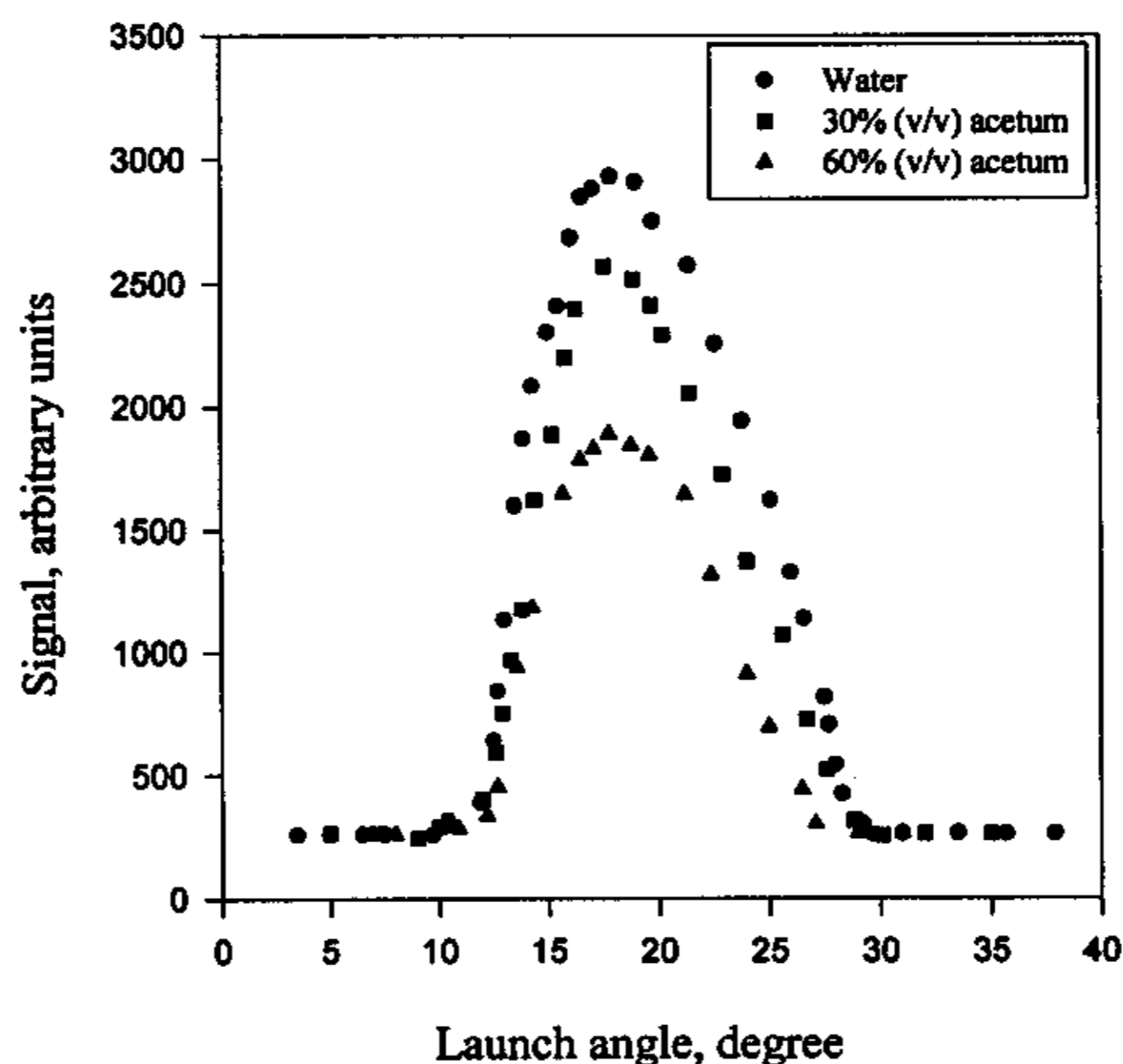


Fig.5-2 Signal intensity varied with the launch angle of the laser source to the fiber face normal.

### 5.4.2 最佳入射角

我们考察了实验体系的最佳入射角条件, 我们发现, 不同的化学体系之间存在着某种共同的特性。图 5-2 是醋酸体系的信号—角度图。曲线“●”表示将纯水溶液引入毛细管后, 改变激光源入射角, 测定不同入射角度时模式滤光的光强信号情况; 曲线“■”显示的是 30%醋酸溶液引入毛细管后的情况; 曲线“▲”显示的是 60%醋酸溶液引入毛细管后的情况。比较图 5-2 和图 4-2, 可以看出, 对乙醇和醋酸两个不同的化学体系来说, 信号出现峰值时光源耦合到光纤端面的入射角几乎是一致的, 均出现在 17° 左右, 峰形也一样。这似乎能够说明,

基于样品折射率变化的模式滤光检测，只与体系的折射率有关，而与体系的其它性质无关，无论该体系是乙醇体系，醋酸体系还是其它体系。同时，对同一化学体系而言例如醋酸体系也是如此，折射率的大小影响峰值的大小，而峰形的位置不发生改变。图 5-2 中三条曲线是以醋酸溶液的不同浓度作标识的，但真正影响信号曲线峰形大小的是与浓度相关的溶液折射率，而不是浓度。从图 5-2 可以看出，三种不同浓度的溶液，检测到的模式滤光信号的差值在峰值处(约  $17^\circ$ ) 最大，换句话说，在光源入射角约为  $17^\circ$  时，检测体系模式滤光信号的响应斜率最大，此时检测最为灵敏。因此，实验将光源入射角调至  $17^\circ$  固定，作为实验的最佳入射角。

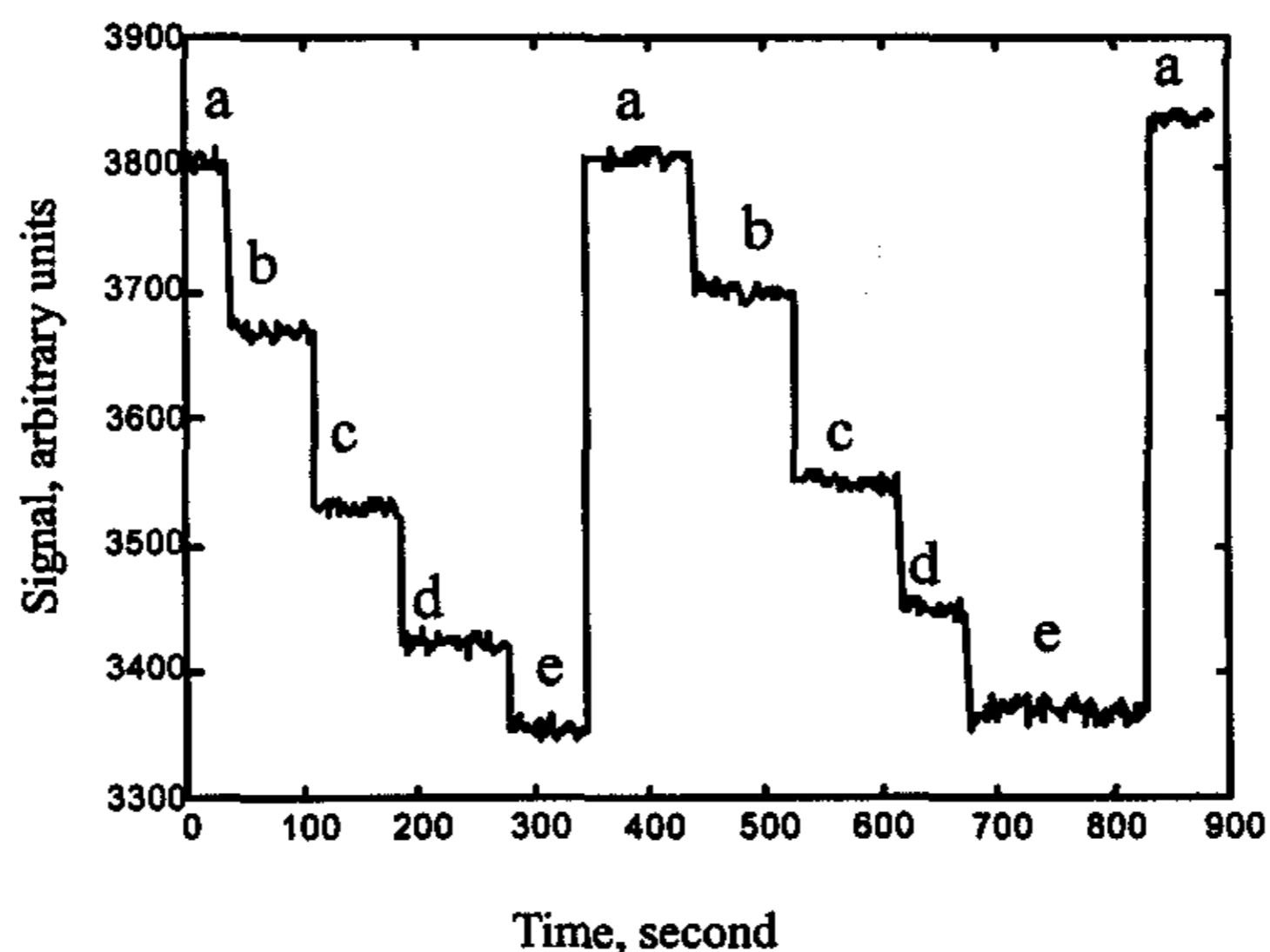
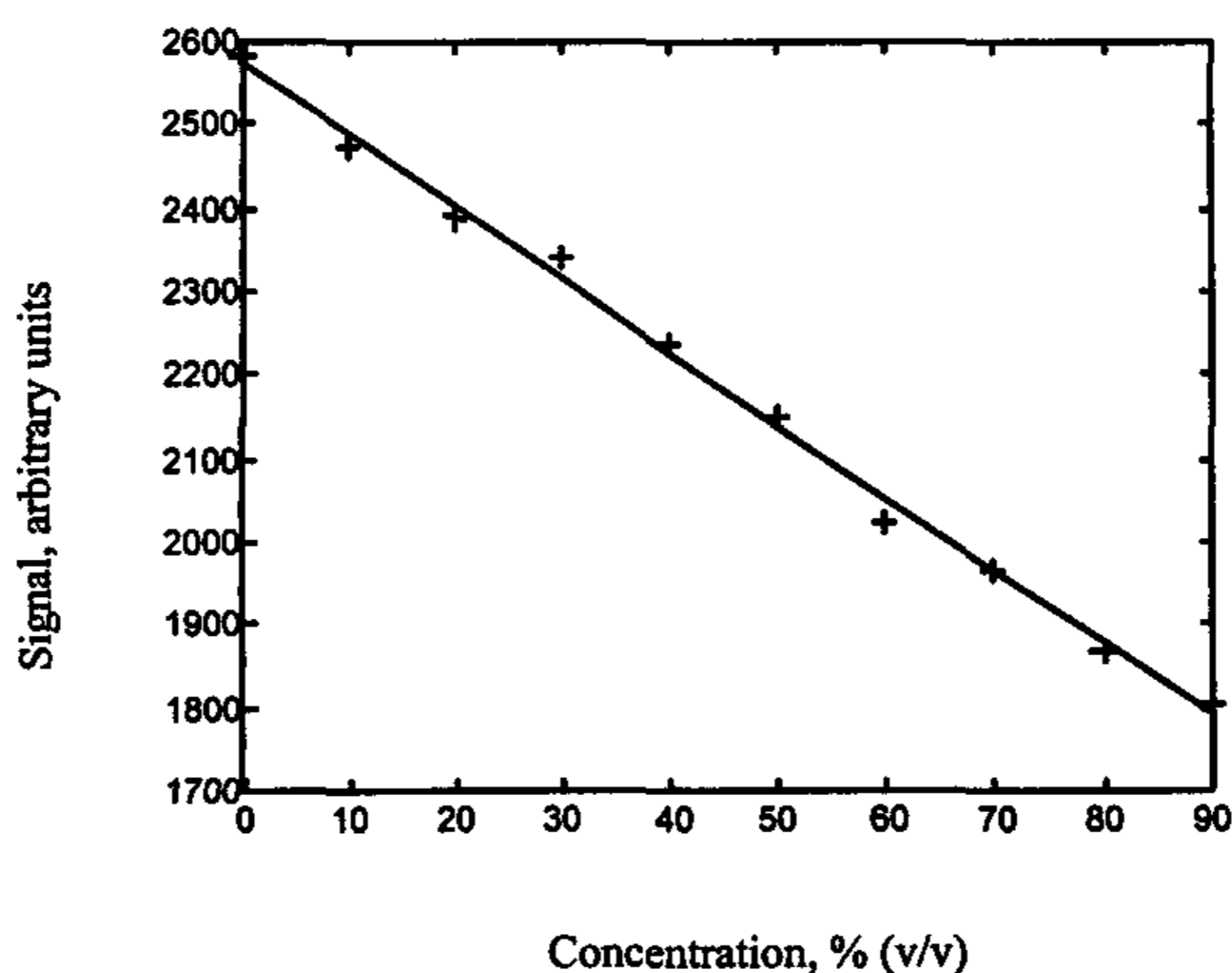


Fig.5-3 Real-time response of the sensor to acetic acids with different concentrations (v/v): a. 0; b. 20%; c. 40%; d. 60%; e. 80%.

### 5.4.3 传感器的响应特性

我们考察了该传感器对醋酸的响应特性。当将不同浓度的醋酸溶液依次、连续地引入毛细管时，模式滤光信号可被 CCD 实时检测出来，从而得到传感器对醋酸的实时响应曲线。图 5-3 显示了该传感器的响应特性。如图所示，实验

以五种不同浓度的醋酸溶液依次、连续进样，a、b、c、d、e 分别表示浓度为 0、20%、40%、60%、80%(v/v)的醋酸溶液。可以看出，模式滤光信号对样品折射率的变化是非常敏感的，当一种浓度的溶液取代另一种浓度的溶液通过流通池检测部位时（亦即一种折射率取代另一种折射率），CCD 检测器能够实时检测出这种变化来，而不论是从高浓度到低浓度检测，还是从低浓度到高浓度检测。阶梯状突跃曲线显示了该传感器响应迅速这一突出的优点。此外，我们对该传感器的重现性加以了研究。当同一种溶液前后几次反复引入流通池时，从图中可以看出，实时检测到的信号值是相同的，保持在同一信号水平。这显示了该传感器重现性好，且性能稳定。传感过程中信号出现“毛刺”主要是由于激光源的波动和光纤表面的缺陷。图 5-3 还显示了该传感器的可逆性特征。研究表明，和修饰型化学传感器相比，该传感器在实时检测中不存在样品和修饰层的相互作用和样品从修饰层中洗脱下来的过程，因此该传感器不论是从低浓度检测回到高浓度检测，还是从高浓度检测回到低浓度检测，都能很快地回到原来的工作状态，显示出了它良好的可逆性。



**Fig.5-4** Calibration curve for measurement of acetic acid by the sensor. The linear response covers the concentration of 0~90% (v/v) and the relative coefficient is 0.9980.

#### 5.4.4 食用醋中醋酸含量的测定

在食用醋的酸度测定中，食品工业的标准分析采用的是酸碱滴定法。我们用研制的该传感器和酸碱滴定法对市售的玉和牌食醋进行了对照测定。取 10 份配制好的不同浓度(0~90%,v/v)的醋酸标准溶液，分别引入毛细管中，测定与每份溶液对应的模式滤光信号，然后对浓度作图，得到了醋酸溶液的工作曲线，如图 5-4 所示。结果显示，在 0~90%(v/v)的浓度范围内对醋酸的测定线性相关，相关系数为 0.9980。将食用醋引入毛细管，检测其模式滤光信号，并从工作曲线上测得其浓度大小，测定结果为 3.40%(v/v)，换算为酸度，其值为 3.57%。

在酸碱滴定中，食用醋的酸度可用下式计算：

$$\text{酸度 (\%)} = \frac{NV \times 0.060}{W} \times 100$$

式中 N 是氢氧化钠标准溶液的当量浓度，V 是氢氧化钠标准溶液耗用量(ml)，W 是醋样的量(g)。用该方法测得食醋的酸度为 3.67%。以酸碱滴定作标准，将两种方法进行比较，我们得到用该传感器测量的相对误差为 2.7%，可以认为，两种方法测量的结果相一致，结果见表 5-1。

**Table 5-1** Determination of the acetic acid content in an Yuhe edible vinegar by the sensor and a standard acid-base titrimetric method.

Method	Sensor	Standard titration method
mean±SD* (%)	3.67±0.14	3.57±0.05

\*The mean is the average value of five measurements and the SD is the standard deviation.



## 第六章 基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感器应用于乙二醇的测定

### 6.1 前言

基于样品折射率变化的光纤模式滤光化学传感器已成功应用于乙醇和醋酸的检测<sup>[190, 191, 208]</sup>。除了响应迅速和良好的通用性之外，性能稳定，使用寿命长，重现性和可逆性好也是该传感器重要的特性。这些特性使该传感器在实用性方面具有潜在的应用前景。

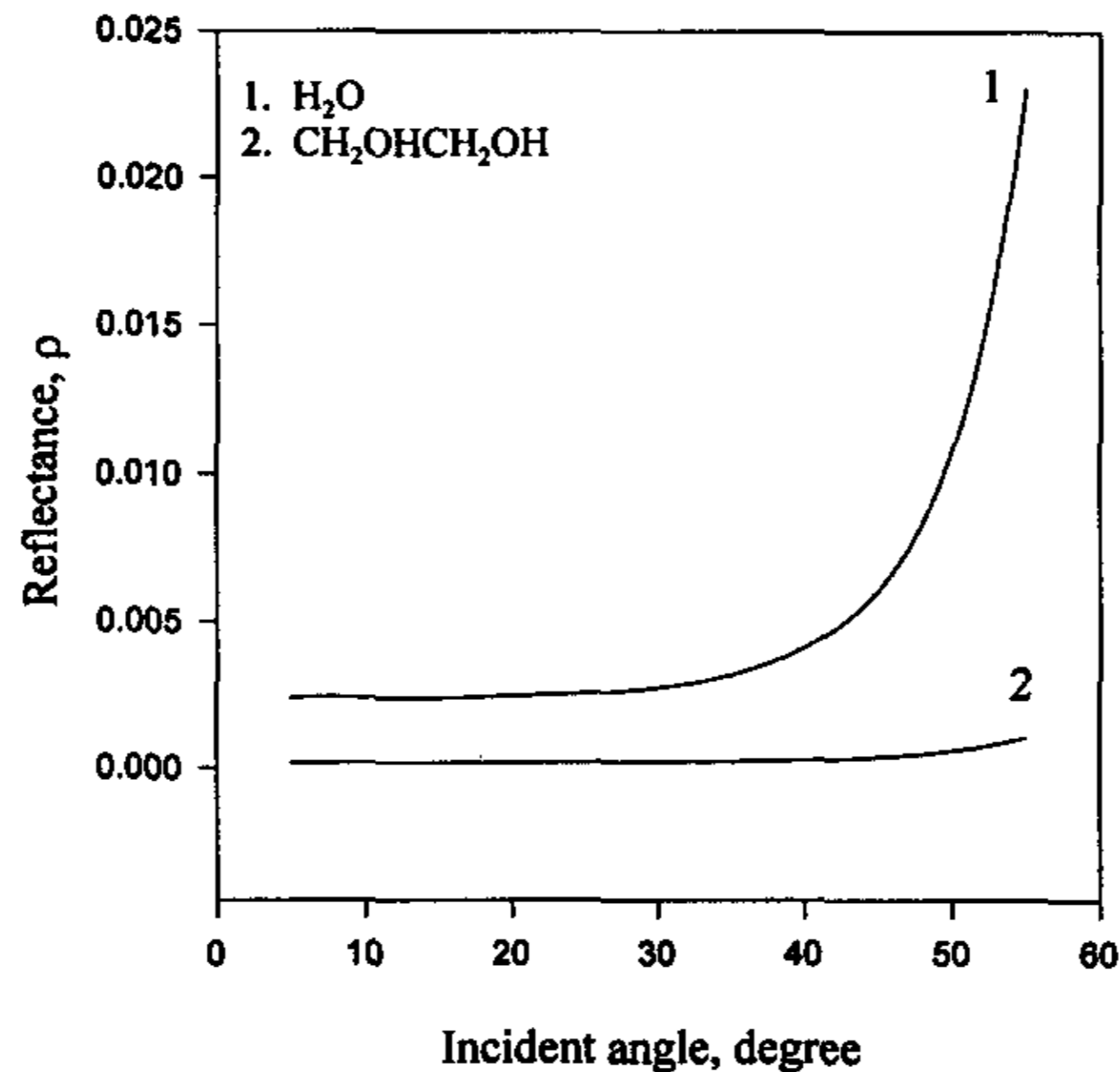
乙二醇是最简单和最重要的脂肪族二元醇，具有重要的工业意义，广泛用于聚酯树脂和抗冻剂等<sup>[209]</sup>。乙二醇的定量测定是利用其羟基的某些特征性反应，如酰化成酯法和高碘酸氧化法等。在弱酸性介质中，高碘酸能定量地氧化邻多羟基醇类化合物，氧化的结果是碳链断裂，生成相应的羰基化合物和羧酸，一元醇类及羟基不处在相邻碳原子上的多元醇化合物，均不被高碘酸氧化。本文用研制的基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光化学传感器对乙二醇进行了测定，并用高碘酸氧化法对结果进行对照，实验显示，该传感器对乙二醇的测定结果令人满意。和乙醇体系、醋酸体系相比，测量乙二醇的灵敏度更高，这可以从理论方面加以阐释。表 6-1 列出了几种物质的折射率大小。从表中可以看出，乙二醇与水的折射率差值最大。在第五章前言中已经讨论过，体系中二组分纯物质的折射率差值越大，该传感器对体系的响应斜率也越大，检测更灵敏。因此，在测定的三个化学体系中，乙二醇的水溶液体系在检测中最为灵敏。

Table 6-1 RIs of some materials (20°C)

Materials	H <sub>2</sub> O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	CH <sub>3</sub> COOH	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub>
RI	1.33299	1.36143	1.3717	1.4316

## 6.2 原理

图 6-1 为入射光在光纤与溶液介质界面的反射比随入射角的变化情况。在乙二醇水溶液体系中，乙二醇的折射率为 1.4316 (20°C)，水的折射率为 1.33299 (20°C)，在同一温度下，任意乙二醇水溶液的折射率会介于乙二醇与水的折射率之间，并且随着溶液浓度的增加，溶液折射率也将增大。光纤的折射率视为 1.47。从图中可以看出，溶液介质为水时的反射比大于溶液介质为乙二醇时的反射比，容易得出，对任意浓度的乙二醇水溶液，其反射比的大小在水和乙二醇的反射比之间。这表明，在乙二醇水溶液体系中，随着溶液浓度增加，透射出的模式滤光信号会增大。



**Fig.6-1** Reflectance  $\rho$  versus incident angle in ethylene glycol sensing system.

但是从式(3-27)知道，模式滤光信号的检测与检测器在毛细管侧面的放置位置有关。我们将水和乙二醇的反射比 $\rho$ 和反射次数  $N$  代入式(3-27)计算，发现在  $N > 1$  时，模式滤光信号随溶液浓度增大而降低。

## 6.3 实验部分

### 6.3.1 仪器和试剂

将 650nm 的半导体激光源固定在自制定的位圆盘上，使激光源在改变入射角时耦合进入光纤的入射光强  $I_0$  基本保持不变。激光导入直径为  $380\mu\text{m}$  的裸石英光纤中，石英光纤的另一端长约 24cm 部分插入内径为  $530\mu\text{m}$  的石英毛细管中。注意防止损伤光纤表面，以免因光纤损伤漏光，增加背景噪声。进样阀与毛细管一端连接，将样品引入毛细管流通池中。CCD 检测器置于毛细管一侧，用塑料光纤将毛细管侧面散射出的模式滤光引入 CCD 中检测。CCD 通过数据采集卡与一台计算机连接起来，CCD 采集的数据由计算机记录并处理。

乙二醇，分析纯，广州化学试剂厂

0.1N 高碘酸标准溶液

20%碘化钾溶液

6N 硫酸溶液

0.2N 硫代硫酸钠标准溶液

### 6.3.2 乙二醇标准溶液的配制

用移液管准确移取分析纯乙二醇 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90ml 于 10 个 100ml 容量瓶中，加蒸馏水稀释至刻度，配制成 0, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%(v/v)的乙二醇标准溶液。

另配制两份乙二醇样品溶液，分别标记为 A、B。

### 6.3.3 实验方法

调整激光源入射角，固定一合适角度，将波长 650nm 的激光导入光纤。再将不同浓度的乙二醇溶液分别引入毛细管，检测模式滤光  $\phi I_F$ ，用计算机记录并处理。

### 6.3.4 对照实验（高碘酸氧化法测定乙二醇的含量<sup>[210]</sup>）

精确称取样品 A 0.1011g 于锥形瓶中，加水 25ml，精确加入 0.1N 高碘酸标准溶液 50ml，振荡混合均匀后，静置 30min，然后，加 20%碘化钾溶液 30ml，6N 硫酸溶液 25ml，用 0.2N 硫代硫酸钠标准溶液滴定至淡黄色后，加 1%淀粉指示剂 2ml，继续滴定至蓝色恰巧消失，在同样条件下，做一空白试验。

再精确称取样品 B 0.1001g 于锥形瓶中，以下步骤同上。

## 6.4 结果与讨论

### 6.4.1 温度

由于温度对样品折射率及对 CCD 工作性能的影响，实验控制室温为 25℃。

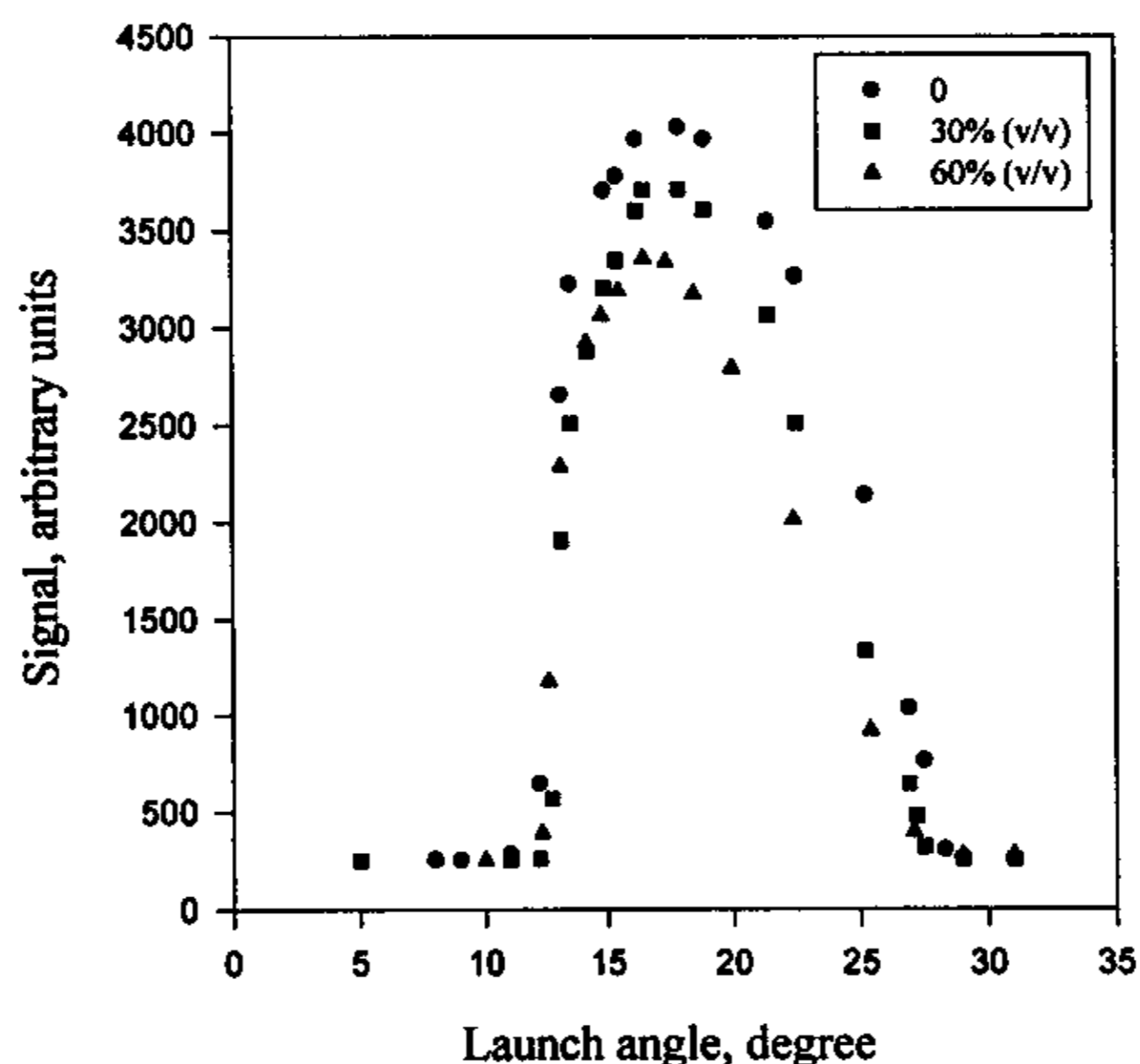


Fig.6-2 Signal intensity varied with the launch angle of the laser source to the fiber face normal.

### 6.4.2 最佳入射角

在前面的醋酸体系中，我们对模式滤光信号与光源入射角的关系进行了讨论，发现信号大小只与体系折射率有关，峰值出现在 17° 左右。对同一传感装置而言，这一结论应具有普遍意义。为此本文进一步对乙二醇体系进行了研究。图 6-2 为乙二醇体系的信号—角度图，“■”表示将纯水溶液引入毛细管后，改变激光源入射角，测定不同入射角度时模式滤光的光强信号情况；“●”是 30% 乙二醇溶液引入毛细管后得到的信号；“▲”是 60% 乙二醇溶液引入毛细管后得

到的信号。比较图 6-2 和图 5-2，可以很明显地看出二者之间的相似性，随着溶液浓度的增大，体系折射率增大，导致模式滤光信号均下降。尽管二者化学体系不同，但模式滤光信号峰值是一致的，都出现在  $17^\circ$  左右。此外，在两个图中都可以看出，在峰值处检测体系的模式滤光信号，其响应斜率最大，因而检测也最为灵敏。因此，在乙二醇体系中，激光源耦合进入光纤端面的最佳入射角也固定在  $17^\circ$ 。

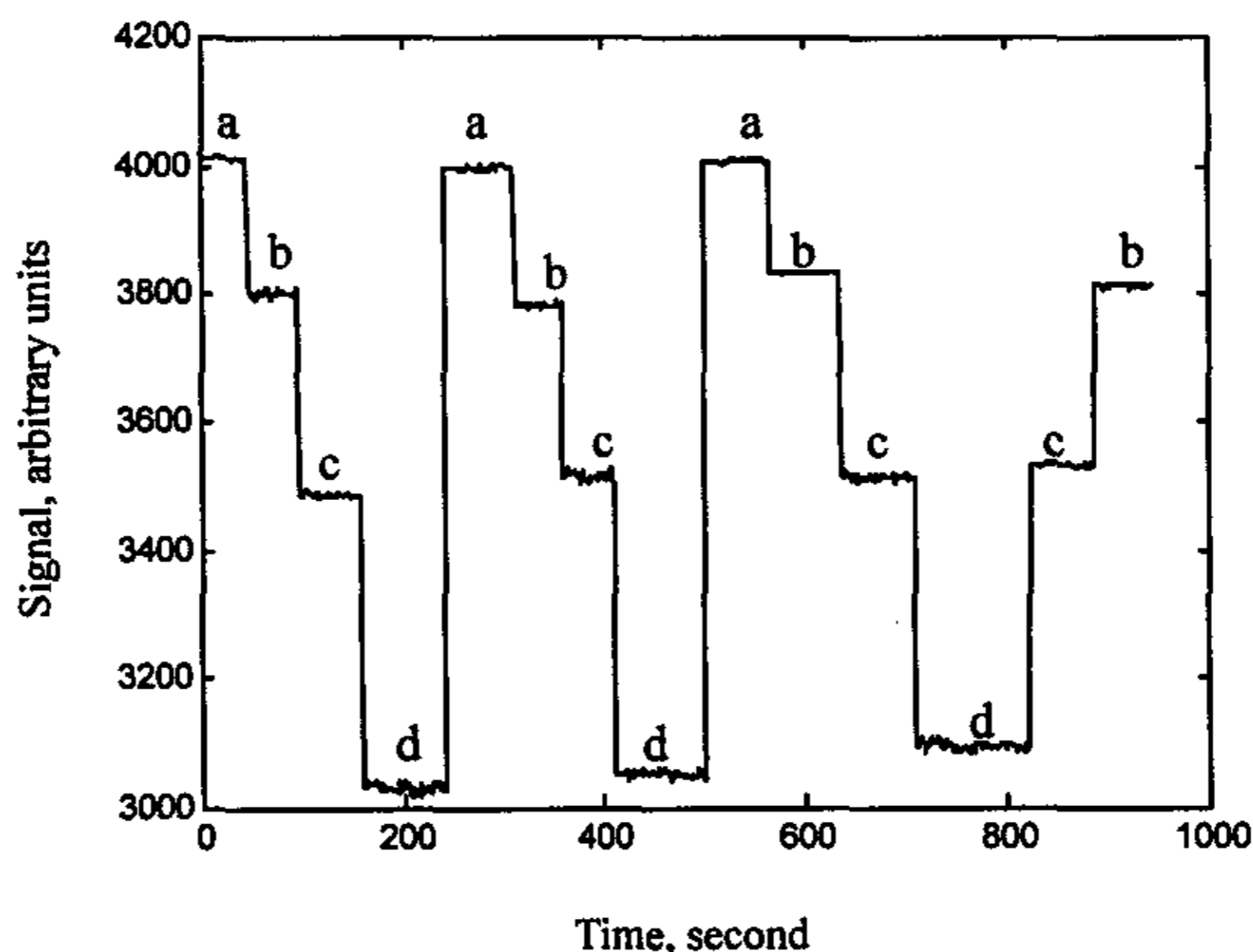
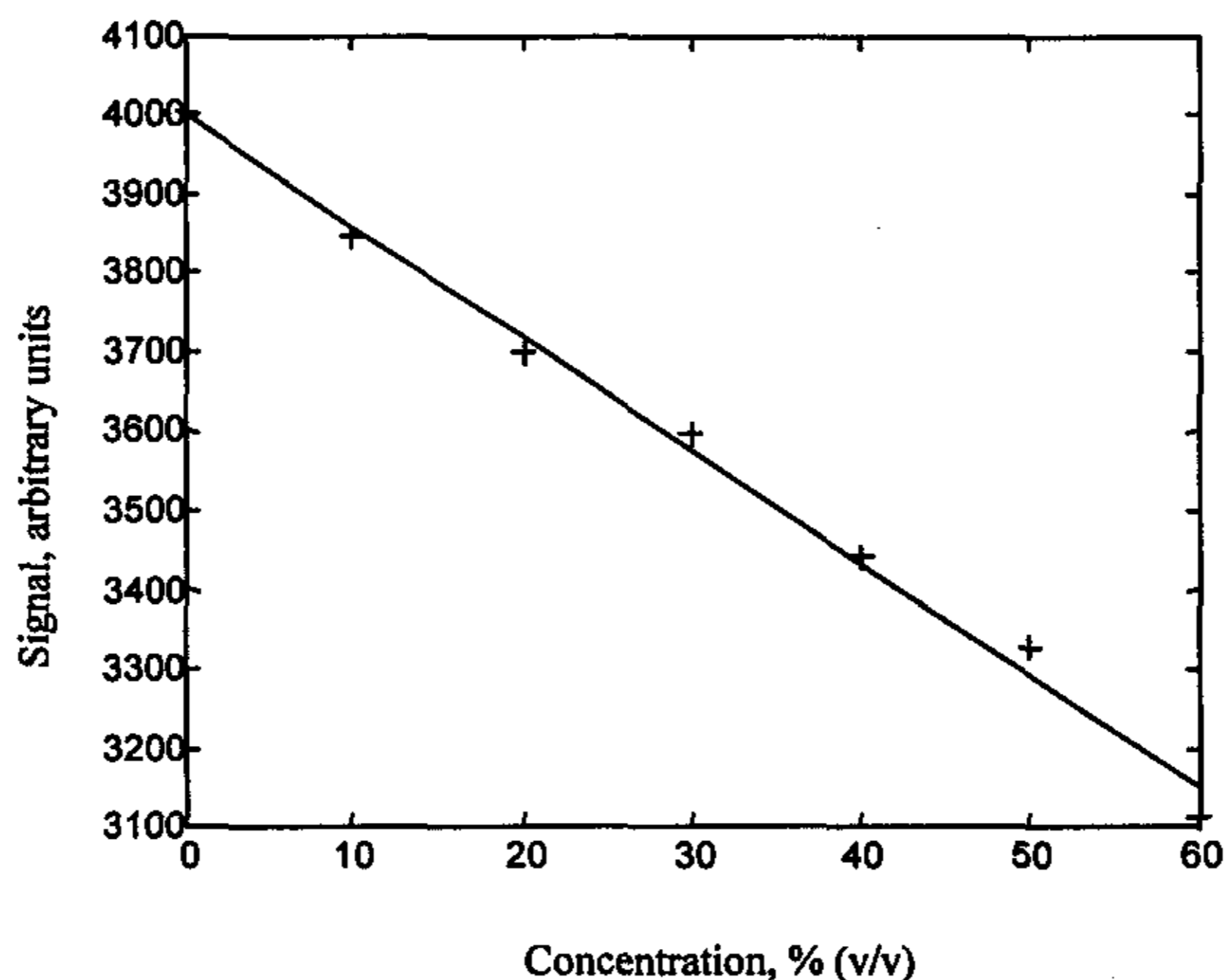


Fig.6-3 Real-time response of the sensor to ethylene glycol with different concentrations: a. 0; b. 20%; c. 40%; d. 60%.

### 6.4.3 传感器的响应特性

将该传感器应用于乙二醇体系时显示了该传感器具有同样的良好特性。当将不同浓度的乙二醇溶液依次、连续地引入毛细管时，模式滤光信号可被 CCD 实时检测出来，从而得到该传感器对乙二醇的实时响应曲线。图 6-3 显示了该传感器的响应特性。如图所示，实验以四种不同浓度的乙二醇溶液连续、反复进样，a、b、c、d 分别表示浓度为 0、20%、40%、60%(v/v)的乙二醇溶液。可以看出，模式滤光信号对样品折射率的变化是非常敏感的，当一种浓度的溶液取代另一种浓度的溶液通过流通池检测部位时（亦即一种折射率取代另一种折

射率), CCD 检测器能够实时检测出这种变化来, 而不论是从高浓度到低浓度检测, 还是从低浓度高浓度检。阶梯状突跃曲线显示了该传感器响应迅速这一突出的优点。此外, 该传感器的重现性也可以从图中反映出来。当同一种溶液前后几次反复引入流通池时, 从图中可以看出, 实时检测到的信号值是相同的, 保持在同一信号水平。这显示了该传感器重现好, 且性能稳定。传感过程中的信号噪声主要来源于激光源的波动和光纤表面的缺陷。图 6-3 还显示了该传感器的可逆性特征。研究表明, 和修饰型化学传感器相比, 该传感器在实时检测中不存在样品和修饰层的相互作用和样品从修饰层中洗脱下来的过程, 因此, 该传感器无论是从低浓度检测回到高浓度检测, 还是从高浓度检测回到低浓度检测, 都能很好地回到原来的工作状态, 显示出了它良好的可逆性。



**Fig.6-4** Calibration curve for ethylene glycol by the sensor. The linear response covers the concentration range of 0~60% (v/v) and relative coefficient is the value of 0.9966.

#### 6.4.4 乙二醇含量的测定

我们配制了两份乙二醇水溶液作待测样品, 标记为 A 和 B, 用高碘酸氧化法和用该传感器测定两种方法进行了对照实验。

在高碘酸氧化法中，样品 A 和 B 的质量百分浓度可用下式计算：

$$\text{乙二醇}\% = \frac{(V_0 - V) \times N \times M}{W \times 1000 \times 2} \times 100$$

式中  $V_0$  为空白测定消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(ml)， $V$  是滴定样品消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积(ml)， $N$  是硫代硫酸钠标准溶液的当量浓度， $M$  是乙二醇的摩尔质量， $W$  是样品的质量(g)。实验测得样品 A 和 B 的质量百分浓度换算为体积百分比浓度后分别为 16.23%和 42.97% 。

该传感器用标准曲线法对样品 A 和 B 进行了测定。取 10 份配制好的不同浓度的乙二醇标准溶液，分别引入毛细管中，测定与每份溶液对应的模式滤光信号，然后对浓度作图，可得到乙二醇溶液的工作曲线，如图 6-4 所示。结果显示，在 0~60%(v/v)的乙二醇浓度范围内测定结果线性相关，相关系数达到 0.9966。取样品 A 和 B 两种溶液，分别引入毛细管，检测其模式滤光信号，然后从工作曲线上测得其浓度大小，表 6-2 列出了样品 A 和 B 的浓度测定值的大小，从表中可以看出，样品 A 和 B 的浓度分别测得为 16.28%和 44.40% (v/v)。用传感器测定的方法与标准方法高碘酸氧化法相比较，我们发现传感器测量 A 和 B 的相对误差分别为 0.31%(样品 A)和 3.33%(样品 B)，实验结果令人满意。

**Table 6-2** Concentration measurements of the sample A and B by the sensor, (v/v, %)

Detection times	1	2	3	4	$\bar{x}$	s
Sample A	16.36	16.20	16.00	16.54	16.28	0.23
Sample B	44.11	44.04	45.05		44.40	0.56

## 第七章 多通道模式滤光检测同步分离分析光纤/毛细管色谱 传感器

### 7.1 前言

开发光纤包层的色谱固定相性能，结合具有高信噪比的模式滤光检测技术，实现具有在柱同步分离分析功能的光纤色谱传感是一种新颖、独特的构思<sup>[1-6]</sup>。其意义首先在于为发展多通道和多功能光化学传感器提供了一条切实可行的重要思路。在以往的化学传感器中，一般较少涉及色谱内容，而在复杂的真实体系中，选择性就成为构造化学传感器的一个重要参数。多通道在柱同步分离分析光纤色谱传感器的提出，将色谱分离技术与化学传感技术很好地结合起来，利用色谱分离技术实现传感器对混合体系中多组分的同时选择性响应；并利用电荷耦合器件（CCD）的多通道检测技术，从而巧妙地实现对多组分的同时分离和多通道信号的检测。

基于模式滤光检测的光纤/毛细管液相色谱传感技术的一个关键内容是在光纤表面进行色谱固定相的涂渍。关于开管柱液相色谱（OTLC）中固定相的涂渍工作，方法主要有物理涂敷、化学键合等等<sup>[7-14]</sup>，这在前文的绪论部分已经述及。在色谱传感技术研究中，文献报道的工作一是直接利用光纤的聚合物包层充当传感体系中的色谱固定相<sup>[2]</sup>，作为一种最初的研究，该方法当然是最简单的，然而传感器的各方面性能都有待提高；二是用物理涂敷的方法在光纤表面上涂上一层薄的色谱固定相 OV-215<sup>[4]</sup>，由于物理吸附不牢固，固定相易流失是显然的，因而这种方法对传感器的使用寿命和稳定性有不利的影响。

在我们的研究中，我们采用光纤表面硅烷化，用超声波水浴的方法将  $C_{18}$  固定相成功地修饰在光纤表面上<sup>[15]</sup>。为了消除光纤表面剩余的活性基团，我们用  $C_1$  硅烷化试剂对光纤表面进行了惰化处理。处理后的光纤表面形成了  $C_{18}$  和  $C_1$  交错、无序分布的修饰层。这种基于化学键合的固定相涂渍方法解决了色谱传感器中敏感膜的稳定性和使用寿命的问题，灵敏度和色谱峰形也得到了极大的改善。我们对  $C_{18}$  和  $C_1$  修饰的表面作了进一步的显微观察和分析，实验方法



采用了载玻片作基质，用原子力显微镜 (AFM) 对  $C_{18}$  和  $C_1$  修饰的载玻片表面的形貌进行了表征。红外光谱也表明，玻片上出现了特征的烷基吸收峰和硅烷基吸收峰。

实现在柱同步分离分析的一个重要内容是通过多通道检测提取整段色谱过程中的实时、在柱信号，并通过对这些多通道信号进行解析，从而获取多元体系中分析物质的组成和浓度等化学信息，显著提高多组分混合物中分析组分测定的精度。化学计量学的多元校正方法是混合物体系中分析物定量分析的依据。本研究采用了多元校正的偏最小二乘方法对溴苯、甲苯混合物体系进行了定量分析，获得了满意的结果。

## 7.2 实验部分

### 7.2.1 仪器的研制

我们构造了一套光纤/毛细管色谱传感分析仪，结构示意图见图 2-5。仪器主要由以下部件构成：波长 633nm 的半导体激光源 (1.5mW 633nm CW laser diode module, RS stock no. 111-346, RS Components)，注射泵 (74900 series, Cole-Parmer Instrument Company)，0.2 $\mu$ l 微量进样阀 (Rheodyne model 7520)，光纤/毛细管流通池，CCD 检测器及其数据采集系统 (天津联惠利有限公司)。加工了一个定位圆盘，可以使激光源方便的调整入射角。将一根直径 200 $\mu$ m 的经固定相修饰的光纤插入一段内径 250 $\mu$ m 的毛细管中，毛细管的另一端与微量进样阀相连接。流动相由注射泵压入进样阀，再进入毛细管中。CCD 检测器放置在毛细管侧面加以固定，并沿毛细管柱设置四个检测通道，检测从光纤侧面四个不同位点的模式滤光，获得的信号经数模转换由数据采集系统采集并由计算机处理。软件系统由实验室自行开发。

### 7.2.2 试剂和仪器

二次蒸馏水，实验室制备

甲醇，色谱纯，山东禹王实业总公司化工厂

丙酮，分析纯，湖南师大化学试剂厂

溴苯，分析纯，上海青浦合成试剂厂

甲苯，分析纯，湖南师大化学试剂厂

硫酸，分析纯，湖南邵阳市化学试剂厂

盐酸，分析纯，株洲开发区石英化玻有限责任公司试剂厂

纯氮

chlorodimethyloctadecylsilane, A.R., Aldrich Chemical Co.Inc.

chlorotrimethylsilane, A.R., Aldrich Chemical Co.Inc.

石英光纤，北京盛飞博光纤技术有限责任公司

石英毛细管，永年锐沣色谱器件有限公司

原子力显微镜 (AFM), SEIKO SPI3800N Probe Station & SPA-400 SPM Unit

WQT-410 付立叶变换红外光谱仪，北京第二光学仪器厂

B3200S-T 超声波发生器，必能信超声（上海）有限公司

## 7.2.3 实验方法

### 7.2.3.1 $C_{18}$ 和 $C_1$ 修饰光纤/毛细管的制备

截取 420mm 长的、直径为 200  $\mu$ m 的光纤，从一端将 350mm 长的部分浸泡在浓硫酸中约 48 小时，除去其包层，使之成为裸光纤。将除去包层的裸光纤浸在 2M 的盐酸中活化 2 小时，然后依次用甲醇、丙酮、二次蒸馏水洗净。截取内径 250  $\mu$ m 的毛细管 360mm，用盐酸浸洗内壁 2 小时，依次用甲醇、丙酮、二次蒸馏水洗净。将洗净的光纤和毛细管置于 140 $^{\circ}$ C 的烘箱中，在氮气保护下干燥过夜。然后将活化了的光纤和毛细管浸入 30ml 甲苯和 0.8g 的 chlorodimethyloctadecylsilane 溶液中，用超声波振荡 24 小时，取出光纤和毛细管，放入 30ml 甲苯和 10ml 的 chlorotrimethylsilane 混合溶液中，继续用超声波振荡 12 小时。以上操作在氮气的保护下进行，并且保证系统无水。

将制备好的涂层光纤小心插入毛细管中。为了避免光纤的涂层受到损伤，在插入光纤之前先让毛细管内充满甲醇，由于溶液的润滑作用，光纤在插入毛细管时可大大减少涂层与毛细管内壁之间的摩擦。

### 7.2.3.2 信号采集

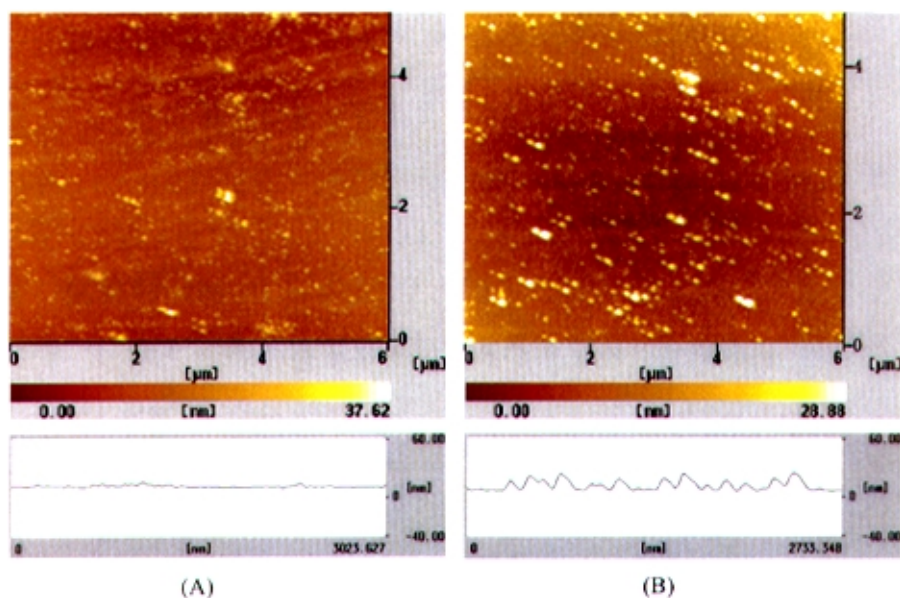
调整好仪器，以纯水作流动相，流速控制在 1  $\mu$ l/min。注入 0.2  $\mu$ l 样品，样品被流动相带入毛细管中参与分配，产生的模式滤光信号被 CCD 检测，用计算机记录并处理。

## 7.3 结果与讨论

### 7.3.1 $C_{18}$ 和 $C_1$ 修饰的表面形貌的 AFM 表征及红外光谱特征

玻璃表面的化学性质直接影响色谱过程，产生的吸附和催化活性主要受玻璃表面的金属杂质和表面活性基团的影响。石英因金属杂质含量极少，表面很少存在 Lewis 酸点，硅醇基团是构成氢键吸附的主要因素。光纤表面虽然经  $C_{18}$  修饰后，表面还会存在一些未反应的硅醇基团，而导致色谱峰的不对称峰形和拖尾。

用  $C_1$  硅烷化试剂对  $C_{18}$  修饰后的表面进行处理可有效地消除这些活性基团，在表面形成  $C_1$  层和  $C_{18}$  层的错落、无序的固定相涂层。这样做更同时提高了色谱分配的表面区域，因为这时候分离组分在发生分配时不仅与  $C_{18}$  相互作用，还可与  $C_1$  相互作用。这种非极性固定相的混合固定化方法用于反相色谱中被证明是成功和有效的<sup>[16]</sup>。



**Fig.7-1** AFM images of conformational aspects on the surfaces of (A) blank slide substrate and (B)  $C_{18}$ - and  $C_1$ - modified slide substrate. We can conclude that the modified slide surface has formed the nano-scale multiple  $C_{18}$ - and  $C_1$ - layers.

为了考察  $C_{18}$  和  $C_1$  修饰的表面形貌特征，我们以载玻片作基质，用 AFM 对  $C_{18}$  和  $C_1$  修饰的载玻片表面的形貌进行了表征。图 7-1 是未经修饰的空白载玻片基质 (A) 和经  $C_{18}$  和  $C_1$  修饰的载玻片基质 (B) 的表面形貌图。从图中可以直观地看出，空白和修饰玻片的表面有着明显的差异，这从一个方面说明  $C_{18}$  和  $C_1$  已经修饰在玻片上，并且  $C_{18}$  和  $C_1$  的分布不是均匀、平整的，这可能与基质的表面性质部分有关。玻片经  $C_{18}$  和  $C_1$  修饰后表面的粗糙程度增加，这种结果从 (A) 图和 (B) 图下方显示表面粗糙程度的曲线中也可反映出来。

我们对涂层玻片做了红外光谱，考察玻片上烷基的红外吸收。图 7-2 是硅烷化玻片的红外光谱。从图中可以看出，在  $2940\text{cm}^{-1}$  和  $2872\text{cm}^{-1}$  处有烷基吸收峰，也存在硅烷基吸收峰，因为硅烷基吸收峰也出现在  $2940\text{cm}^{-1}$  处。

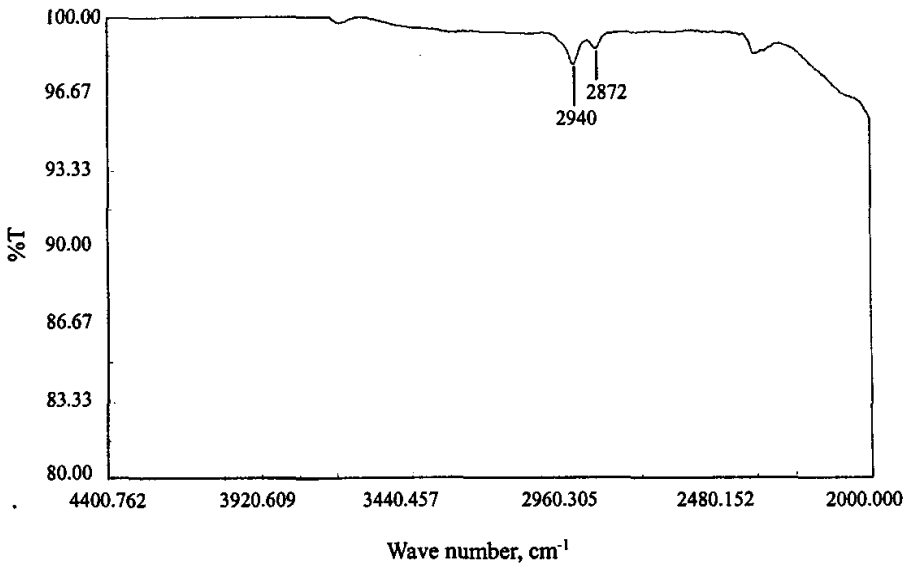


Fig.7-2 Infrared spectrum of  $C_{18}$  and  $C_1$  modified slide surface.

### 7.3.2 体系条件的优化

在传质过程中，液相中溶液的扩散速率远小于在气相中的扩散速率，因此，为了获得理想的分离效果和更高的灵敏度，需要降低流动相的流速，通常保持在合适的较低流速，例如  $1\mu\text{l}/\text{min}$ 。从理论上分析可知，对于模式滤光检测色谱

传感体系而言，其信号大小可用公式表示：

$$signal = \frac{\alpha'(n-n_2)C_{inj}V_{inj}k}{\sqrt{U(1+9k+25.5k^2)}} \quad (7-1)$$

其中， $\alpha'$  ——常数

$n$  ——待测物质的折射率

$n_2$  ——包层折射率

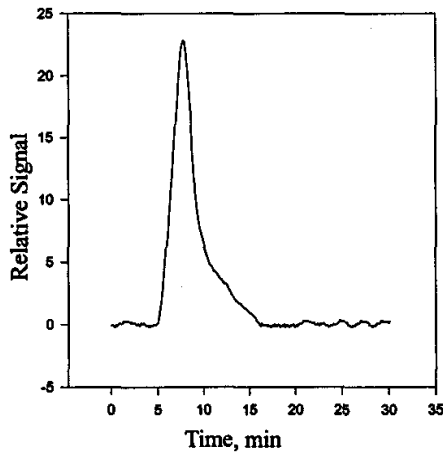
$C_{inj}$  ——待测物的进样浓度

$V_{inj}$  ——待测物的进样体积

$U$  ——流动相的流速

$k$  ——容量因子

从上式可以看出，流速  $U$  越小，对体系获取灵敏的信号就越有利。但流速也不是越小越好，流速太低会导致分离检测时间大大延长。



**Fig.7-3** Chromatographic response to a small sample volume of bromobenzene. Conditions: mobile phase, pure water; flow rate, 1.0 $\mu$ l/min. A 0.2 $\mu$ l sample containing 2.0 $\mu$ g of bromobenzene was injected.

图 7-3 显示的是传感器对单组分样品典型的响应信号，图中显示了将 0.2 $\mu$ l 含有 2 $\mu$ g 溴苯的样品溶液引入毛细管中所获得的理想的模式滤光信号。为了考察流动相的组成对模式滤光信号的影响，我们换用不同醇水比的流动相，得到

了流动相不同的醇水比与信号变化的关系。从图 7-4 可以看出，随着流动相中甲醇含量的降低，体系所检测到的信号就越大，当用纯水作流动相时，获得的模式滤光信号最高。这一结果对于避免在实验中使用毒害性有机溶剂做流动相是有利的。

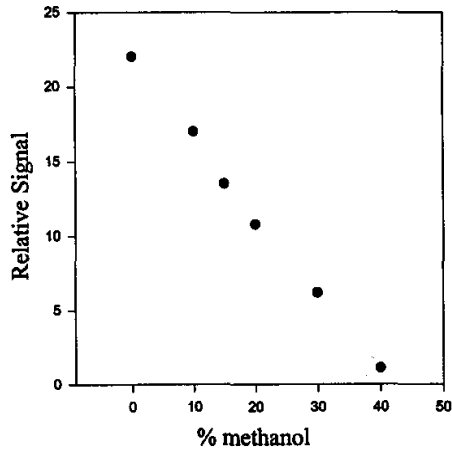
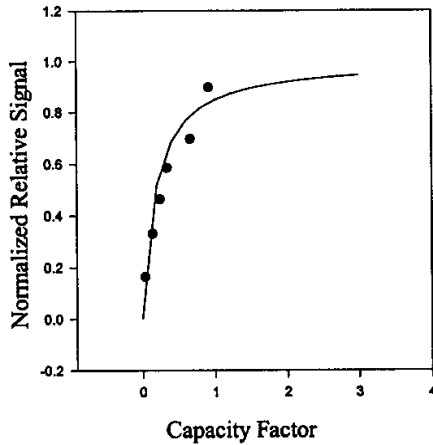


Fig.7-4 Analyte signal versus % methanol in the mobile phase obtained for bromobenzene at the flow rate of 1.0 $\mu$ l/min.

我们的理论分析表明，这一结果与理论也是非常吻合的。我们总是期望分析对象更多地分配进入固定相涂层中，以提高检测的信号和灵敏度。从色谱理论上说，这即是增大了容量因子  $k$ 。容量因子是衡量色谱柱对被分离组分保留能力的重要参数。从方程式 (7-1) 可以知道， $k$  值对模式滤光信号有着很重要的影响。如果考虑式 (7-1) 中其它参数不变。并对信号作归一化，我们可以获得如图 7-5 实线所示信号与容量因子之间的关系。从图中的实线可以看出，当  $k$  值小于 1 时，信号增长非常迅速，而当  $k$  值大于 1 后，信号增长已变得很小。这一原因在于  $k$  增加到一定值时，待测物质受流体的稀释作用加强，导致信号峰展宽，使得峰浓度下降。



**Fig.7-5** Normalized relative signal for bromobenzene as a function of the capacity factor. The solid line is the function as predicted by Eq.1.

正因为如此，在反相色谱中，流动相中甲醇含量的降低，正有利于有机分析对象更多地进入  $C_{18}$  固定相涂层中，从而增大了体系的容量因子，提高了可检测的模式滤光信号。图 7-5 中的数据点是实验得到的容量因子与相对信号之间的关系，结果显示理论计算对实验值拟合得很好。

### 7.3.3 传感器的响应特征及多通道模式滤光信号分析

考察模式滤光信号对浓度的响应是模式滤光检测的定量依据。根据方程式 (7-1)，信号的大小与分析对象的浓度、折射率以及分配进入固定相涂层的多少有关。通过实验，我们可以判定检测系统是否对浓度线性响应，模式滤光检测机理与实际体系是否一致。这对于我们深入研究多通道模式滤光检测也是必要的，因为在混合物体系中，色谱峰强度与混合物组成不具有严格的线性关系。在这种情况下，我们通过提取多通道模式滤光信号进行多元校正，可以获知混合组分的浓度，并大大提高分析对象的检出准确度。图 7-6 是不同浓度溴苯的信号响应曲线，流动相是纯水，流速控制在  $1\mu\text{l}/\text{min}$ 。该校正曲线表明，传感器对浓度的响应是近似线性相关的。

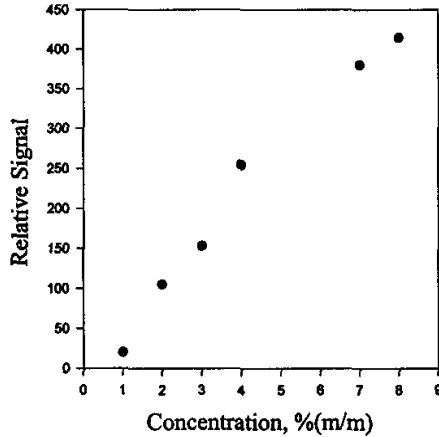
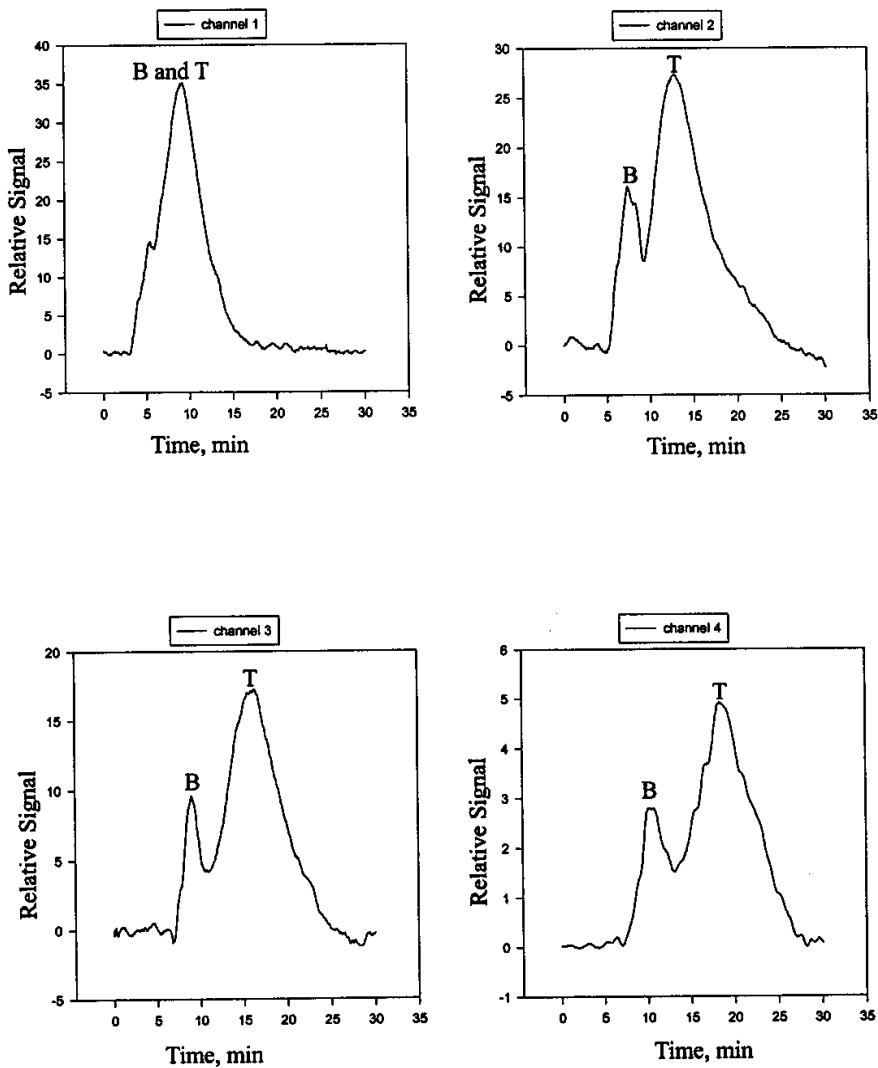


Fig.7-6 Calibration curve for bromobenzene in pure water stationary phase at 1 $\mu$ l/min.

我们对混合物体系的同步分离和多通道信号分析开展了研究。实验用 4 个检测通道对混合物体系进行了实时在柱监测。考察混合物体系中各组分的分离性能是传感器选择性的重要量度。各组间的分离度越大，传感器的选择性越好。由此可见，我们构造的传感器可以实现对多组分的同时选择性响应，这就使得我们基于在单一传感器上获取多信号、多功能的构思得以实现。我们用该传感器对二元混合物分析体系进行了传感，分析对象是溴苯和甲苯，实验获得了传感器对溴苯和甲苯的选择性和浓度量测信息，如图 7-7 所示。从通道 2 开始出现分离，其中通道 2 的分离度经计算得 0.64，通道 3 的分离度为 0.71，通道 4 的分离度为 0.80。可以看出，各通道的分离度从通道 1 至通道 4 依次增大，即选择性响应越好；而峰信号则依次有所下降，这是由于流体的稀释作用导致分析物质的区带展宽造成的。实验表明，传感器对溴苯和甲苯混合物体系具有良好的选择性响应，也显示了传感器在实际体系中的应用前景。





**Fig.7-7** Multichannel mode-filtered light signals for  $0.2\mu\text{l}$  sample containing  $0.2\mu\text{g}$  of bromobenzene(B) and  $10\mu\text{g}$  of toluene(T). Conditions: mobile phase, pure water; flow rate,  $1\mu\text{l}/\text{min}$ . The results predict that the sensor has potentials for simultaneous selective response to mixed components and for development of multi-signal and multi-functional sensing in a unique sensor.

从图 7-7 中还可以看出，各个通道获取的实验体系中的信息是不同的，这种在柱监测对于研究色谱中分析物质的区带展宽过程和区带洗脱动力学是非常有用的<sup>[17]</sup>。在我们的研究中，获取多通道模式滤光信号的一个重要意义在于显著提高多组分混合物中分析组分测定的精确度和准确度。实验中，我们选用溴苯和甲苯混合体系，用多通道模式滤光检测实现对二组分的同时测定。

化学计量学的多元校正方法是混合物体系中分析物定量分析的依据<sup>[18]</sup>。多元校正方法可分为两类，即直接校正与间接校正。直接校正属于硬模型方法，它利用校正集构造量测信号随混合物组成变化的响应模型。这类方法需要已知影响响应的各种变化的化学与物理因素，且只适用于线性模型体系。间接校正属于软模型方法，它利用校正集建立分析物浓度与量测信号的关系模型。它只需假定分析响应的各种变化的影响因素具有一致性，而不需知道这些影响因素的具体形式，且可适用于非线性模型，或运用线性模型逼近非线性模型。由于色谱峰强度与混合物组成不具有严格的线性关系，且在非理想情况下，色谱峰强度可能受到各种未知因素的影响，因此本研究中采用间接校正方法进行溴苯、甲苯混合物体系中溴苯、甲苯的定量分析。

间接校正中常用的线性模型可表述如下：

$$C = x^T \cdot b + e \quad (7-2)$$

其中  $C$  为分析物浓度； $x$  为分析物的量测信号向量； $b$  为回归系数向量； $e$  为模型误差。给定一组校正集数据，模型（2）可具体化如下：

$$C = x \cdot b + e \quad (7-3)$$

其中  $C$  为浓度向量，其元素为校正样品中分析物浓度； $x$  为量测信号矩阵，其行为校正样品的分析信号向量； $e$  为模型误差向量，其元素为相互校正样品的模型误差。间接校正的目的在于估计回归系数  $b$  使得模型（7-2）对于未知样品的预测误差尽可能小。

传统最小二乘是间接校正中常用方法之一，但该方法只适用于非病态体系，当变量间共线性严重时，最小二乘方法性能极不稳定，估计方差较大。在本研究中，四个模式滤光检测通道可产生数千个分析通道，因此该体系具有高度的复共线性。为克服复共线对定量分析的影响，本研究中采用偏最小二乘方法（PLS）。

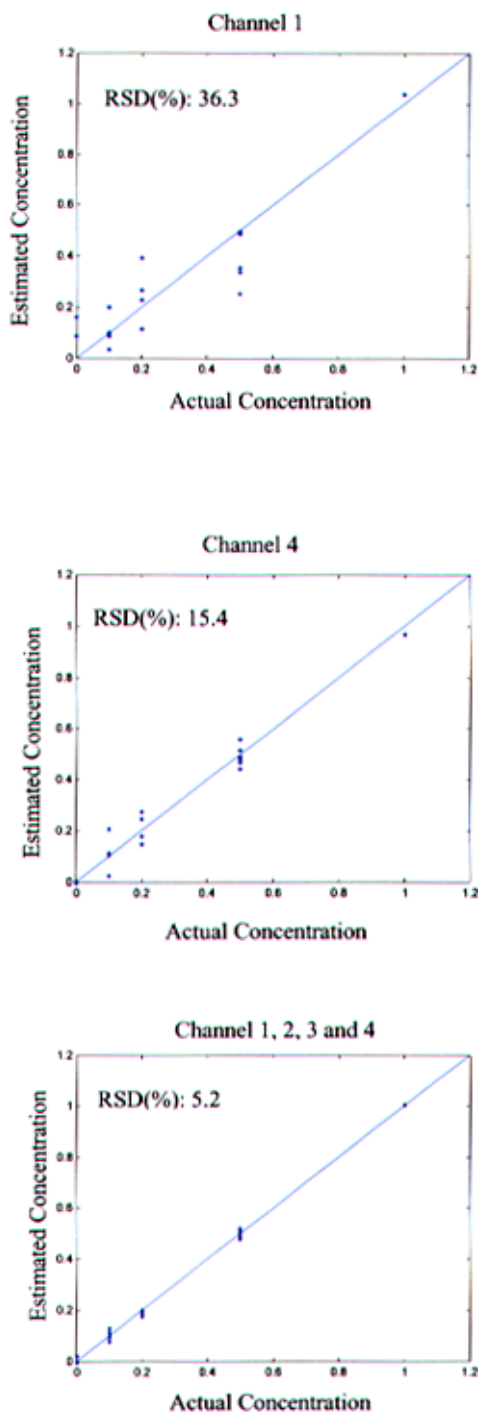
偏最小二乘是一种隐变量回归方法，其基本思想在于构造少数几个相互正

交的隐变量以提取回归变量中所蕴涵的建模信息，将因变量与具有复共线性回归变量间的建模问题转化为因变量与相互正交隐变量间的建模问题，避免了病态模型可能导致的估计不稳定困难。与主成分回归方法不同的是，偏最小二乘回归所构造的隐变量不仅考虑了隐变量对回归变量所解释的方差，也考虑了隐变量与因变量的相关性，因而只需较少的隐变量便可充分提取原始变量中的建模信息。

为比较多通道模式滤光传感器与单通道模式滤光传感器在多组分同时定量分析上的性能，我们分别用通道 1、通道 4 以及四个通道所获得到的分析信号（各通道随时间变化的信号）建立混合物体系中溴苯、甲苯定量分析的 PLS 模型，其中 PLS 模型维数均由交互检验确定。

研究表明，采用单个通道的分析信号进行 PLS 建模，模型维数为 3，较体系组分分数略大，这是由于各通道的基线产生的。而采用四个通道的 PLS 模型维数为 5。这一结论是显然的，因为不同通道的基线特征是不同的。图 7-8 中 a、b、c 给出了 PLS 模型对校正集中溴苯的估计结果。由图可见，以通道 1 为基础的 PLS 模型的估计误差最大，以通道 4 为基础的 PLS 模型误差略小，而以 4 个通道建立的 PLS 模型分析精度有显著提高。事实上，通道 1 中总体估计浓度与真实浓度的相对标准偏差 RSD 为 36.3%，通道 4 中总体估计浓度与真实浓度的 RSD 为 15.4%，而 4 个通道的总体估计浓度与真实浓度的 RSD 为 5.2%。这一结果表明多通道模式滤光传感器的研究对于改善混合物定量分析精度是有重要意义的。

图 7-9 中 a、b、c 给出了 PLS 模型对校正集中甲苯的估计结果。与图 7-8 显示的结果一致，以通道 1 为基础的 PLS 模型的估计误差最大，以通道 4 为基础的 PLS 模型误差略小，而以 4 个通道建立的 PLS 模型分析精度有显著提高。其中，通道 1 中总体估计浓度与真实浓度的 RSD 为 20.3%，通道 4 中总体估计浓度与真实浓度的 RSD 为 12.4%，而 4 个通道的总体估计浓度与真实浓度的 RSD 为 4.6%。



**Fig.7-8** Multichannel mode-filtered light signal analysis for bromobenzene.

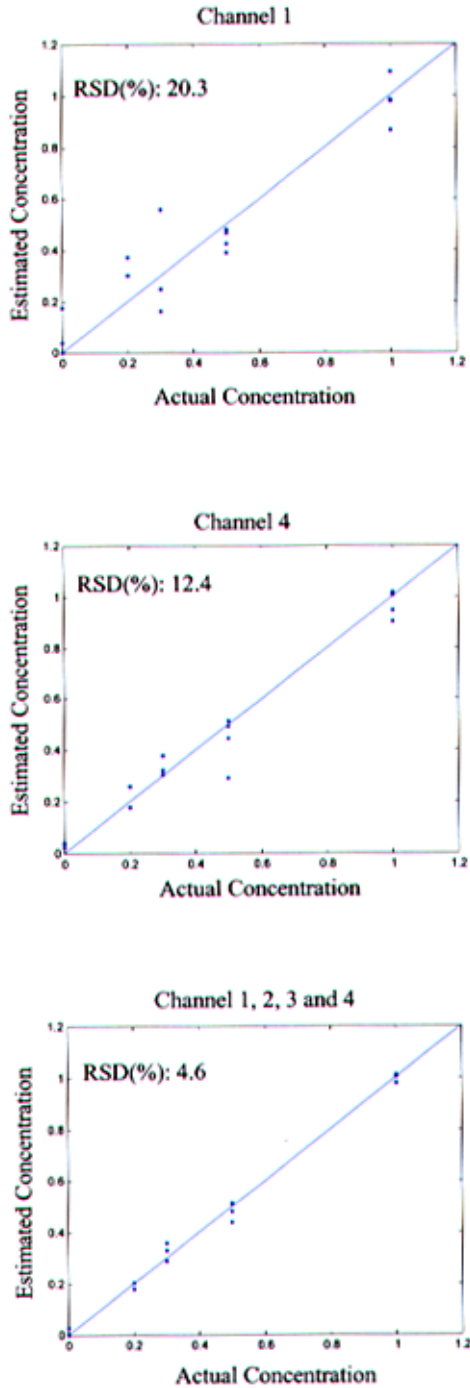


Fig.7-9 Multichannel mode-filtered light signal analysis for toluene.

利用所建立的最优模型，即以 4 个通道的分析信号为基础的 PLS 模型，我们对 15 个预测样品中溴苯、甲苯浓度进行了估计，其结果见表 7-1、表 7-2。由表可见，各浓度估计误差都达到了满意的精度。这一结果表明，利用模式滤光传感器的多通道检测信息，我们实现了二元组分的同步分离和分析。

**Table 7-1. Concentration prediction for bromobenzene (% , m/m)**

Estimated concentration	Actual concentration	Relative error
0.0914	0.10	-0.086
0.4787	0.50	-0.043
0.0933	0.10	-0.067
0.1117	0.10	0.117
0.1062	0.10	0.062
0.2082	0.20	0.041
0.1795	0.20	-0.103
0.1851	0.20	-0.074
0.1939	0.20	-0.030
0.5209	0.50	0.042
0.5145	0.50	0.029
0.4791	0.50	-0.042
0.4872	0.50	-0.026
0.0223	0	
-0.0029	0	

Table 7-2. Concentration prediction for toluene (% , m/m)

Estimated concentration	Actual concentration	Relative error
1.0812	1.00	0.081
0.3390	0.30	0.130
0.4500	0.50	-0.100
0.9182	1.00	-0.082
0.2065	0.20	0.033
0.3223	0.30	0.074
0.5299	0.50	0.060
1.0939	1.00	0.094
0.0280	0	
0.1795	0.20	-0.103
0.2893	0.30	-0.036
0.5347	0.50	0.069
0.4616	0.50	-0.077
1.0449	1.00	0.045
2.1465	2.00	0.073

## 第八章 基于 Sol-Gel 包埋 BSA 手性固定相的多通道模式滤光新型毛细管电泳研究

### 8.1 前言

生命科学中各种重要的生物化学物质的分离分析是当今生物技术的重要组成部分。毛细管电泳 (CE) 作为一种高效、微量和高灵敏度的强有力的分离手段, 已经在基因分析、蛋白质分离、手性拆分以及生物大分子与药物分子相互作用等生命科学领域里突显其巨大的优势<sup>[217-221]</sup>。

高效、微量的分离手段离不开通用和高灵敏的检测方法。在 CE 检测方法的研究中, 紫外-可见吸收检测器属于较通用的检测器, 但由于在 CE 中的吸收光程短而使其灵敏度受到限制; 激光诱导荧光 (LIF) 检测器可以提供非常高的灵敏度, 但是大多数生物样品并不能直接进行荧光检测, 需要衍生, 这在很多情况下 (如要求生物活性或在体分离检测) 是无法满足 LIF 检测的。折射率 (RI) 检测作为一种浓度型且非破坏性的通用型检测技术, 在微体积样品的检测上具有相当的灵敏度, 正好填补了检测器的这一空间, 很适合毛细管分离所需, 因此一直为研究者所关注。

模式滤光检测是一种基于 RI 测量的光纤传感技术<sup>[117, 121, 191]</sup>, 将它与毛细管分离技术结合起来, 是一个颇具匠心的构思。模式滤光检测技术既可以作为毛细管分离传感的整体研究工作中的一部分去构造传感器, 也有可能发展成为一种单一的、独立的毛细管色谱和 CE 的通用型检测器。模式滤光检测的优势还在于在理论上可以完整地反映整个传感体系的分离动力学过程, 如溶质的区带展宽、区带洗脱等, 实时监测和考察生物大分子的电泳迁移行为, 以及提供传感体系的其它多通道化学与生物信息, 以对这些信息作出完整、准确的分析。

模式滤光毛细管电泳同步分离分析是我们小组最近发展起来的一项新技术<sup>[222]</sup>。在这一章里, 我们首先开展了无涂层修饰的毛细管等速电泳对甘氨酸和丙氨酸混合物体系进行分离分析的工作, 获得了初步的实验结果。我们从实验现象看到



了光纤表面和毛细管内壁的活性基团与样品组分的相互作用，对信号检测产生了负面影响。如果在光纤表面和毛细管内壁涂渍一层色谱固定相，使样品组分在电泳的同时能够进入固定相发生色谱分配，则既可以提高体系的分离效率，适用于更多的毛细管电泳分离模式，还可以大大提高模式滤光信号的可检测性（因为因样品在光纤涂层中产生的折射率变化而获得的模式滤光信号远大于因样品在液相中产生的折射率变化而获得的模式滤光信号），使其获得更高的灵敏度。因此，在毛细管电泳中，开展光纤表面的修饰技术成为后面研究工作的一个重要内容。

对映体分离一直为化学界所关注<sup>[223, 224]</sup>，毛细管电色谱是其中最有效的手段之一。蛋白质以其良好的对映体分离的天然特性而在手性固定相的制备中倍受青睐<sup>[225-227]</sup>。在我们的实验中，我们开展了基于 sol-gel 包埋 BSA（牛血清白蛋白）手性固定相对混旋氨基酸进行手性拆分的研究，研究对象选用了 D, L-色氨酸。用 sol-gel 技术包埋蛋白质一类的生物大分子可以保持其天然构型及活性，涉及的反应条件比较温和，这对于热稳定性和化学稳定性差的蛋白质等生物大分子而言是一种理想的固定化方法<sup>[163, 228-231]</sup>。在 sol-gel 玻璃中 BSA 被包埋在基质的孔隙中，而分析对象则可扩散到孔隙中与 BSA 发生作用。需要注意的是，sol-gel 方法可能会稍微改变包埋的生物大分子的光化学性质和生物活性，因为在孔隙中生物大分子的自由度仍可能有一定程度上的降低，它们或会与孔隙表面相互作用。这可以通过调节 sol-gel 的过程参数来进行控制。

为了获得 sol-gel 包埋 BSA 手性固定相涂层的表面形貌的信息，我们使用了原子力显微镜（AFM），对载玻片作基质的 sol-gel 包埋 BSA 涂层进行了表征。我们较深入地研究了实验体系的影响因素和优化条件。进一步的研究表明，基于光纤表面修饰的模式滤光 CE 无论在获取体系的分离信息还是在检测信号上，较之无涂层修饰的模式滤光 CE 都有了明显的改进。从理论和实验两方面来看，我们期望多通道模式滤光 CE 在生物分子和药物分子的手性拆分上、在研究生物大分子和药物分子之间相互作用的生物特征上，可以获得良好的应用。

## 8.2 实验部分

### 8.2.1 多通道模式滤光毛细管电泳仪的研制

多通道模式滤光毛细管电泳仪由本实验室自行研制，结构示意图见图 8-1。仪器主要由以下部件构成：

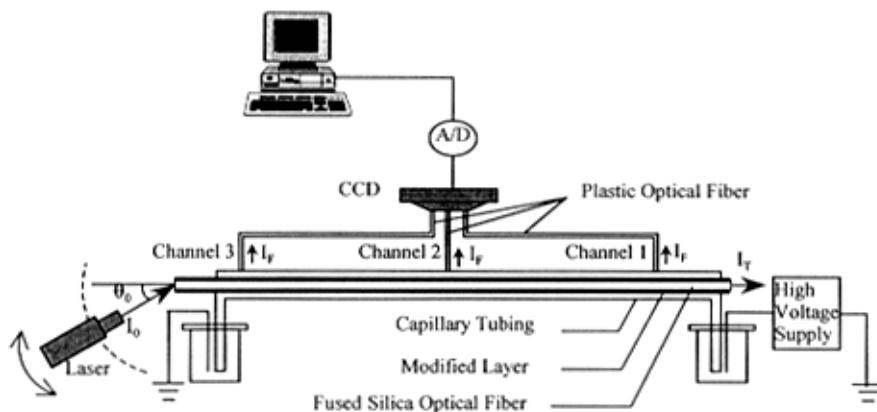


Fig.8-1 Schematic of mode-filtered light capillary electrophoresis instrument.

波长 632.8nm 的 He-Ne 激光源（北京大学物理系），固定在一个加工的定位圆盘上，用该定位圆盘可以调节激光源的入射角，该定位圆盘还可以在前后、左右、上下三个方向对激光源进行三维微调定位；

高压电源有两种，一种是 BIO-RAD 公司出品的 HPE100 型毛细管电泳仪的高压电源，其标称最高输出电压为 12KV，但一般只能提供最高输出电压 8KV，此时电流为 110-120 $\mu$ A，最大电流为 200 $\mu$ A，另一种是后来购置的 $\pm$ 30KV/0.3mA 高压电源，由上海原子核研究所提供；

光纤/毛细管流通池，石英光纤由北京盛飞博光纤技术有限责任公司提供，石英毛细管由永年锐洋色谱器件有限公司提供；

CCD 检测器及其数据采集系统（天津联惠利有限公司）；

进样系统由一个微小的三通连接器 (RS Components Ltd., Co. HK) 构造而成, 如图 2-2 所示, 将光纤插入一段毛细管中, 用硅橡胶固定好光纤并密封住三通的一端, 毛细管先插入与其外径相当的塑料毛细管中, 然后再将塑料毛细管插入三通中, 由于三通的內径与塑料毛细管外径相当且稍小一点, 因而可以起到密封作用, 废液流出端与进样端构造一致;

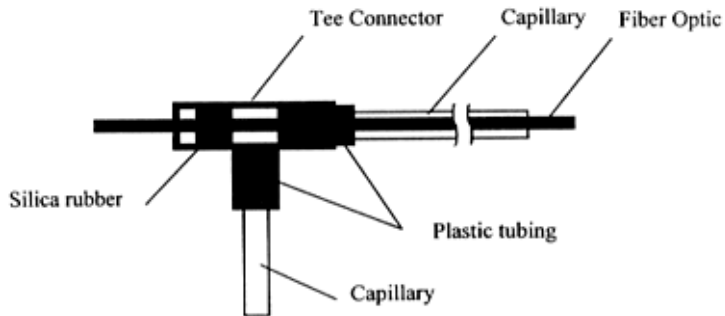


Fig.8-2 Sampling system designed for mode-filtered light capillary electrophoresis .

仪器的底座等主体部分主要由有机玻璃制作, 暗箱用黑色有机玻璃制作, 保证整个仪器良好的绝缘性能。毛细管固定在一个水平的铝金属支架上, 金属铝具有很强的散热性能, 可以改善电泳自热的散热效果。电极用 0.3mm 的铂金丝, 导电电线采用耐高压导线。耐高压导线高压电源连接部分接好后, 用硅橡胶密封好。CCD 检测器放置在毛细管侧面加以固定, 并沿毛细管柱设置 3 个检测通道, 检测从光纤侧面 3 个不同位点的模式滤光, 获得的信号经数模转换由数据采集系统采集并由计算机处理。软件系统由实验室自行开发。

## 8.2.2 试剂和仪器

二次蒸馏水，实验室制备

乙醇，分析纯，湖南师大化学试剂厂

甲醇，分析纯，湖南师大化学试剂厂

丙酮，分析纯，湖南师大化学试剂厂

硫酸，分析纯，湖南邵阳市化学试剂厂

盐酸，分析纯，株洲开发区石英化玻有限责任公司试剂厂

氢氧化钠，分析纯，天津市化学试剂批发部

重铬酸钾，分析纯，长沙化学试剂厂

甘氨酸，分析纯，上海康达氨基酸厂

$\alpha$ -丙氨酸，分析纯，上海康达氨基酸厂

三(羟基甲基)氨基甲烷(Tris)，湘中化学试剂开发中心

四乙氧基硅烷(TEOS)，中国上海五联化工厂

磷酸，分析纯，武汉化学试剂厂

异丙醇，分析纯，天津市化学试剂二厂

BSA，生化试剂，上海伯奥生物技术有限公司

L-色氨酸，生化试剂，Aldirich Chem. Co.

D-色氨酸，生化试剂，Aldirich Chem. Co.

D, L-色氨酸，生化试剂，Aldirich Chem. Co.

纯氮

Tris 缓冲液：将 Tris 溶于二次蒸馏水，在复合 pH 玻璃电极的监测下调节 pH 值到 8.5。

PH=2.2 的 McIlvaine 缓冲液：磷酸二氢钠 0.0632g，柠檬酸 2.0580g 混合加水至 100ml。

色氨酸溶液(10mM)：0.0102g 溶于 5ml PH=2.2 的 McIlvaine 缓冲液中。

原子力显微镜(AFM)，SEIKO SPI3800N Probe Station & SPA-400 SPM Unit B3200S-T 超声波发生器，必能信超声(上海)有限公司

LG 冰箱

## 8.2.3 实验方法

### 8.2.3.1 无涂层修饰的毛细管电泳

#### 8.2.3.1.1. 光纤和毛细管的制备

取一根直径为  $400\ \mu\text{m}$  的光纤，从一端将其中的一段浸泡在浓硫酸中约 48 小时，除去这一段的包层。截取一根内径为  $530\ \mu\text{m}$  的毛细管，然后将光纤和毛细管置于重铬酸钾洗液中浸泡 2-4 小时，再依次用二次水、乙醇、丙酮清洗。按图 8-1 装好毛细管和光纤，在其空腔内注满  $10\text{mM}$  的 HCl，浸泡 24 小时。

#### 8.2.3.1.2. 电泳老化

在  $10\text{mM}$  的 HCl 中浸泡后的毛细管和光纤，以  $10\text{mM}$  的 HCl 作为运行缓冲液，在电流为  $120\ \mu\text{A}$  的条件下，电泳老化 8 小时以上。在电泳条件下，将毛细管和光纤表面吸附的杂质洗掉，使毛细管和光纤表面的离子和  $10\text{mM}$  的 HCl 溶液达到一种动态平衡。

#### 8.2.3.1.3. 实验步骤

调节好激光源的入射角度。先将  $10\text{mM}$  的 HCl 前导缓冲液充满整个环形空腔，在  $160\ \mu\text{A}$  恒流下，电进样 10-20s，再将进样端的样品溶液换成  $10\text{mM}$  的 Tris 尾随缓冲液，进行毛细管等速电泳。两次运行之间用  $10\text{mM}$  HCl 冲洗毛细管以排去 Tris 缓冲溶液以提高重现性。所有操作均在室温下进行。电泳运行缓冲液及样品均经过  $0.45\ \mu\text{m}$  滤膜 (Cole-Palmer Instrument Company, USA) 过滤。

模式滤光信号被 CCD 检测，用计算机记录并处理。

### 8.2.3.2 sol-gel 包埋 BSA 手性固定相涂层的毛细管电泳

#### 8.2.3.2.1. 光纤和毛细管预处理

截取一根直径为  $200\ \mu\text{m}$  的光纤，从一端将其中的一段浸泡在浓硫酸中约 48 小时，除去其包层，使之成为裸光纤。将除去包层的裸光纤浸在  $2\text{M}$  的盐酸中活化 2 小时，然后依次用甲醇、丙酮、二次蒸馏水洗净。截取一段内径  $250\ \mu\text{m}$  的毛细

管，用盐酸浸洗内壁 2 小时，依次用甲醇、丙酮、二次蒸馏水洗净。将洗净的光纤和毛细管置于 140℃ 的烘箱中，在氮气保护下干燥过夜。

#### 8.2.3.2.2. sol-gel 溶液的配制

所用试剂配比如下：

TEOS, 15ml;

H<sub>2</sub>O, 14.5ml;

HCl (0.1M), 0.5ml

将溶液超声约 5 分钟，得到澄清的 sol-gel 前驱体溶液。

称取 0.05g BSA，将其加入 0.5ml 的磷酸缓冲溶液(pH=6.81)中，混合至完全溶解。

将 sol-gel 前驱体溶液和 BSA 磷酸缓冲溶液混合，搅拌均匀。

#### 8.2.3.2.3. sol-gel 包埋 BSA 手性固定相涂层

首先将光纤小心插入毛细管中，然后往毛细管内注入 sol-gel 溶液，停留约 5 分钟，通氮气将 sol-gel 溶液排出至完全干燥。将光纤和毛细管置于 4℃ 的环境中老化一周。

#### 8.2.3.2.4. 实验步骤

调节好激光源的入射角度，将 pH=2.2 的磷酸缓冲溶液充满整个环形空腔，铂电极浸入磷酸缓冲液中。10KV 下电进样 10-20s，将样品 D, L-色氨酸导入毛细管中，然后将进样端换成 pH=2.2 的磷酸缓冲溶液，在 10KV 的高电压下进行毛细管电泳。所有操作均在室温下进行。电泳运行缓冲液及样品均经过 0.45μm 滤膜 (Cole-Palmer Instrument Company, USA) 过滤。

模式滤光信号被 CCD 检测，用计算机记录并处理。

## 8.3 结果与讨论

### 8.3.1 Sol-gel 涂层表面形貌的 AFM 表征

为了考察 sol-gel 包埋 BSA 手性固定相涂层的表面形貌特征，我们以载玻片作基质，用 AFM 对 sol-gel 涂层的载玻片表面的形貌进行了表征。图 8-3 是未经修饰

的空白载玻片基质 (A) 和经 sol-gel 涂层的载玻片基质 (B) 的表面形貌图。从图中可以很清楚地看出, 空白和修饰玻片的表面有着明显的差异, 玻片经 sol-gel 修饰后表面的粗糙程度增加。

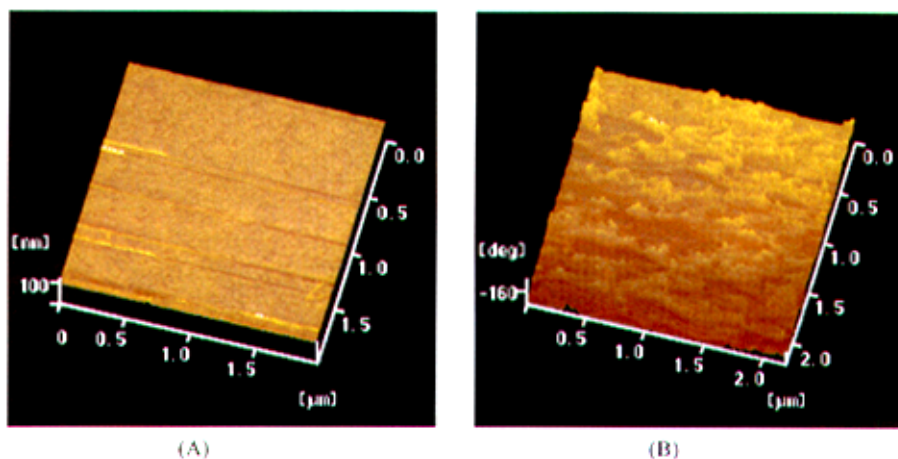
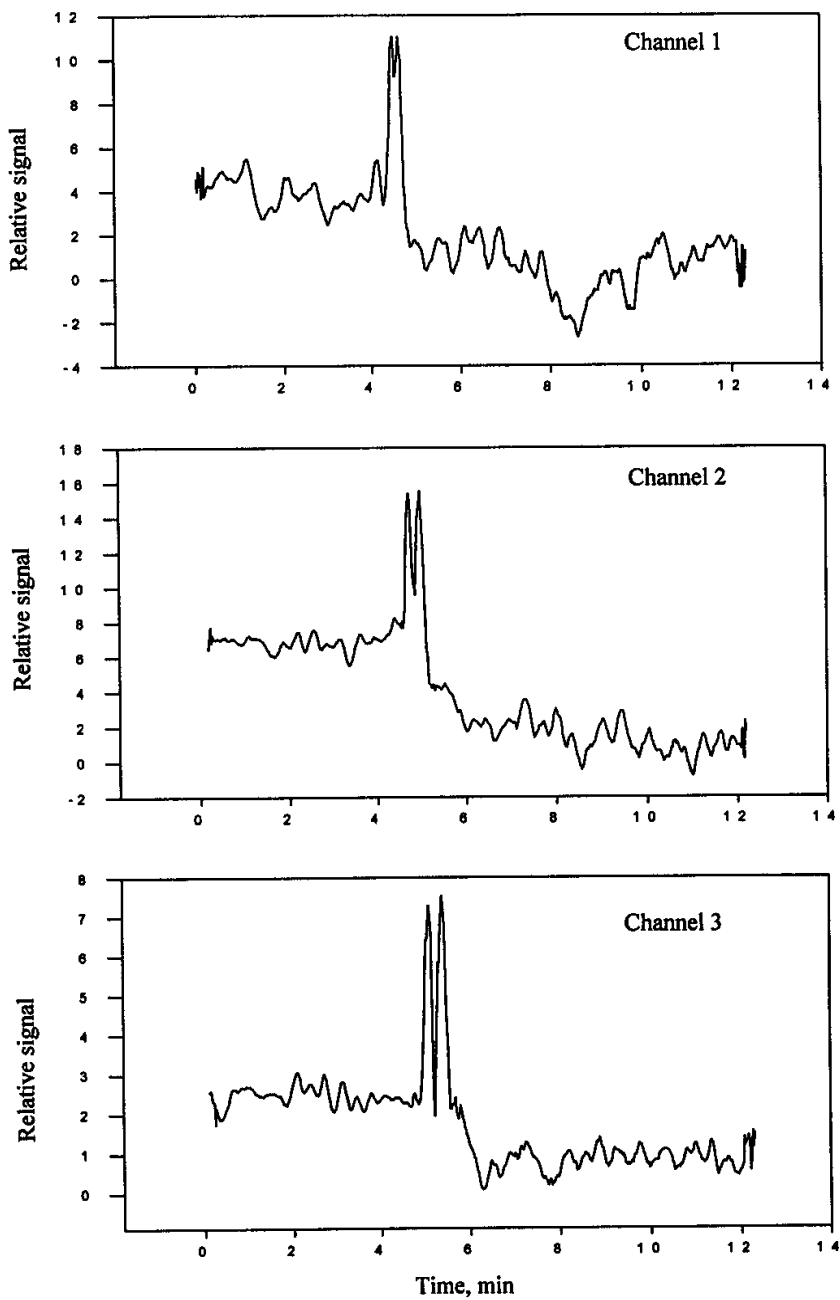


Fig.8-3 AFM images of conformational aspects on the surfaces of (A) blank slide substrate and (B) sol-gel modified slide substrate.

### 8.3.2 影响因素和条件优化

我们首先采用无涂层修饰的大管径毛细管/光纤环状柱传感元件进行了模式滤光 CE 的前期研究。图 8-4 是三个检测通道获得的甘氨酸和丙氨酸混合体系的实时分离检测的模式滤光信号。从通道 1 至通道 3, 样品组分的分离度逐渐增大, 体系获得了较好的实时选择性响应。

但是, 从图中也可以看出, 我们所构造的无涂层大管径环状柱传感元件在信号的获取和基线噪声上需要作进一步的研究和改进。在毛细管电泳中, 自热是影响分离效率的关键问题, 对基于模式滤光信号也有不利的影 响。对于自热产生的径向上距管中心  $r$  处的温度差  $\Delta T$ , 可表示为<sup>[232]</sup>:



**Fig.8-4** Mode-filtered light CE with unmodified sensing element of 530 $\mu\text{m}$  i.d. capillary/400 $\mu\text{m}$  fiber optic annular column for separation of glycine and alanine.



$$\Delta T = \frac{Q_w r^2}{2} \left[ \frac{1}{2k_1} + \frac{1}{k_2} \ln \frac{r_2}{r_1} + \frac{1}{k_3} \ln \frac{r_3}{r_2} + \frac{1}{q_w r_3} \right] \quad (8-1)$$

式中,  $k$  为热传导系数,  $q_w$  为热流速率, 下标 1、2、3 表示石英管内壁、外壁和聚亚酰胺(毛细管外壁涂层)外表,  $Q_w$  为单位体积电功率。因此, 管中心与管内壁的最大温差为:

$$\Delta T_{\max} = \frac{Q_w r^2}{4k_1} \quad (8-2)$$

这表明, 毛细管管径越大, 从管中心到管内壁的温度梯度越大, 其自热现象越严重。对于光纤/毛细管环状柱传感元件而言, 缓冲液的温度梯度是从光纤表面到毛细管内壁间的温度差, 因此, 环状柱电泳的自热现象要明显好于同样管径的毛细管电泳。但同时, 用更小管径的毛细管构造的环状柱传感元件, 其自热现象也会得到更好的抑制。从理论分析我们很好理解, 图 8-4 的基线噪声在很大程度上是由于大管径环状柱电泳的自热造成的。

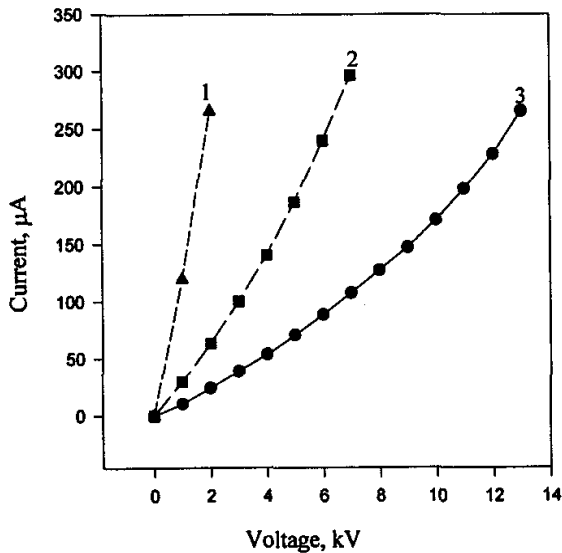


Fig.8-5 Working curves of the current versus the voltage in three different dimensional annular column sensing elements. Capillary/fiber optic: 1. 530 $\mu$ m/200 $\mu$ m; 2. 320 $\mu$ m/200 $\mu$ m; 3. 250 $\mu$ m/200 $\mu$ m.

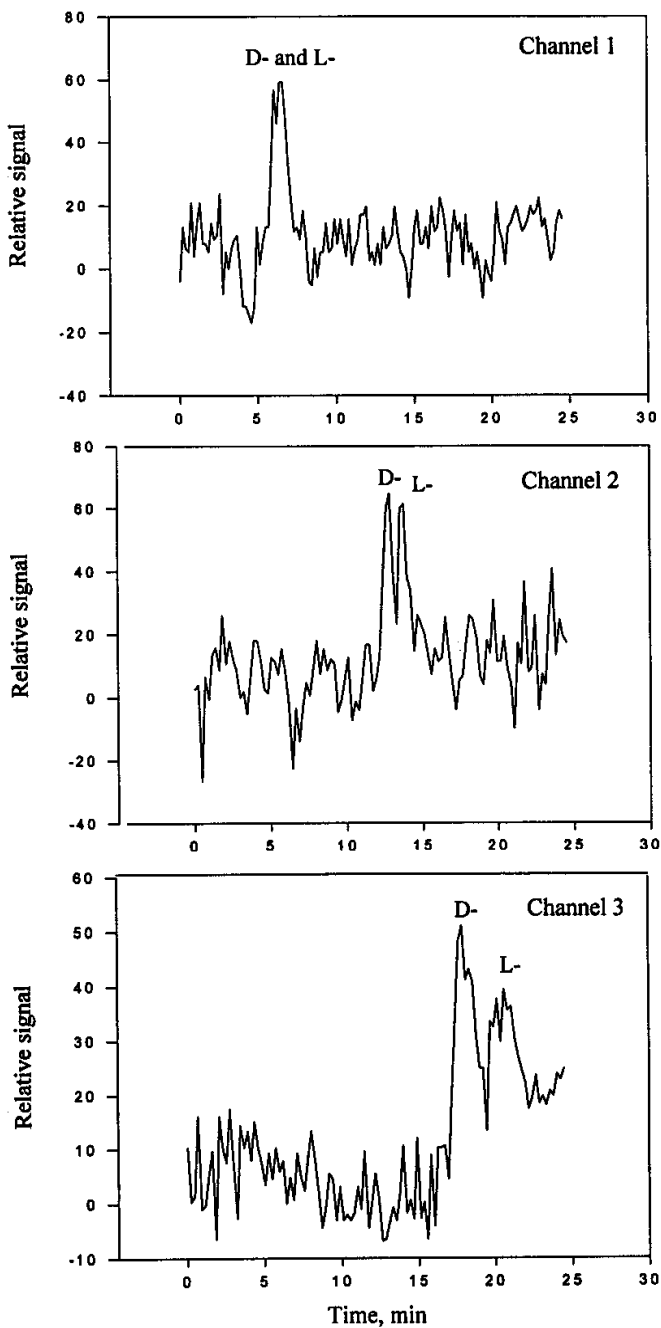


Fig.8-6 Mode-filtered light CE for chiral separation of D, L-tryptophan with 320 $\mu$ m/200 $\mu$ m capillary/fiber optic annular column sensing element.

我们考察了不同管径的毛细管环状柱传感元件的电泳工作环境。理论和实践均表明,效率与电压间存在极大值,极大电压通常也是最佳工作电压。虽然利用理论效率方程,通过求极值的方法可以确定极大电压,但是通过实验测定来确定工作电压则非常简单。通常的做法是,在电泳条件下,改变电压测定对应的电流,做电压—电流曲线,然后取线性关系中的最大电压作为分离电压。线性以上的电压,自热效应过大,一般不宜选用。图 8-5 是 3 种不同管径的环状柱毛细管电泳的工作电压与电流曲线图。3 种不同管径的环状柱传感元件均作了 sol-gel 包埋 BSA 的涂层修饰,所用光纤为 200 $\mu\text{m}$  直径。图 8-5 表明,在 530 $\mu\text{m}$ 、320 $\mu\text{m}$  和 250 $\mu\text{m}$  的环状柱毛细管电泳中,管径 250 $\mu\text{m}$  的环状柱传感元件可以获得最好的电泳工作条件,电压取 10kV 时,电流为 170 $\mu\text{A}$ ;而前两者可选取的工作电压过低,电流则过大,导致分析时间增长,基线噪声增大。可见,从我们的实验结果上看,大管径环状柱传感元件对于获得高的分离效率和降低自热效应也是十分不利的。

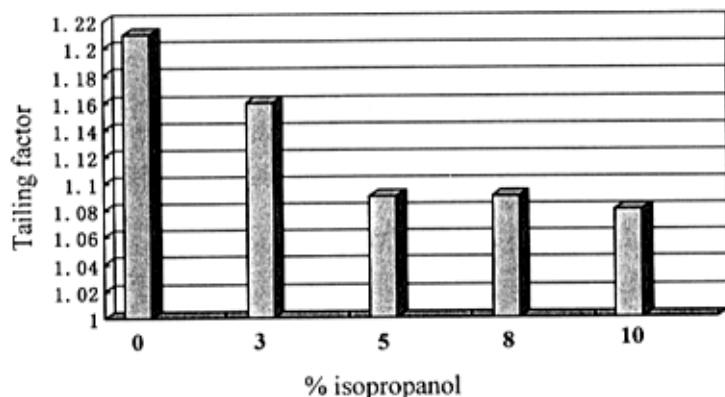
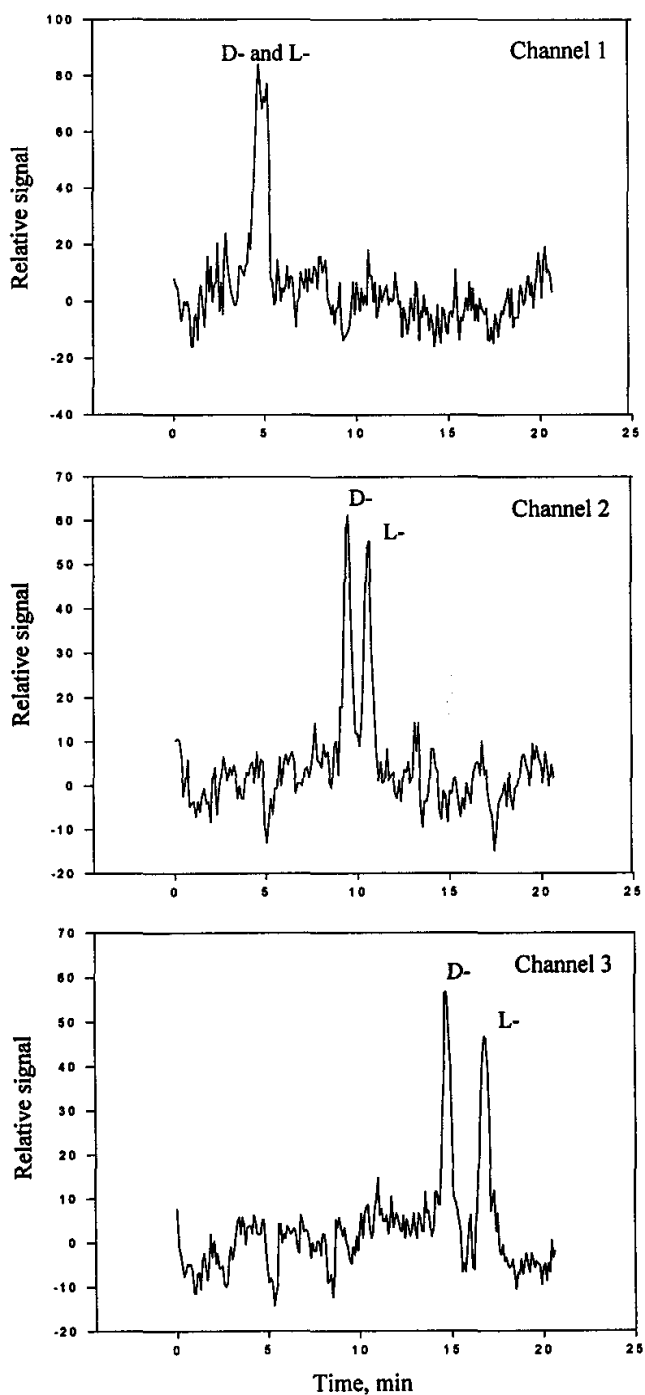


Fig.8-7 Effect of the isopropanol content in the buffers on the tailing factor.



**Fig.8-8** Mode-filtered light CE for chiral separation of D, L-tryptophan with 250 $\mu$ m/200 $\mu$ m capillary/fiber optic annular column sensing element.

这一点通过 3 种不同管径的环状柱传感元件对同一分析对象的不同响应结果还可以得到确证。图 8-6 是以 320 $\mu\text{m}$  毛细管/200 $\mu\text{m}$  光纤环状柱电泳为例所获得的三通道模式滤光信号，分析对象为混旋色氨酸。图中可见，体系的基线噪声很大，可检测信号的灵敏度不高。当我们使用 530 $\mu\text{m}$  的环状柱传感元件时，获得的结果则较图 8-6 更差。在我们后面的工作中，我们选用 250 $\mu\text{m}$  毛细管/200 $\mu\text{m}$  光纤的环状柱传感元件，运行电压为 10kV，所获结果明显优于图 8-6，这一结果见图 8-8 所示。

我们已经很清楚地知道，对光纤表面和毛细管内壁进行修饰或改性，对获得理想的分离效果和提高模式滤光信号的可检测性具有十分重要的意义。未经处理的玻璃表面会存在活性基团，与样品组分相互作用，导致峰浓度下降，基线噪声增加。从图 8-4 的实验中反映出这一结果。

我们采用 sol-gel 包埋 BSA 手性固定相开展了模式滤光毛细管电色谱的研究工作。有研究表明<sup>[233]</sup>，在缓冲溶液中加入异丙醇作为修饰剂可有效改善峰形，使峰形的拖尾现象得到抑制。我们考察了不同浓度的异丙醇对峰形的影响。拖尾因子是反映峰形对称性好坏的一个参数，拖尾因子约为 1 时表明峰形对称性好，无拖尾现象。从图 8-7 中看出，异丙醇浓度为 5% 时，峰形可获得较好地改善，增大异丙醇浓度，拖尾因子变化不明显。

图 8-8 是缓冲液中添加 5% 异丙醇时毛细管电泳的三通道实时响应信号，使用 250 $\mu\text{m}$  毛细管/200 $\mu\text{m}$  光纤的环状柱传感元件。与图 8-6 相比，所获结果得到明显改善，我们较好地实现了对混旋色氨酸的手性拆分，并在对 L-色氨酸和 D-色氨酸的实时选择性响应上获得了理想的灵敏度。

## 8.4 结论

多通道模式滤光毛细管电泳是以光纤模式滤光色谱传感体系为基础，结合毛细管电泳技术发展起来的一种全新分析仪器。我们已对模式滤光毛细管电泳仪申请了专利。毛细管电泳是一种高效的分离手段，模式滤光检测具有多通道、实时、同步等优良特性，二者的有机结合赋予了该仪器更多功能。利用多通道模式滤光毛细

管电泳，我们可以在生物领域开展手性拆分以及各类生物大分子如氨基酸、DNA、蛋白质、糖类等物质的分离及相互作用的机理研究。在以后的工作中，可望结合生物纳米颗粒、分子信标、纳米级分子印记等技术开展更深入的研究，并结合激光诱导荧光（LIF）或化学发光等多种检测方法进一步开发该仪器获取多维信息的功能。

## 结束语

化学与生物传感技术目前正呈现两大发展趋势：一是发展多参数、多功能甚至智能化的传感器，二是发展微型化的、纳米尺寸上的传感探针。在现阶段，将单参数化学与生物传感器发展为多参数、多功能化学与生物传感器是一条现实可行的重要思路，目的在于不增加阵列规模，甚至在单个传感探头的情况下，能够显著提高体系化学信息的获取量。光化学传感器以其光学信号表达的丰富多样性而在这方面具有独特的优势，各种光学信号表达均可在同一光学波导中实现，这使得在单个光极上同时获得多个光学信号成为可能。

在光纤化学传感器中，开发光纤包层的色谱分离性能，实现具有同步分离分析功能的色谱传感是一种新颖、独特的构思，在这样的传感体系中，在对分析对象完成了色谱分离的同时也获得了高灵敏的实时光化学信号。因此基于光导纤维的色谱传感是光学式化学传感信号转换技术的一项重要发展。

光纤色谱传感采用的是一种基于折射率变化的模式滤光检测技术。作为一种通用检测技术，折射率检测已得到许多应用。在高效液相色谱（HPLC）和毛细管电泳（CE）分离技术中，将 RI 测量作为一种通用型检测一直受到人们的关注。研究者们一直在努力将 RI 检测发展成为一种能满足毛细管分离所需的具有相当灵敏度的通用型检测方法，实现毛细管在柱的直接监测。目前，RI 检测在毛细管分离应用中遇到的关键问题是如何在低至纳升的微体积范围内实现检测的微型化，而不牺牲检测的灵敏性能。

基于模式滤光检测的光纤/毛细管液相色谱传感技术的一个关键内容是在光纤表面进行色谱固定相的涂渍。选用合适的固定相涂渍材料制备具有良好的保留特性的开管柱是发展 OTLC 的关键技术，可以达到抑制样品吸附、改善分离、改变分离机制等目的。制管技术是毛细管色谱（包括电泳）中非常重要的内容，在这方面的研究有很大的发展潜力。在壁涂开管柱（WCOT）中，玻璃表面的化学性质对色谱行为有着显著的影响，其表现为色谱峰的拖尾，甚至出现被分离物质完全被吸附或分解。研究者们借助许多表面分析技术对玻璃表面特性的研究表明，毛细管柱壁的吸附和催化活性主要受玻璃表面的金属杂质和表面活

性基团的影响。若要制得高效、惰性的毛细管柱，形成一层薄而均匀的固定液膜是至关重要的。因此，在涂渍固定液之前必须对柱表面进行适当的预处理，以除去表面的活性中心，和改变表面特性提高对固定液的润湿性。为达此目的，通常采用两种途径对玻璃表面进行改性，一是表面粗糙化处理，二是表面去活。现在最常用的去活方法是表面硅烷化，它是消除表面羟基活性基团的最有效方法。

本论文从基于光纤模式滤光检测的机理入手，致力于研究一类新型的基于模式滤光色谱传感的光纤化学与生物传感器。模式滤光检测和传统的检测方式相比，检测器的位置由光纤末端改放在光纤侧面，获取光纤侧面产生的模式滤光信号，由于光纤侧面的背景光远较光纤末端的出射光背景小，因而较之检测光纤末端的出射光有高得多的信噪比和灵敏度。模式滤光检测为光学式化学与生物传感器获取光学信息发展了一条新的途径。

根据这种思想，我们研制出了基于通用和快速检测的裸光纤模式滤光传感装置、基于多组分同时选择性响应的修饰光纤模式滤光色谱传感装置以及模式滤光毛细管电泳装置。在以往的化学传感器中，一般较少涉及色谱内容，而在复杂的真实体系中，选择性就成为构造化学传感器的一个重要参数。多通道在柱同步分离分析光纤色谱传感器将色谱分离技术与化学传感技术结合起来，利用色谱分离技术实现传感器对混合体系中多组分的同时选择性响应，并利用电荷耦合器件（CCD）的多通道检测技术，巧妙地实现对多组分的同时分离和多通道信号的检测，从而为发展多通道和多功能光化学传感器提供了一条有益的思路。我们发展的固定相涂渍方法解决了色谱传感器中敏感膜的稳定性和使用寿命的问题，灵敏度和色谱峰形也得到了极大的改善。实现在柱同步分离分析的一个重要内容是通过多通道检测提取整段色谱过程中的实时、在柱信号，并通过对这些多通道信号进行解析，从而获取多元体系中分析物质的组成和浓度等化学信息，显著提高多组分混合物中分析组分测定的精度。本研究采用了多元校正的偏最小二乘方法对溴苯、甲苯混合物体系进行了定量分析，获得了满意的结果。利用模式滤光毛细管电泳装置开展了基于 sol-gel 包埋 BSA（牛血清白蛋白）手性固定相对混旋氨基酸进行手性拆分的研究。我们期望多通道模式滤光 CE 在生物分子和药物分子的手性拆分上、在研究生物大分子和药物分子之间相互作用的生物特征上，可以获得良好的应用。



## 致 谢

王柯敏教授是我的恩师。在攻读硕士和博士的求学生涯中，我时常为王老师的人格魅力所感染。导师学识渊博，学术思想极为活跃，在把握前沿领域上目光尤为敏锐，开创局面脚踏实地。导师治学态度非常严谨，对待学生极少“好言相待”，但对学生的关怀却在实处和深处。导师工作作风雷厉风行，不拘小节，从大处着手却又注重细节，这对学生而言是一种压力和鞭策，对待工作不敢敷衍塞责。导师具有一种诲人不倦的高尚师德，在每周一次的研究小组学术讨论会上，王老师时常将自己的所见所闻和读书心得认真地传授给大家，让学生增长见识，提高认识，努力培养高尚的人格。导师始终倡导一种团队精神、有始有终的人生态度和目光长远的发展目标，为了提高学生的科研境界，同学生交流《杨振宁文选》中对自己感触颇深的科研精神：对研究的目标有深刻的认识，对研究工作有极大的热忱，对研究的结果有极大的希望。所有这些，不论是导师的言传身教或是平时的潜移默化，对我今后的人生都将产生重要和深远的影响。

非常感谢师母霍希琴老师在我的学习生活中所给予的无微不至的关怀。忘不了多少个暑假霍老师送来的一百斤一百斤的大西瓜给酷暑的假期实验室带来的欢乐。

论文工作得到了师弟周征、左新兵以及本科生陈韵晴的积极协助，在此表示衷心的感谢。

论文的相关工作得到了分析化学的蒋健晖博士、计算机系的研究生张忆蔚同学的热情、真诚的帮助，在此表示诚挚的谢意。

感谢本实验室的黄杉生、李杜、羊小海、谭蔚泓、刘选明等老师的指导，感谢曹祉祥老师为实验工作提供了非常多的方便。

感谢本研究小组的所有博士研究生、硕士研究生，在平时的工作和生活中，大家互相勉励，互相讨论，共同解决实验中的困难。

论文期间还得到了化学生物传感与计量学国家重点实验室、化学化工学院以及生物技术研究院的各位老师和同学的热情无私的帮助，在此一并表示衷心

的感谢。

最后我要提及我的父母、妻子、亲人和各位好友，我的每一点进步，都在他们的殷切关注中，我的每一点困难，我都能感受到背后温暖的支持。我感怀他们，无力回报，他们却永远是我坚实的后盾。

周雷激

2002年6月

## 参考文献

- [1] I. Lundstrom, M. S. Shivaraman, C. M. Svensson, and I. Lundkvist, "A Hydrogen-Sensitive MOS Field-Effect Transistor", *Appl. Phys. Lett.*, 1975, 26, 55
- [2] I. Lundstrom, M. Armgarth, and L. Petersson, "Physics with Catalytic Metal Gate Chemical Sensors", *CRC Crit. Rev. Solid state Mater Sci.*, 1989, 15, 201-278
- [3] F. Enquist, M. Armgarth, and I. Lundstrom, "Behavior of Hydrogen in Palladium-Aluminum Metal-Oxide-Semiconductor Structures", *J. Appl. Phys.*, 1986, 60 (12), 4297-4299
- [4] K. Dobos, R. Strotman, and G. Zimmer, "Performance of Gas-Sensitive Pd-Gate Mosfets with SiO<sub>2</sub> and Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> Gate Insulators", *Sens. Actuators*, 1983, 4, 593-598
- [5] R. C. Hughes, W. K. Schubert, T. E. Zipperian, J. L. Rodriguez, and T. A. Plut, "Thin-Film Palladium and Silver Alloys and Layers for Metal-Insulator-Semiconductor Sensors", *J. Appl. Phys.*, 1987, 62 (3), 1074-1083
- [6] I. Lundstrom, A. Spetz, F. Winqvist, U. Ackelid, and H. Sundgren, "Catalytic Metals and Field-Effect Devices--a Useful Combination", *Sensors and Actuators*, B1, 1990, 15-20
- [7] U. Ackelid, M. Armgarth, A. Spetz, and I. Lundstrom, "Ethanol Sensitivity of Palladium-Gate Metal-Oxide-Semiconductor Structures", *IEEE Electron device Lett.*, EDL-7, 1986, 353-355
- [8] W. Gopel, "From Electronic to Bioelectronic Noses", *The 7th International Meeting on Chemical Sensors*, Beijing 1998, 9-11
- [9] A. D'Amico, and C. Di Natale, "Porphyrins: Candidates for Electrooptical Nose Development", *The 7th International Meeting on Chemical Sensors*, Beijing 1998, 15-16
- [10] M. Schweizer-Berberich, M. Frank, T. Hermle, H. Ulmer, J. Mitrovics, U. Weimar, and W. Gopel, "Quality Tests of Electronic Noses: The Influence of Sample Dilution and Sensor Drifts on the Pattern Recognition for Selected Case Studies", *The 7th International Meeting on Chemical Sensors*, Beijing 1998, 139-141
- [11] Y. Yang, P. Yang, and X. Wang. "Electronic Nose Based on SAWS Array and the Nose's Odor Identification", *The 7th International Meeting on Chemical Sensors*, Beijing 1998, 145-147

- [12] C. Di Natale, A. Macagnano, R. Paolesse, A. Mantini, and A. D'Amico, "Electronic Nose Approach to Human Skin Odour Analysis", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1998, 148-150
- [13] R. A. McGill, V. K. Nguyen, R. Chung, R. E. Shaffer, and D. Dilella, "The 'NRL-SAWRHINO': a Nose for Toxic Gases", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1988, 178-180
- [14] H. Ishida, T. Yamanaka, N. Kushida, T. Nakamoto, and T. Moriizumi. "Study of Real-Time Visualization of Gas/Odor Flow Image Using Gas Sensor Array", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1998, 196-198
- [15] H. Hong, C. H. Kwon, S. R. Kim, D. H. Yun, K. Lee, Y. K. Sung, "Portable Electronic Nose System with Gas Sensor Array and Artificial neural Network", The 7th International Meeting on Chemical Sensors Beijing 1998, 704-706
- [16] S. Schutz, M. J. Schoning, P. Schroth, B. Weissbecker, P. Kordos, H. Luth, H. E. Hummel, "An Insect-based BioFET as a Bioelectronic Nose", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1998, 314-316
- [17] Y. G. Vlasov, A. V. Legin, A. M. Rudnitskaya, A. D'Amico, and C. Di Natale. "《Electronic Tongue》 -New Analytical Tool for Liquid Analysis on the Basis of Non-Specific Sensors and Methods of Pattern Recognition", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1998, 229-231
- [18] A. V. Legin, A. M. Rudnitskaya, and Y. G. Vlasov, "Application of Electronic Tongue for Qualitative and Quantitative Analysis of Complex Liquid Media", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1998, 232-234
- [19] Yu. G. Vlasov, A. V. Legin, A. M. Rudnitskaya, L. B. Lvova, "Non-Specific Sensing Materials for 'Electronic Tongue' Cross-Sensitivity Evaluation", The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing 1998, 713-715
- [20] H. H. Zeng, K. M. Wang Chenglin Liu and Ruqin Yu, "A Reversible Optical Membrane for Picric Acid Based on the Fluorescence Quenching of Pyrene", *Talanta*, 1993, 40, 1569-1573
- [21] 曾恚恚, 王柯敏, 刘程林, 俞汝勤, "基于荧蒽荧光熄灭的苦味酸荧光敏感膜的研究", *化学学报*, 1994, 52 (2), 176-180
- [22] K. Wang, H. Zeng, Z. Qin and R. Yu, "Design of a Sulfur Dioxide-Selective Optode

- Membrane Based on the Fluorescence Quenching of Anthracene”, Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng., 1992, 1716-54
- [23] 曾恚恚, 王柯敏, 秦臻, 俞汝勤, “基于荧光熄灭的二氧化硫选择性光化学敏感膜的研究”, 高等学校化学学报, 1993, 14 (2), 180-183
- [24] 曾恚恚, 王柯敏, 田利, 俞汝勤, “基于芘的荧光熄灭的单质碘荧光敏感膜的研究”, 分析化学, 1994, 22 (1), 10-14
- [25] 曾恚恚, 王柯敏, 田利, 俞汝勤, “单质碘荧光化学传感器的研制”, 化学传感器, 1993, 13, 25-29
- [26] O. S. Wolfbeis Ed., “Fiber Optic Chemical Sensors and Biosensors”, CRC Press, Boca Raton, 1991
- [27] O. S. Wolfbeis, H. E. Posch, and H. Kroneis, “Fiber Optic Fluorosensor for Determination of Halothane and/or Oxygen”, Anal. Chem., 1985, 57, 2556-2561
- [28] A. Sharma, and O. S. Wolfbeis, “The Quenching of the Fluorescence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Rhodamin 6G by Sulphur Dioxide”, Spectrochim Acta, 1987, 43A, 1417-1421
- [29] O. S. Wolfbeis, and A. Sharma, “Fibre-optic Fluorosensor for Sulphur Dioxide”, Anal. Chim. Acta, 1988, 208, 53-58
- [30] E. Urbano, H. offenbacher, and O. S. Wolfbeis, “Optical Sensor for Continuous Determination of Halides”, Anal. Chem, 1984, 56, 427-429
- [31] H. E. Posch, and O. S. Wolfbeis, “Optical Sensors, 13: Fibre-Optic Humidity Sensor Based on Fluorescence Quenching”, Sens. Actuators, 1988, 15, 77-83
- [32] R. I. Cukier, “On the Quencher Concentration Dependence of Fluorescence Quenching: the Role of Solution Dielectric Constant and Ionic Strength”, J. Am. Chem. Soc., 1985, 107, 4115-4117
- [33] K. Suzuki, K. Tohda, Y. Tanda, et al., “Fiber-Optic Magnesium and Calcium-Ion Sensor Based on a Natural Carboxylic Polyether Antibiotic”, Anal. Chem., 1989, 61(4), 382-384
- [34] F. V. Bright, G. E. Poirier, and G. M. Hieftje “A New Ion Sensor Based on Fiber Optics”, Talanta, 1988, 35, 113-118
- [35] K. Fuwa, W. Lei, K. Fujiwara, “Colorimetry With a Total-Reflection Long Capillary

- Cell”, *Anal. Chem.*, 1984, 56 (9), 1640-1644
- [36] K. Fujiwara, K. Fuwa, “Liquid Core Optical Fiber Total Reflection Cell as a Colorimetric Detector for Flow-Injection Analysis”, *Anal. Chem.*, 1985, 57 (6), 1012-1016
- [37] K Wang, K Seiler, J. P. Haug, et al., “Hydration of Trifluoroacetophenones as the Basis for an Optical Humidity Sensor”, *Anal. Chem.*, 1991, 63 (10), 970-974
- [38] 霍希琴, 王柯敏, “锂离子选择性光电二极管传感装置的研究及在血清分析中的应用”, *高等学校化学学报*, 1993, 14, 931-934
- [39] J. I. Peterson, S. R. Goldstein, R. V. Fitzgerald and D. K. Buckhold, “Fiber Optic pH Probe for Physiological Use”, *Anal. Chem.*, 1980, 52, 864-869
- [40] J. S. Suidan, B. K. Young, “pH Measurement with a Fiber-Optic Tissue-pH Monitor and a Standard Blood-pH Meter”, *Clin. Chem.*, 1983, 29 (8), 1566-1566
- [41] M. Bacci., F. Baldini, and A. M. Scheggi, “Spectrophotometric Investigations on Immobilized Acid-Base Indicators”, *Anal. Chim. Acta*, 1988, 207, 343-348
- [42] G. F. Kirkbright, R. Narayanaswamy, and N. A. Welti, “Fibre-Optic pH Probe Based on the Use of an Immobilised Colorimetric Indicator”, *Analyst*, 1984, 109, 1025-1028
- [43] K. Wang, K. Seiler, B. Rusterholz, et al., “Characterization of an Optode Membrane for Zinc(II) Incorporating a Lipophilized Analog of the Dye 4-(2-Pyridylazo)Resorcinol”, *Analyst*, 1992, 117 (1), 57-60
- [44] L. J. Blum, S. M. Gautier, and P. R. Coulet, “Design of Luminescence Photobiosensors”, *J. Biolumin. Chemilumin.*, 1989, 4 (1), 543-550
- [45] L. J. Blum, S. M. Gautier, and P. R. Coulet, “Highly Stable Bioluminescence-Based Fiber-Optic Sensor Using Immobilized Enzymes From *Vibrio-Harveyi*”, *Anal Lett* 1989, 22(10), 2211-2222
- [46] M. Aizawa, “Biosensor Technology: Fundamentals and Applications”, R. P. Buck et al., Ed., Marcel Dekker, New York, 1990, 209
- [47] W. Jin, and C. Liu, “Luminescence rule of polycyclic aromatic hydrocarbons in the micelle stabilized room temperature phosphorescence”, *Analytical chemistry*, 1993, 65, 863-865
- [48] W. Jin, Y. Wei, W. Duan, C. Liu, and S. Zhang, “Study on naphthalene and

- phenanthrene by microemulsion room temperature phosphorimetry”, *Analytica chimica acta*, 1994, 287, 95-100
- [49] H. G. Noeller, US Patent, 4451149, 1984
- [50] S. Hameau, M. Jouan, N. Q. Dao, “Application of the Raman-Laser Fiber Optics to the Remote Insitu Quantitative-Analysis of a Solid Drug”, *Analisis*, 1988, 16 (3), 173-178
- [51] B. Bonaventure, M. Lucas, “Characteristic of a Raman Fiber Optics System Coupled to Capillary Glass Tubes for Liquids”, *Analisis*, 1989, 17 (4), 185-187
- [52] S. M. Angel, and M. L. Myrick, “Normal and Surface-Enhanced Raman Scattering Using Optical Fibers”, *Proceedings of SPIE OE/Fibers '89 Symposium*, 1989, 1172, 38
- [53] J. M. Bello, D. L. Stokes, T. Vodinh, “Titanium-Dioxide Based Substrate for Optical Monitors in Surface-Enhanced Raman-Scattering Analysis”, *Anal. Chem.*, 1989, 61 (15), 1779-1783
- [54] M. Seifert, K. Tiefenthaler, K. Heuberger, “An Integrated Optical Biosensor (IOBS)”, *Anal. Lett.*, 1986, 19 (1-2), 205-216
- [55] W. Lukosz, and K. Tiefenthaler, “Sensitivity of Integrated Optical Grating and Prism Couplers as (Bio)Chemical Sensors”, *Sens. Actuators*, 1988, 15, 273-284
- [56] Ph. M. Nellen, K. Tiefenthaler and W. Lukosz, “Integrated Optical Input Grating Couplers as Biochemical Sensors”, *Sens. Actuators*, 1988, 15, 285-295
- [57] B. Krattiger, G. J. M. Bruin, and A. E. Bruno, “Hologram-Based Refractive Index Detector for Capillary Electrophoresis: Separation of Metal Ions”, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 1-8
- [58] F. Maystre, A. E. Bruno, C. Kühner, and H. M. Widmer, “Enhanced Polarimetric Detection in HPLC Using a Refractive Index Equalizer”, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 2882-2887
- [59] K. Swinney, D. Markov, and D. J. Bornhop, “Chip-Scale Universal Detection Based on Backscatter Interferometry”, *Anal. Chem.*, 2000, 72, 2690-2695
- [60] F. K. Kawahara, R. A. Fiutem, H. S. Silvus, F. M. Newman and J. H. Frazar, “Development of a Novel Method for Monitoring Oils in Water”, *Anal. Chim. Acta*, 1983, 151, 315-327

- [61] R. G. Brown, "Laser Fiber Optics in Biotechnology", *Trends Biotechnol.*, 1985, 3(8), 200-203
- [62] K. O. Hill, Y. Fuji, D. C. Johnson, and B S Kawasaki, "Photosensitivity of Optical Fibre Waveguides: Applications to Reflection Filter Fabrication", *Appl. Phys. Lett.*, 1978, 32, 647-649
- [63] M. A. Butler, "Optical Fiber Hydrogen Sensor", *Appl. Phys. Lett.*, 1984, 45 (10), 1007-1009
- [64] F. Farahi, P. A. Leilabady, J. D. C. Jones, "Interferometric Fiberoptic Hydrogen Sensor", *J. Phys. E. Sci. Instrum.*, 1987, 20 (4), 432-434
- [65] F. Farahi, P. A. Leilabady, J. D. C. Jones, "Optical-Fiber Flammable-Gas Sensor", *J Phys E Sci Instrum*, 1987, 20 (4): 435-436
- [66] L. Foulloy, and G. Mauns, "In Ultrasonic Fuzzy Sensor", *Proc. Int. Conf. Robot vision and Sensory Controls.*, , 161-170, Zurich, Switzerland, 1988
- [67] D. Stipanicer, and M. Cecic, "Eye-Hand Coordination Based on Fuzzy Vision Transducer", 1992 IEEE Int. Conf. on Fuzzy Systems., 1992, 29-35
- [68] J. Han, W. Hong, and S. Zhou, *Proc. of Int. Conf. on Electrical Measurement and Instrumentation*, 上海, 1995
- [69] R. J. Jackman, D. C. Duffy, E. Ostuni, N. D. Willmore, and G. M. Whitesides, "Fabricating Large Arrays of Microwells with Arbitrary Dimensions and Filling Them Using Discontinuous Dewetting", *Anal. Chem.* 1998, 70, 2280-2287
- [70] R. J. Jackman, S. T. Brittain, A. Adams, M. G. Prentiss, and G. M. Whitesides, "Design and Fabrication of Topologically Complex, Three-Dimensional Microstructures", *Science* 1998, 280, 2089-2091
- [71] Y. Xia, N. Venkateswaran, D. Qin, J. Tien, and G. M. Whitesides, "Use of Electroless Silver as the Substrate in Microcontact Printing of Alkanethiols, and Its Application in Microfabrication", *Langmuir* 1998, 14, 363-371
- [72] X. Zhao, Y. Xia, O. Schueller, D. Qin, and G. M. Whitesides, "Fabrication of Microstructures Using Shrinkable Polystyrene Films", *Sensors and Actuators A: Physical* 1998, 65, 209-217
- [73] S. Takayama, E. Ostuni, P. LeDuc, K. Naruse, D. E. Ingber, and G. M. Whitesides, "Laminar Flows: Subcellular Positioning of Small Molecules", *Nature*, 2001, 411,



1016-1016

- [74] C. S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G. M. Whitesides, and D. E. Ingber, "Geometric Control of Cell Life and Death", *Science*, 1997, 276, 1425-1428
- [75] R. S. Kane, S. Takayama, E. Ostuni, D. E. Ingber, and G. M. Whitesides, "Patterning Proteins and Cells Using Soft Lithography", *Biomaterials*, 1999, 20, 2363-2376
- [76] K. M. A. Rahman, C. J. Durning, N. J. Turro, and D. A. Tomalia, "Adsorption of Poly(Amidoamine) Dendrimers on Gold", *Langmuir*, 2000, 16, 10154-10160
- [77] L. Balogh, A. de Leuze-Jallouli, P. Dvornic, Y. T. Kunugi, A. Blumstein, D. A. Tomalia, "Architectural Copolymers of PAMAM Dendrimers and Ionic Polyacetylenes", *Macromolecules*, 1999, 32 (4), 1036-1042
- [78] S. Uppuluri, S. E. Keinath, D. A. Tomalia, and P. R. Dvornic, "Rheology of Dendrimers. I. Newtonian Flow Behavior of Medium and Highly Concentrated Solutions of Polyamidoamine (PAMAM) Dendrimers in Ethylenediamine (EDA) Solvent", *Macromolecules*, 1998, 31 (14), 4498-4510
- [79] C. L. Jackson, H. D. Chanzy, F. P. Booy, B. J. Drake, D. A. Tomalia, B. J. Bauer, and E. J. Amis, "Visualization of Dendrimer Molecules by Transmission Electron Microscopy (TEM): Staining Methods and Cryo-TEM of Vitrified Solutions", *Macromolecules*, 1998, 31 (18), 6259-6265
- [80] W. A. Lyon, M. M. Fang, W. E. Haskins, and S. Nie, "A Dual-Beam Optical Microscope for Observation and Cleavage of Single DNA Molecules", *Anal. Chem.*, 1998, 70, 1743-1748
- [81] S. Nie, and S. R. Emory, "Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering", *Science*, 1997, 275, 1102-1106
- [82] W. A. Lyon, and S. Nie, "Confinement and Detection of Single Molecules in Submicrometer Channels", *Anal. Chem.*, 1997, 69, 3400-3405
- [83] S. R. Emory, and S. Nie, "Near-Field Surface-Enhanced Raman Spectroscopy on Single Silver Nanoparticles", *Anal. Chem.*, 1997, 69, 2631-2635
- [84] S. Nie, D. T. Chiu, and R. N. Zare, "Real-Time Detection of Single Molecules in Solution by Confocal Fluorescence Microscopy", *Anal. Chem.*, 1995, 67, 2849-2857

- [85] W. C. W. Chan, S. M. Nie, "Quantum-Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection," *Science*, 1998, 281, 2016-2018
- [86] W. A. Lyon, M. M. Fang, W. E. Haskins, S. M. Nie, "A Dual-Beam Optical Microscope for Observation and Cleavage of Single DNA-Molecules," *Anal. Chem.*, 1998, 70, 1743-1748
- [87] X. Liu, and W. Tan, "A Fiber Optic Evanescent Wave DNA Biosensor Based on Novel Molecular Beacons", *Anal. Chem.*, 1999, 71, 5054-5059
- [88] X. Fang, X. Liu, S. Schuster, and W. Tan, "Designing a Novel Molecular Beacon for Surface Immobilized DNA Hybridization Studies", *Journal of American Chemical Society*, 1999, 121, 2921-2922
- [89] W. Tan, Z. Shi, S. Smith, D. Birnbaum, and R. Kopelman, "Submicrometer Intracellular Chemical Optical Fiber Sensors", *Science*, 1992, 258, 778-781
- [90] R. Kopelman, and W. Tan, "Near-Field Optics: Imaging Single Molecules", *Science*, 1993, 262, 778-781
- [91] J. Li, K. Wang, D. Xiao, X. Yang, and X. He, "Protein Biosensor with a Reversible Response Based on Polyacrylamide Fluorescence Membrane", *Proceedings of 9<sup>th</sup> International Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis, Beijing*, 2001, C183-184
- [92] X. Fang, J. J. Li, J. Perlette, W. Tan, and K. Wang, "Molecular Beacons-Novel Fluorescent Probes", *Anal. Chem.*, 2000, 72, 747A-753A
- [93] J. Li, W. Tan, K. Wang, X. Yang, Z. Tang, and X. He, "Optical DNA Biosensor Based on Molecular Beacon Immobilized on Sol-Gel Membrane", *International Conference on Sensor Technology, Wuhan*, 2001, 27-30
- [94] S. Santra, K. Wang, R. Tapeç, and W. Tan, "Develop of Novel Dye-Doped Silica Nanoparticles for Biomarker Application", *J. Biomedical Optics*, 2001, 6(2), 160-166
- [95] S. Santra, P. Zhang, K. Wang, R. Tapeç, and W. Tan, "Conjugation of Biomolecules with Luminophore-Doped Silica Nanoparticles for Photo Stable Biomarkers," *Anal. Chem.*, 2001, 73, 4988-4993
- [96] 何晓晓, 王柯敏, 谭蔚泓, 肖丹, 李军, 羊小海, "基于生物荧光纳米颗粒的新型荧光标记方法及其在细胞识别中的应用", *科学通报*, 2001, 46, 1353-1356

- [97] 方肇伦, “微流控化学分析芯片与展望”, 《分析化学的成就与挑战》, 2000, 9-10
- [98] 章竹君, “生物芯片的分子识别与标记”, 《分析化学的成就与挑战》, 2000, 171-172
- [99] 林炳承, “后基因时代与毛细管电泳技术”, 《分析化学的成就与挑战》, 2000, 837-838
- [100] D. J. Harrison, K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser, and A. Manz, “Micromachining a Miniaturized Capillary Electrophoresis-Based Chemical Analysis System on a Chip”, *Science*, 1993, 261, 895-897
- [101] Z. Liang, N. Chiem, G. Ocvirk, T. Tang, K. Fluri, and D. J. Harrison, “Microfabrication of a Planar Absorbance and Fluorescence Cell for Integrated Capillary Electrophoresis Devices”, *Anal. Chem.*, 1996, 68, 1040-1046
- [102] Z. Li, X. Li, S. Petrovic, and D. J. Harrison, “Dual Sorption Model of Water Uptake in Polymer-Based Ion Selective Membranes: Experimental Water Concentration and Transport Parameters”, *Anal. Chem.*, 1996, 68, 1717-1725
- [103] N. Chiem, and D. J. Harrison, “Microchip-Based Capillary Electrophoresis for Immunoassays: Analysis of Monoclonal Antibodies and Theophylline”, *Anal. Chem.*, 1997, 69, 373-378
- [104] P. C. H. Li, and D. J. Harrison, “Transport, Manipulation, and Reaction of Biological Cells on-Chip Using Electrokinetic Effects”, *Anal. Chem.*, 1997, 69 (8), 1564-1568
- [105] F. Moussy, S. Jakeway, D. J. Harrison, and R. V. Rajotte, “In-Vitro and in-Vivo Performance and Lifetime of Perfluorinated Ionomer-Coated Glucose Sensors After High-Temperature Curing”, *Anal. Chem.*, 1994, 66 (22), 3882-3888
- [106] L. D. Hutt, D. P. Glavin, J. L. Bada, and R. A. Mathies, “Microfabricated Capillary Electrophoresis Amino Acid Chirality Analyzer for Extraterrestrial Exploration”, *Anal. Chem.*, 1999, 71 (18), 4000-4006
- [107] B. M. Paegel, L. D. Hutt, P. C. Simpson, and R. A. Mathies, “Turn Geometry for Minimizing Band Broadening in Microfabricated Capillary Electrophoresis Channels”, *Anal. Chem.*, 2000, 72 (14), 3030-3037
- [108] J. S. Soughayer, T. Krasieva, S. C. Jacobson, M. Ramsey, B. J. Tromberg, and N. L.

- Allbritton, "Characterization of Cellular Optoporation With Distance", *Anal. Chem.*, 2000, 72 (6), 1342-1347
- [109] F. Bianchi, R. Ferrigno, and H. H. Girault, "Finite Element Simulation of an Electroosmotic-Driven Flow Division at a T-Junction of Microscale Dimensions", *Anal. Chem.*, 2000, 72 (9), 1987-1993
- [110] J. Xu, X. He, Y. Zhou, L. Liu, and J. Cheng, "Research and Applications of Biochip Technologies" *Chinese Science Bulletin*, 2000, 45, 101-107
- [111] W. Xie, R. Yang, J. Xu, L. Zhang, W. Xing, and J. Cheng, Microchip-based capillary electrophoresis systems. In "Capillary Electrophoresis of Nucleic Acids", (eds.) K. R. Mitchelson, J. Cheng, *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Totowa, USA, 2001, 162, 67-83
- [112] K. R. Mitchelson, and J. Cheng, DNA fragment sizing by capillary electrophoresis with glycerol as an additive. In "Capillary Electrophoresis of Nucleic Acids", (eds.) K. R. Mitchelson, J. Cheng, *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Totowa, USA, 2001, 162, pp. 259-275
- [113] X. B. Wang, and J. Cheng, Electronic manipulation of cells on microchip-based devices. In "Biochip Technology" (eds.) J. Cheng, and L. J. Kricka, Harwood Academic Publishers, PA, USA, 2001, pp. 135-159
- [114] J. Cheng, L. Wu, P. Swanson, Y. Lai, and J. P. O'Connell, Microchip-based microlaboratory. In "Biochip Technology" (eds.) J. Cheng, and L. J. Kricka, Harwood Academic Publishers, PA, USA, 2001, pp. 269-289
- [115] J. Lichtenberg, A. Daridon, E. Verpoorte, N. F. de Rooij, "Combination of Sample Pre-Concentration and Capillary Electrophoresis on-Chip", *Micro Total Analysis Systems 2000: Proceedings of the  $\mu$ -TAS 2000 Symposium*, Enschede, NL, 2000, 307-310
- [116] R. E. Synovec, C. A. Bruckner, L. W. Burgess, M. D. Foster, "Chemical Sensing of in-Situ Extracted Organics by Direct Detection of Mode-Filtered Light", *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 1994, 2293, 167-177
- [117] R. E. Synovec, A. W. Sulya, L. W. Burgess, M. D. Foster, and C. A. Bruckner, "Fiber-Optic-Based Mode-Filtered Light Detection for Small-Volume Chemical Analysis", *Anal. Chem.*, 1995, 67, 473-481

- [118] C. A. Bruckner, and R. E. Synovec, "Gas Chromatographic Sensing on an Optical Fiber by Mode-Filtered Light Detection", *Talanta*, 1996, 43, 901-907
- [119] M. D. Foster, and R. E. Synovec, "Liquid Chromatographic Sensing in Water on a Thin-Clad Optical Fiber by Mode-Filtered Light Detection", *Anal. Chem.* 1996, 68, 1456-1463
- [120] K. Wang, and L. Zhou, "Optical Chemical Sensors Based on Mode-Filtered Light Detection", The 3rd International Symposium of Worldwide Chinese Scholar on *Anal. Chem.*, Hong Kong, 1999, 50
- [121] K. Wang, D. Xiao, Z. Zhou, L. Zhou, X. Yang, D. Li, "Multichannel Mode-Filtered Light Detection Based on an Optical Fiber for Small-Volume Chemical Analysis", *Anal. Chem.*, 2000, 72, 4282-4288
- [122] 王柯敏, 《光化学传感器原理与方法》, 湖南教育出版社, 长沙, 1995
- [123] Z. F. Ge, C. W. Brown, L. F. Sun, and S. C. Yang, "Fiberoptic pH Sensor-Based on Evanescent-Wave Absorption-Spectroscopy", *Anal. Chem.*, 1993, 65 (17), 2335-2338
- [124] N. Periasamy, "Evanescent Wave-Coupled Dye-Laser Emission in Optical Fibers", *Appl. Opt.*, 1982, 21 (15), 2693-2695
- [125] S. Barnard, and D. Walt, "Fiberoptic Organic Vapor Sensor", *Environ. Sci. Technol.*, 1991, 25 (7), 1301-1304
- [126] Z. Rosenzweig, and R. Kopelman, "Analytical Properties and Sensor Size Effects of a Micrometer-Sized Optical Fiber Glucose Biosensor", *Anal. Chem.*, 1996, 68 (8), 1408-1413
- [127] M. D. Degrandpre, and L. W. Burgess, "Long Path Fiber-Optic Sensor for Evanescent Field Absorbance Measurements", *Anal. Chem.*, 1988, 60 (23), 2582-2586
- [128] J. S. Lundgren, E. J. Bekos, R. Wang, and F. V. Bright, "Phase-Resolved Evanescent Wave Induced Fluorescence: an in Situ Tool for Studying Heterogeneous Interfaces", *Anal. Chem.*, 1994, 66, 2433-2440
- [129] L. Yang, and S. Saavedra, "Chemical Sensing Using Sol-Gel Derived Planar Waveguides and Indicator Phases", *Anal. Chem.*, 1995, 67, 1307-1314
- [130] T. Funatsu, Y. Harada, M. Tokunaga, K. Saito, and T. Yanagida, "Imaging of Single

- Fluorescent Molecules and Individual ATP Turnovers by Single Myosin Molecules in Aqueous Solution”, *Nature*, 1995, 374, 555-559
- [131] A. P. Abel, M. G. Weller, G. L. Duveneck, M. Ehrat, and H. M. Widmer, “Fiber-Optic Evanescent Wave Biosensor for the Detection of Oligonucleotides”, *Anal. Chem.*, 1996, 68, 2905-2912
- [132] X. Xu, and E. D. Yeung, “Long-Range Electrostatic Trapping of Single Protein Molecules at a Liquid/Solid Interface”, *Science*, 1998, 281, 1650-1653
- [133] X. Fang, and W. Tan, “Imaging Single Fluorescent Molecules at the Interface of an Optical Fiber Probe by Evanescent Wave Excitation”, *Anal. Chem.*, 1999, 71, 3101-3105
- [134] Y. L. Hoo, W. Jin, H. L. Ho, and D. N. Wang, “Evanescent Wave Gas Sensing Using Microstructure Fiber”, *Opt. Eng.*, 2001, accepted (appeared online October 22, 2001)
- [135] J. David, D. Shaw, and H. Tucker, “Design, Development, and Performance of a Fiber Optics Refractometer: Application to HPLC”, *Rev. Sci. Instrum.*, 1976, 47, 989-997
- [136] I. N. Ross, and A. Mbanu, “Optical Monitoring of Glucose-Concentration”, *Opt. Laser Technol.*, 1985, 17 (1), 31-35
- [137] E. Smela, and J. J. Santiago-Aviles, “A Versatile Twisted Optical Fiber Sensor”, *Sens. Actuators*, 1988, 13, 117-129
- [138] J. W. Attridge, K. D. Leaver, and J. R. Cozens, “Design of a Fiberoptic pH Sensor With Rapid Response”, *J. Phys. E: Sci. Instrum.*, 1987, 20 (5), 548-553
- [139] S. D. Woodruff, and E. S. Yeung, “Refractive Index and Absorption Detector for Liquid Chromatography based on Fabry-Perot Interferometry”, *Anal. Chem.*, 1982, 54, 1174-1178
- [140] G. Gauglitz, J. Krause-Bonte, H. Schlemmer, and A. Matthes, “Spectral Interference Refractometry by Diode-Array Spectrometry”, *Anal. Chem.*, 1988, 60 (23), 2609-2612
- [141] H. M. Yan, G. Krous, and G. Gauglitz, “Detection of Mixtures of Organic Pollutants in Water by Polymer Film Receptors in Fibre-Optical Sensors Based on Reflectometric Interference Spectrometry”, *Anal. Chim. Acta*, 1995, 312, 1-8

- [142] D. J. Bornhop, and N. J. Dovichi, "Simple Nanoliter Refractive-Index Detector", *Anal. Chem.*, 1986, 58 (2), 504-505
- [143] D. J. Bornhop, T. G. Nolan, and N. J. Dovichi, "Subnanoliter Laser-Based Refractive Index Detector for 0.25-mm I. Microbore Liquid Chromatography ; Reversed-Phase Separation of Nanogram Amounts of Sugars", *J. Chromatogr.*, 1987, 384, 181-187
- [144] A. E. Bruno, B. Krattiger, F. Maystre, and H. M. Widmer, "On-Column Laser-Based Refractive-Index Detector for Capillary Electrophoresis", *Anal. Chem.*, 1991, 63 (23), 2689-2697
- [145] 牟颖, 赵晓君, 王珍, 张寒琦, 金钦汉, "γ-干扰素 DNA 传感器组装过程的表面等离子体共振研究", *化学学报*, 2000, 58, 500-504
- [146] R. J. Heaton, A. W. Peterson, and R. M. Georgiadis, "Electrostatic Surface Plasmon Resonance: Direct Electric Field-Induced Hybridization and Denaturation in Monolayer Nucleic Acid Films and Label-Free Discrimination of Base Mismatches", *Biochemistry*, 2001, 98, 3701-3704
- [147] 王柯敏, 羊小海, 肖丹, 陈泽忠, 李道玉, 周征, "基于表面等离子体共振 (SPR) 的高灵敏乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 免疫传感器", 中国化学会 2000 年学术会议, 北京, 2000, 485-486
- [148] 羊小海, "基于荧光超分子识别体系和表面等离子体共振的化学和生物传感器", 湖南大学博士学位论文, 2000
- [149] J. Kameoka, and H. G. Craighead, "Nanofabricated Refractive Index Sensor Based on Photon Tunneling in Nanofluidic Channel", *Sens. Actuators B*, 2001, 3934, 1-6
- [150] M. Novotny, "Recent Advances in Microcolumn Liquid Chromatography", *Anal. Chem.*, 1988, 60, 500A-510A
- [151] D. Ishii, T. Tsuda, and T. Takeuchi, "Studies of Open-Tubular Micro-Capillary Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 1979, 185, 73-78
- [152] T. Tsuda, K. Tsuboi, and G. Nakagawa, "Open-Tubular Microcapillary Liquid Chromatography with 20- $\mu\text{m}$  I. Columns", *J. Chromatogr.*, 1981, 214, 283-290
- [153] K. Hibi, T. Tsuda, T. Takeuchi, T. Nakanishi, D. Ishii, "Studies of Open-Tubular Microcapillary Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 1979, 175, 105-111

- [154] T. Tsuda, K. Hibi, T. Nakanishi, T. Takeuchi, D. Ishii, "Studies of Open-Tubular Micro-Capillary Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 1978, 158, 227-232
- [155] D. Ishii, T. Takeuchi, "Open Tubular Capillary LC", *J. Chromatogr. Sci.* 1980, 18, 462-472
- [156] K. Tesařík, "Preparation of Glass Capillary Columns for Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 1980, 191, 25-30
- [157] K. Hibi, and D. Ishii, "Alumina and Support-Coated Open-Tubular Columns in Open-Tubular Micro-Capillary Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 1980, 189, 179-185
- [158] W. Jorgenson, and E. J. Guthrie, "Liquid Chromatography in Open-Tubular Columns: Theory of Column Optimization with Limited Pressure and Analysis Time, and Fabrication of Chemically Bonded Reversed-Phase Columns on Etched Borosilicate Glass Capillaries", *J. Chromatogr.*, 1983, 255, 335-348
- [159] J. C. Giddings, J. P. Chang, M. N. Myers, J. M. Davis, and K. D. Caldwell, "Capillary Liquid Chromatography in Field Flow Fractionation-Type Channels", *J. Chromatogr.*, 1983, 255, 359-379
- [160] S. Folestad, B. Josefsson, and M. Larsson, "Performance and Preparation of Immobilized Polysiloxane Stationary Phases in 5-55 $\mu$ m I. Open-Tubular Fused-Silica Columns for Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.*, 1987, 391, 347-372
- [161] X. Xi, and E. S. Yeung, "Axial-Beam on-Column Absorption Detection for Open Tubular Capillary Liquid Chromatography", *Anal. Chem.* 1990, 62, 1580-1585
- [162] G. Hulthe, M. A. Petersson, and E. Fogelqvist, "Coupling of Open Tubular Liquid Chromatography to Electrospray Mass Spectrometry with a Nanospray Interface", *Anal. Chem.*, 1999, 71, 2915-2921
- [163] Y. Guo, and L. A. Colón, "A Stationary Phase for Open Tubular Liquid Chromatography and Electrochromatography Using Sol-Gel Technology", *Anal. Chem.* 1995, 67, 2511-2516
- [164] P. T. Vallano, and V. T. Remcho, "Highly Selective Separations by Capillary Electrochromatography: Molecular Imprint Polymer Sorbents" *J. Chromatogr. A*, 2000, 887, 125-135
- [165] 赖家平, 何锡文, 郭洪声, 梁宏, "分子印迹技术的回顾、现状与展望", 分



- 析化学, 2001, 29, 836-844
- [166] Z. J. Tan, and V. T. Remcho, "Molecular Imprint Polymers as Highly Selective Stationary Phases for Open Tubular Liquid Chromatography and Capillary Electrochromatography", *Electrophoresis*, 1998, 19, 2055-2060
- [167] O. Brüggeman, R. Freitag, M. Whitcombe, E. Vulfson, "Comparison of Polymer Coatings of Capillaries for Capillary Electrophoresis with Respect to Their Applicability to Molecular Imprinting and Electrochromatography", *J. Chromatogr. A*, 1997, 781, 43-53
- [168] P. M. Epperson, R. D. Jalkian, and M. B. Denton, "Molecular Fluorescence Measurements with a Charge-Coupled Device Detector Patrick", *Anal. Chem.* 1989, 61, 282-285
- [169] K. L. Ratzlaff, "Linear Parameter Estimation in Rapid-Scan Spectrophotometry", *Anal. Chem.*, 1980, 52, 1415-1420
- [170] P. M. Epperson, and M. B. Denton, "Binning Spectral Images in a Charge-Coupled Device", *Anal. Chem.*, 1989, 61, 1513-1519
- [171] R. D. Jalkian, K. L. Ratzlaff, and M. B. Denton, "HPLC Determination of Transition Metal Ions by Chemiluminescence Detected with a Charge-Coupled Device", *Proc. SPIE*, 1989, 1055, 123
- [172] R. B. Bilhorn, and M. B. Denton, "Wide Dynamic Range Detection with a Charge Injection Device (CID) for Quantitative Plasma Emission Spectroscopy", *Appl. Spectrosc.*, 1990, 44, 1538-1546
- [173] T. W. Barnard, M. I. Crockett, J. C. Ivaldi, P. L. Lundberg, D. A. Yates, P. A. Levine, and D. J. Sauer, "Solid-State Detector for ICP-OES", *Anal. Chem.*, 1993, 65, 1231-1239
- [174] R. T. Packard, and R. L. McCreery, "High-Sensitivity Normal and Resonance Raman Spectroscopy: Applications to Transient Electrochemistry", *Anal. Chem.*, 1987, 59, 2631-2637
- [175] Y. Wang, and R.L. McCreery, "Evaluation of a Diode Laser/Charge Coupled Device Spectrometer for Near-Infrared Raman Spectroscopy", *Anal. Chem.*, 1989, 61, 2647-2651
- [176] P. M. Epperson, J. V. Sweedler, R. B. Bilhorn, G. R. Sims, and M. B. Denton, "Applications of Charge Transfer Device Detectors in Analytical Chemistry", *Anal.*

- Chem., 1988, 60, 327A-335A
- [177]I. Naday, S. Ross, E. Westbrook and M. Westbrook, "Characterization of CCD - Based Imaging X-Ray Detectors for Diffraction Experiments", Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., A, 1994, 347, 534-538
- [178]T. W. Gadella, T. M. Jovin, and R.M.Clegg, "Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM): Spatial Resolution of Microstructures on the Nanosecond Time Scale", Biophys. Chem., 1993, 48, 221-239
- [179]R. D. Jalkian, and M. B Denton, , "HPLC Determination of Polycyclic Aromatic Compounds by Fluorescence Detected with a Charge-Coupled Device", Proc. SPIE, 1989, 1054
- [180]J. V. Sweedler, J. B. Shear, H. A. Fishman, R. N. Zare, and R. H. Scheller, "Fluorescence Detection in Capillary Zone Electrophoresis Using a Charge-Coupled Device with Time-Delayed Integration", Anal. Chem., 1991, 63, 496-502
- [181]A. E. Karger, J.M. Harris, and R. F. Gesteland, "Multiwavelength Fluorescence Detection for DNA Sequencing Using Capillary Electrophoresis", Nucleic Acids Res., 1991, 19, 4955-4962
- [182]Y. Cheng, R.D. Piccard, and T. Vo-Dinh, "Charge-Coupled Device Fluorescence Detection for Capillary-Zone Electrophoresis (CCD-CZE)", Appl. Spectrosc., 1990, 44, 755-765
- [183]J. W. Finch, B.D. Musselman, G. R Sims and F. Kunihiro, Proceedings of the 43rd ASMS Conference, Atlanta, GA , 1995
- [184]曾甫泉, 《光纤理论与技术》, 西安交通大学出版社, 5 (1990)
- [185]刘德森等, 《光学纤维》, 科学出版社, 291 (1987)
- [186]M. Seifert, K. Tiefenthaler, K. Heuberger, W. Lukosz and K. Mosbach, "An Integrated Optical Biosensor (IOBS)", Anal. Lett., 1986, 19(1+2), 205-216
- [187]W. Lukosz, and K. Tiefenthaler, "Sensitivity of Integrated Optical Grating and Prism Couplers as (Bio)Chemical Sensors", Sens. Actuators, 1988, 15, 273-284
- [188]Ph. M. Nelleu, K. Tiefenthaler, and W. Lukosz., "Integrated Optical Input Grating Couplers as Biochemical Sensors", Sens. Actuators, 1988, 15, 285-295
- [189]K. Wang, L. Zhou, et al.. The 7th International Meeting on Chemical Sensors, Beijing (1998)

- [190]K. Wang, L. Zhou, "Optical Chemical Sensors Based on Mode-Filtered Light Detection", The 3rd International Symposium of Worldwide Chinese Scholar on Analytical Chemistry, Hong Kong, 1998, 50
- [191]王柯敏, 周雷激, 毛大军, 羊小海, "一种新的基于折射率变化的光纤化学传感器", 高等学校化学学报, 1999, 20 (7), 1047-1048
- [192]N. C. Jain and R. H. Cravey, "Analysis of Alcohol II. A Review of Gas Chromatographic Methods", *J. Chromatogr. Sci.*, 1972, 10, 263-267
- [193]R. K. Bonnicksen and H. Theorell, "An Enzymatic Method for the Microdetermination of Ethanol", *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1951, 3, 58-62
- [194]D. Jones, L. P. Gerber, and W. Drell, "A Rapid Enzymatic Method for Estimating Ethanol in Body Fluids", *Clin. Chem.*, 1970, 16, 402-407
- [195]H. Zeng, K. Wang, C. Liu, and R. Yu, "A Reversible Optical Membrane for Picric Acid Based on the Fluorescence Quenching of Pyrene", *Talanta*, 1993, 40, 1569-1573
- [196]李志东, 刘兰飞, 王柯敏, "测定乙醇的吸光型光化学传感器的研究", 化学传感器, 1997, 17(4), 300-304
- [197]K. Seiler, K. Wang, M. Kuratli, and W. Simon, "Development of an Ethanol-Selective Optode Membrane Based on a Reversible Chemical Recognition Process", *Anal. Chim. Acta*, 1991, 244, 151-160
- [198]K. Schäfer, "Analysis of Short Chain Fatty Acids from Different Intestinal Samples. I: By Packed Column Gas Chromatography", *Chromatographia*, 1994, 39, 706-712
- [199]M. Murase, Y. Kimura, and Y. Nagata, "Determination of Portal Short-Chain Fatty Acids in Rats Fed Various Dietary Fibers by Capillary Gas Chromatograph", *J. Chromatogr. B*, 1995, 664, 415-420
- [200]S. Paavilainen, T. Korpela, "Comparison of High-Performance Liquid and Gas Chromatography in the Determination of Organic Acids in Culture Media of Alkaliphilic Bacteria", *J. Chromatogr.*, 1993, 634, 273-280
- [201]L. Pan, M. Adams, and J. Pawliszyn, "Determination of Fatty Acids Using Solid Phase Microextraction", *Anal. Chem.*, 1995, 67, 4396-4403
- [202]J. Karovicova, J. Polonsky, M. Drdak, P. Simko, V. Vollek, "Capillary isotachopheresis of organic acids produced by selected microorganisms during lactic acid fermentation", *J. Chromatogr.*, 1993, 638, 241-246
- [203]C. Mongay, A. Pastor, and C. Olmos, "Determination of Carboxylic Acids and Inorganic Anions in Wines by Ion-Exchange Chromatography", *J. Chromatogr. A*, 1996, 736, 351-357
- [204]S. Lodi, and G. Rossin, "Determination of Some Organic Acids in Sugar Factory Products", *J. Chromatogr. A*, 1995, 706, 375-383
- [205]H. Zeng, K. Wang, C. Liu, and R. Yu, "A Reversible Optical Membrane for Picric

- Acid Based on the Fluorescence Quenching of Pyrene”, *Talanta*, 1993, 40, 1569-1573
- [206] H. Zeng, K. Wang, X. Yang, and R. Yu, “Fiber-optic sensor for the determination of carboxylic acid based on fluorescence enhancement of lipophilized fluorescein isologues”, *Anal. Chim. Acta*, 1994, 287, 267
- [207] 《食品化学分析》，上海商品检验局主编，上海科学技术出版社
- [208] K. Wang, L. Zhou, D. Mao, X. Yang, and K. Luo. “Preparation and Application of a Novel Chemical Sensor Based on Mode-Filtered Light Detection”, *Sensors & Actuators B: Chemical*, 2000, 66, 4-5
- [209] 魏文德, 《有机化工原料大全》(第二卷), 化学工业出版社, 1989
- [210] 杨桂法, 《有机化学分析》, 湖南大学出版社, 1989
- [211] R. E. Synovec, C. A. Bruckner, L. W. Burgess, M. D. Foster, “Chemical Sensing of in-Situ Extracted Organics by Direct Detection of Mode-Filtered Light”, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, 1994, 2293, 167-177
- [212] P. T. Vallano, and V. T. Remcho, “Highly Selective Separations by Capillary Electrochromatography: Molecular Imprint Polymer Sorbents” *J. Chromatogr. A*, 2000, 887, 125-135
- [213] L. Zhou, K. Wang, M.F. Choi, D. Li, D. Xiao, X. Yang, and W. Tan, “C<sub>18</sub> Modified Distributed Fiber Optic for Capillary liquid Chromatographic Sensing by Mode-filtered light Detection”, *Proceedings of International Ninth Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis: C. Spectroscopy*, Beijing, 2001, C185
- [214] M.J. Wirth, R.W.P. Fairbank, and H.O. Fatunmbi, “Mixed Self-Assembled Monolayers in Chemical Separations”, *Science*, 1997, 275, 44-47
- [215] R.A. Shalliker, B.S. Broyles, and G. Guiochon, “On-Column Visualization of Sample Migration in Liquid Chromatography”, *Anal. Chem.*, 2000, 72, 323-332
- [216] 俞汝勤, “化学计量学导论”, 湖南教育出版社, 长沙, 1991
- [217] 林炳承, 《毛细管电泳导论》, 科学出版社, 北京, 1996
- [218] B. Lin, X. Zhu, B. Koppenhoefer, and U. Epperlein, “Investigation of 123 Chiral Drugs by Cyclodextrin-Modified Capillary Electrophoresis”, *LC·GC*, 1997, 15, 40-46
- [219] B. Zhang H. Xue B. Lin, “Application of Capillary Zone Electrophoresis to the Study of Interactions between *Bacillus Subtilis* Tryptophanyl-tRNA Synthetase and

- tRNA<sup>Trp</sup>", *Chromatographia*, 1998, 48, 268-275
- [220] Y. Ding, X. Zhu, B. Lin, "Study of Interactions between Capillary Electrophoresis", *Electrophoresis*, 1999, 20, 1890-1894
- [221] X. Zhu, Y. Ding, B. Lin, A. Jakob, and B. Koppnhoefer, "Study of Enantioselective Interactions between Chiral Drugs and Serum Albumin by Capillary Electrophoresis", *Electrophoresis*, 1999, 20, 1869-1877
- [222] Z. Zhou, K. Wang, X. Yang, S. Huang, L. Zhou, D. Qin, and L. Du, "Synchronization of Separation and Determination Based on Multichannel Mode-Filtered Light Detection with Capillary Electrophoresis", *Analyst*, 2001, 126, 1838-1840
- [223] D. W. Armstrong, and S. M. Han, "Enantiomeric Separations in Chromatography", *CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1988, 19, 175-224
- [224] W. H. Pirkle, and T. C. Pochapsky, "Consideration of Chiral Recognition Relevant to the Liquidchromatographic Separation of Enantiomers", *Chem. Rev.*, 1989, 89, 347-362
- [225] V. T. Remcho, and Z. J. Tan, "MIPs as Chromatographic Stationary Phases for Molecular Recognition", *Anal. Chem.*, 1999, 71 (7):A248-A255
- [226] Q. Zhang, H. Zou, H. Wang, and J. Ni, "Synthesis of a Silica-Bonded Bovine Serum Albumin s-triazine Chiral Stationary Phase for High-Performance Liquid Chromatographic Resolution of Enantiomers", *J. chromatogr. A*, 2000, 866, 173-181
- [227] G. Gubitz, "Separation of Drug Enantiomers by HPLC Using Chiral Stationary Phases- A Selective Review", *Chromatographia*, 1990, 30, 555-564
- [228] O. Lev, M. Tsionsky, L. Rabinovich, V. Glezer, S. sampath, I. Pankratov, and J. Gun, "Organically Modified Sol-Gel Sensors", *Anal. Chem.*, 1995, 67, 22A-30A
- [229] B.C. Dave, B. Dunn, J.S. Valentine, and J.I. Zink, "Sol-Gel Encapsulation Methods for Biosensors", *Anal. Chem.*, 1994, 66, 1120A-1126A
- [230] S. L. Chong, D. Wang, J. D. Hayes, B. W. Wilhite, and A. Malik, "Sol-Gel Coating Technology for the Preparation of Solid-Phase Microextraction Fibers of Enhanced Thermal Stability", *Anal. Chem.*, 1997, 69, 3889 - 3898
- [231] D. J. Blyth, S. J. Poynter, and D. A. Russell, "Calcium biosensing with a sol-gel

immobilized photoprotein”, *Analyst*, 1996, 121, 1975-1978

[232]陈义,《毛细管电泳技术及应用》,化学工业出版社,北京,2000

[233]刘新宇,“高效毛细管电泳法拆分氧氟沙星对应体的研究”,*药学学报*,1998,  
33 (8), 600-604

## 作者部分相关论文题录

1. Kemin Wang, **Leiji Zhou**, Dajun Mao, Xiaohai Yang, and Kan Luo, "Preparation and Application of a Novel Chemical Sensor Based on Mode-Filtered Light Detection", *Sensors & Actuators B: Chemical*, 2000, 66, 4-5
2. **Leiji Zhou**, Kemin Wang, Dan Xiao, Xiaohai Yang, Rui Chen, and Weihong Tan, "Refractometric Fiber-Optic Mode-Filtered Light Chemical Sensor for Acetic Acid", *SPIE*: 2001, 4414, 342-345
3. 王柯敏, 周雷激, 毛大军, 羊小海, "一种新的基于折射率变化的光纤化学传感器", *高等学校化学学报*, 1999, 20 (7), 1047-1048
4. 王柯敏, 周雷激, 羊小海, 肖丹, 李惠敏, "光纤模式滤光化学传感器测定乙二醇", *Chemistry*, (The Chinese Chem. Soc., Taipei), 2000, 58, 9-14
5. **Leiji Zhou**, Kemin Wang, Xinbing Zuo, Martin M.F. Choi, and Yunqing Chen, "Multichannel Synchronous Separation and Assay Using  $C_{18}$  and  $C_1$  modified Fiber Optical Chromatographic Sensor", *Anal. Chem.* (submitted)
6. **Leiji Zhou**, Kemin Wang, Martin M.F. Choi, Xiaohai Yang, and Weihong Tan, "Fiber-Optic Mode-Filtered Light Sensor for General and Rapid Chemical Assay", *Anal. Chim. Acta* (submitted)
7. Kemin Wang, Dan Xiao, Zheng. Zhou, **Leiji Zhou**, Xiaohai Yang, and Du Li, "Multichannel Mode-Filtered Light Detection Based on an Optical Fiber for Small-Volume Chemical Analysis", *Anal. Chem.*, 2000, 72, 4282-4288
8. Zheng Zhou, Kemin Wang, Xiaohai Yang, Shansheng Huang, **Leiji Zhou**, Dilan Qin and Du Li, "Synchronization of separation and determination based on multi-channel mode-filtered light detection with capillary electrophoresis", *Analyst*, 2001, 126, 1838-1840
9. **Leiji Zhou**, Kemin Wang, Martin M. F. Choi, Du Li, Dan Xiao, Xiaohai Yang and Weihong Tan, " $C_{18}$  Modified Distributed Fiber Optic for Capillary liquid Chromatographic Sensing by Mode-filtered light Detection", *Proceedings of International Ninth Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis: C. Spectroscopy*, Beijing, 2001, C185
10. Kemin Wang, **Leiji Zhou**, "Optical Chemical Sensors Based on Mode-Filtered Light Detection", *The 3rd International Symposium of Worldwide Chinese Scholars on Analytical Chemistry*, Hong Kong, 1998, 50