

一种新型苯酚含量表面等离子共振光纤生物传感器

李林洋¹, 彭飞¹, 钟年丙^{1*}, 解泉华¹, 汤斌¹, 常海星², 钟登杰²

¹重庆理工大学光纤传感与光电检测重庆市重点实验室, 智能光纤感知技术重庆市高校工程研究中心, 重庆 400054;

²重庆理工大学化学化工学院, 重庆 400054

摘要 为了提高光纤苯酚含量传感器的灵敏度和选择性, 构建了一种新型苯酚含量表面等离子共振 (SPR) 光纤生物传感器。传感器主要由辣根过氧化物酶 (HRP) 修饰 SPR 光纤和苯酚选择透过性膜构成。首先在光纤表面聚合聚多巴胺 (PDA), 用于吸附纳米金成膜并激发 SPR 效应, 随后在金膜表面再次聚合聚多巴胺用于固定 HRP, 获得 HRP 修饰 SPR 光纤。 β -环糊精掺杂 PEBA2533 苯酚选择性聚合物膜固定在 HRP 修饰光纤表面。水体中苯酚分子自由通过聚合物膜后, 吸附在 HRP 表面, 在过氧化氢 (H_2O_2) 协助下被氧化生成难溶聚合物, 增大 HRP 膜的折射率, 促进传感器共振波长发生漂移, 提高其灵敏度。研究表明, 传感器对苯酚含量的测量具有高选择性和高灵敏度; 在传感器采样时间为 300 s 时, 灵敏度和检测下限分别达到 $224.84 \text{ pm} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{L}$ 和 159 nmol/L 。

关键词 传感器; 苯酚含量; 辣根过氧化物酶; 表面等离子共振效应; 聚合物膜; 光纤传感器; 选择性

中图分类号 TN253

文献标志码 A

DOI: 10.3788/AOS221648

1 引言

苯酚作为一种重要的化工原材料, 被广泛用于药物、染料、塑料等工业生产^[1]。然而, 苯酚也是环境地下水 and 地表水的重要污染物^[2-3]。为保护水质, 欧洲共同体允许废水中苯酚的最大质量浓度低于 1 mg/L ^[4]。因此, 研制用于选择性、准确测量水体中苯酚含量的在线传感器对保护水环境和人类健康都至关重要。

为了实现对水体中酚类化合物含量的在线测量, 电化学、光电化学和光纤传感器被广泛研究^[5-7]。其中光纤传感器具有远距离传输、耐酸碱腐蚀、抗电磁干扰、准分布式测量等优点^[8-9], 成为最有前途的在线检测酚类化合物含量的传感器之一^[10-12]。在光纤传感器中, 长周期光纤光栅 (LPFG) 生物传感器^[10-11]、光化学光纤传感器^[12]和光纤倏逝波传感器^[12]等已被开发用于检测苯酚、氯酚及其他酚类化合物。尤其是已报道的含催化氧化反应的光纤传感器, 传感器敏感区表面附着的光催化剂或酶与酚类化合物间发生反应生成的产物 [如儿茶酚 (折射率为 1.613)、邻醌 (折射率为 1.689) 和黑色素 (折射率为 1.771)^[13-14]] 的折射率高于酚类物质本身的折射率, 这会增加光纤传感器表面附着物的折射率^[7]。增加折射率会改变光纤传感器吸收

光谱的透射光强度或中心波长漂移量, 从而实现光纤传感器对酚类化合物的高灵敏度检测。

虽然光纤酚类含量传感器具有诸多优点, 但是 LPFG、光纤 Bragg 光栅、倾斜光栅等酚类传感器成本高、测量过程受温度影响^[12, 15-17]。光强解调型苯酚光纤传感器具有成本低、制作方便等优点, 但是传感器的传输光强变化是在光纤表面微弱倏逝波衰减作用下产生的, 传感器的灵敏度低。同时, 现有光纤传感器表面涂覆的光催化剂和氧化酶对苯酚的选择性催化或氧化性较低^[7, 11], 导致传感器对水体中苯酚含量的测量不具有选择性^[7, 12]。此外, 目前还未见辣根过氧化物酶 (HRP) 涂覆光纤苯酚含量传感器的报道。因此, 在现有研究基础上, 利用普通石英光纤进一步开发波长调制型高灵敏度、选择性测量苯酚含量的光纤传感器十分必要。

为了提高光纤传感器测量苯酚含量的灵敏度和选择性, 本文利用 HRP 涂覆表面等离子共振 (SPR) 石英光纤和苯酚选择透过性膜 (PPM), 构建了一种选择性测量苯酚含量的 SPR 光纤生物传感器。首先在光纤纤芯表面聚合聚多巴胺, 接着由聚多巴胺吸附金纳米颗粒并形成金膜, 然后在金膜表面聚合一层聚多巴胺用于固定 HRP, 从而获得 HRP 涂覆 SPR 光纤。为了

收稿日期: 2022-08-29; 修回日期: 2022-10-08; 录用日期: 2022-10-12; 网络首发日期: 2022-10-22

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (52176178, 51876018)、重庆市高校创新研究群体项目 (CXQT21035)、重庆市教委科学技术研究重大项目 (KJZD-M202201101)、重庆市研究生科研创新项目 (CYS22645)

通信作者: *zhongnianbing@163.com

实现苯酚含量的选择性测量,本文利用 β -环糊精和 PEBA2533 制备了苯酚选择透过性聚合物膜;利用聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)板构建了苯酚在线分析平台;分析了传感器检测苯酚含量的原理;采用扫描电子显微镜(SEM)及元素能谱(EDS)对样品表面形貌及元素进行了表征;实验研究了传感器制备条件对其性能的影响,测试了传感器输出光谱、灵敏度、响应时间、选择性及检测下限。

2 苯酚含量测量原理

HRP 涂覆 SPR 光纤传感器由纤芯、金膜、HRP 涂层和目标分析物 4 部分组成。当光束入射到纤芯与金膜界面且入射角 θ 大于临界角 θ_c 时,纤芯与金膜界面将产生倏逝波,其波矢量界面传播常数为

$$K_{ev} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_0} \sin \theta, \quad (1)$$

式中: ω 为入射光角频率; c 为光速; ϵ_0 为纤芯介电常数。同时,在金膜和 HRP 涂覆层界面处,金属表面的自由电子被激发,形成表面等离子体波,其传播常数为

$$K_{sp} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}}, \quad (2)$$

式中: ϵ_1 为金膜的介电常数; ϵ_2 为 HRP 涂覆层的介电常数。当倏逝波与表面等离子体波的传播常数相等($K_{ev} = K_{sp}$)时,将引发表面等离子体共振,发生共振现象,此时有

$$\sin \theta = f(\omega, \epsilon_0, \epsilon_1, \epsilon_2), \quad (3)$$

式中: f 为 $\omega, \epsilon_0, \epsilon_1, \epsilon_2$ 的复合函数。在 SPR 传感器(ϵ_0 和 ϵ_1 为常量)的实际应用中,可利用入射光的波长 λ 代替角频率 ω ,用 HRP 涂覆层的折射率 n 代替 ϵ_2 。因此,式(3)可以变形为

$$\sin \theta = f(\lambda, n, \epsilon_0, \epsilon_1). \quad (4)$$

当光束入射角一定时,金膜表面 HRP 涂覆层(周围环境介质)的折射率改变会使共振波长发生偏移,不同周围环境介质折射率下光纤 SPR 传感器的输出谱^[18]可表示为

$$R[d, n_0(\lambda), n_1(\lambda), n_2(\lambda)] = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M R_p[\theta_i, d, n_0(\lambda), n_1(\lambda), n_2(\lambda)]^{N(L, D, \varphi)} I(\theta_i), \quad (5)$$

式中: M 为光纤纤芯模式数; $N(L, D, \varphi) = L / (D \tan \varphi)$ 为光束在传感器敏感区中的反射次数,其中 L 为传感器探头长度, D 为光纤纤芯直径, φ 为光束由空气入射到光纤端面时的入射角; $I(\theta_i) = (18510 + 369.4\theta_i - 1071\theta_i^2 + 133\theta_i^3 - 4.754\theta_i^4) / 103760$ 为传播模式密度分布函数; d 为金膜厚度; θ_i 为光束在纤芯与包层界面的入射角; $n_0(\lambda)$ 为纤芯折射率; $n_1(\lambda)$ 为金膜折射率; $n_2(\lambda)$ 为 HRP 涂覆层折射率; R_p 为纤芯与金膜界面处 p 光反射一次的反射率^[18]。研究表明:当金膜周围环境

介质折射率发生微小改变时,传感器 SPR 损耗峰对应波长(共振波长)的位置将发生漂移;且随着环境折射率的增大,SPR 共振波长红移量增大。当外界环境待测液体的折射率变化为 Δn ,共振波长相应地改变 $\Delta \lambda$;此外,对于苯酚溶液,其折射率 n 与质量浓度 C_1 间具有线性关系,即 $n = AC_1 + B$ (A 和 B 为常数)。因此,传感器灵敏度 S_λ 可表示为

$$S_\lambda = \left| \frac{\Delta \lambda}{\lambda} \cdot \frac{n}{\Delta n} \right| = \left| \frac{\Delta \lambda}{\lambda} \cdot \frac{C_1}{\Delta C_1} \right|, \quad (6)$$

式中: ΔC_1 为质量浓度 C_1 的变化量。本文将 SPR 光纤生物传感器浸入苯酚溶液中时,苯酚分子将自由地通过苯酚选择透过性膜(其他分子被封锁在传感器外界溶液中),进一步传递至 HRP 涂覆层表面(传感器内部溶液,图 1),部分苯酚分子将传输进入 HRP 涂覆层中,这增大了 HRP 涂覆层折射率 n_2 [图 1(a)],导致 SPR 共振波长红移;随着主流体中苯酚含量的增大,传输进入 HRP 涂覆层中的苯酚分子数量增多,引起 n_2 的进一步增大,导致 SPR 共振波长红移量增大。因此,通过测量传感器 $\Delta \lambda$ 的大小,即可实现对苯酚溶液折射率和含量的测量。然而,当传感器内部环境溶液中含有过氧化氢(H_2O_2)时,HRP 能催化苯酚发生聚合反应,生成难溶于水的聚合物(即在 HRP 催化作用下, H_2O_2 将苯酚氧化,生成高活性苯氧自由基中间产物,苯氧自由基与苯酚分子或苯氧自由基间发生聚合反应,生成了一系列的聚合物^[19-21]),并附着在 HRP 表面[图 1(b)],增大 HRP 涂覆层的折射率。由于在 H_2O_2 存在的条件下,HRP 催化氧化苯酚产生的聚合物折射率大于苯酚溶液的折射率,且分析液中苯酚含量越高,产生的聚合物越多,引起 HRP 折射率改变量越大,即在相同的苯酚溶液中,传感器内环境中存在 H_2O_2 存在时引起的 HRP 折射率改变量 $\Delta n'_2$ 大于无 H_2O_2 时引起的 HRP 折射率改变量 Δn_2 ,即 $\Delta n'_2 > \Delta n_2$ (图 1)。理论分析表明传感器不仅能实现对苯酚含量的测量,更为重要的是,传感器内环境中存在 H_2O_2 将提升传感器的灵敏度。

3 实验

3.1 实验材料

化学试剂:过氧化氢(质量分数为 30%)、盐酸(质量分数为 37%)、五水硫酸铜(纯度 $\geq 98\%$)、HRP(纯度 > 3.0 ,冻干粉,活性 > 300 unit/mg)、氯化金(III)水合物(Au 的质量分数大于 48%)、尿素(纯度 $\geq 99.5\%$)、葡萄糖(纯度为 98%)、共聚酰胺(PEBA2533,法国阿科玛)、 β -环糊精(纯度为 98%),分析纯试剂有盐酸多巴胺、三羟甲基氨基甲烷、二水合磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠、柠檬酸钠、盐酸羟胺、苯酚、4-氯酚苯酚、4-氯苯酚、2,4-二氟苯酚、2,4-二氯苯酚、2,4,6-三氯苯酚、2,3,5-三氟苯酚、氯化钠。抗紫外石英光纤的纤芯直径为 600 μm ,包层(硅橡胶)直径为 630 μm ,涂覆层直径为

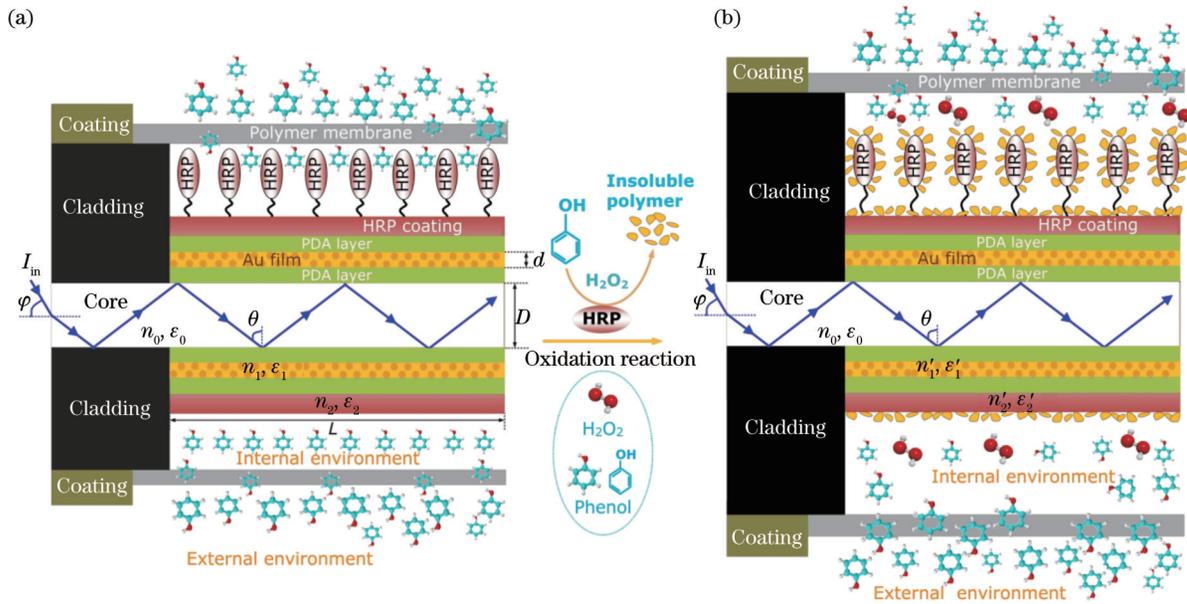


图 1 SPR 光纤生物传感器结构及光传输示意图。(a) 传感器内环境中无 H_2O_2 ; (b) 光纤外界液相环境有 H_2O_2

Fig. 1 Scheme diagrams of HRP-coated fiber-optic SPR sensor and light transmission in fiber. (a) Internal environment of sensor without H_2O_2 ; (b) internal environment of sensor with H_2O_2

860 μm , 最小弯曲半径为 60 mm, 数值孔径为 0.37 ± 0.02。实验用水为超纯水。

3.2 传感器制备

传感器制备主要包括以下 6 个步骤, 其制备流程图如图 2 所示。

1) 光纤腐蚀。为了提高光纤表面激发 SPR 效应的光强, 首先取 20 cm 长的石英光纤, 利用浓硫酸将光纤中心区域长度为 2 cm 的光纤表面硅橡胶去除, 接着用质量分数为 40% 的氢氟酸在室温下将其直径腐蚀至 500 μm , 最后用乙醇和超纯水清洗干净备用。

2) 多巴胺自聚合光纤制备。为将金纳米颗粒吸附在光纤表面(多巴胺含有氨基), 首先称取 0.742 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris)溶于 31 mL 超纯水中, 再加入 9 mL 0.1 mol/L 的 HCl 混合并搅拌均匀, 将 80 mg 盐酸多巴胺、31.972 mg 硫酸铜溶解于 Tris 缓冲液中, 再加入 79 μL 质量分数为 30% 的 H_2O_2 混合并搅拌均匀, 得到多巴胺快速沉积溶液。将光纤传感区域浸入到 20~30 $^{\circ}\text{C}$ 多巴胺溶液中沉积 0~30 min, 将其取出并用超纯水冲洗多余的多巴胺分子, 置于真空干燥箱中在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥 30 min, 即可获得多巴胺自聚合光纤。

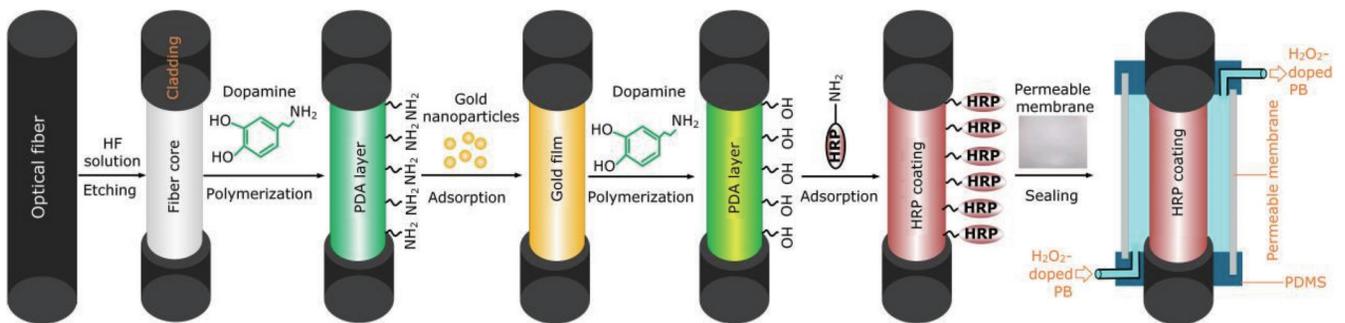


图 2 传感器制备流程图

Fig. 2 Flowchart of fabrication of sensor

3) SPR 光纤制备。为了获得 SPR 光纤, 首先制备了金纳米颗粒: (1) 称取 0.5 g 柠檬酸钠溶解于 50 mL 超纯水中, 得到 34 mmol/L 的柠檬酸钠溶液; (2) 称取 0.021 g 氯化金(III)水合物($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)溶解于 50 mL 超纯水中, 得到 1 mmol/L 的四氯金酸(HAuCl_4)溶液(4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存); (3) 在烧杯中加入 50 mL 的浓度为 1 mmol/L 的 HAuCl_4 溶液, 采用磁力

搅拌器持续搅拌(转速为 350 r/min), 并加热搅拌液至沸腾, 并保持液体沸腾 10 min 后, 向沸腾的液体中加入 3 mL 的浓度为 34 mmol/L 的柠檬酸钠溶液; (4) 等待液体再次沸腾并且保持液体继续沸腾 10 min 后, 关闭磁力搅拌器的加热功能, 继续搅拌反应液冷却至常温, 即获得含金纳米颗粒的溶液($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$); (5) 将制备出的 $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用;

(6) 纳米金在光纤表面的吸附, 即称取 0.025 g $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 0.001 g 盐酸羟胺($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) 加入 50 mL 超纯水中, 获得质量分数为 0.05% 的 HAuCl_4 和浓度为 0.2 mmol/L 的 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 的混合溶液(4 °C 避光保存), 将多巴胺自聚合光纤浸入金纳米颗粒胶体溶液中 0~4 h 后取出, 用超纯水清洗未吸附牢固的金纳米颗粒, 然后将光纤置于质量分数为 0.05% 的 HAuCl_4 和浓度为 0.2 mmol/L 的 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 混合溶液中 7 min, 将其取出并用超纯水冲洗后, 将传感器在 60 °C 下干燥 60 min, 即可获得 SPR 光纤。

4) HRP 涂覆 SPR 光纤制备。为了将 HRP 固定在 SPR 光纤表面, 在 SPR 光纤表面上再次聚合一层 PDA, 将光纤置入 25 °C 的多巴胺缓冲溶液中聚合 20 min, 将其取出并用超纯水冲洗, 置于真空干燥箱中在 60 °C 下干燥 30 min。称取 0.78 g 磷酸二氢钠二水合物、1.791 g 磷酸氢二钠十二水合物分别溶解于 100 mL 超纯水中, 取 39 mL 磷酸二氢钠溶液与 61 mL 磷酸氢二钠溶液混合, 配制 pH 为 7、浓度为 0.05 mol/L 的磷酸缓冲液, 称取一定量的 HRP 溶解于 20 mL 磷酸缓冲液中, 将其配制成质量浓度为 0~0.20 mg/mL 的 HRP 涂覆液, 将传感器置入 HRP 涂覆液 0~4 h, 取出用超纯水冲洗并晾干, 即可获得 HRP 涂覆 SPR 光纤 (SPR 光纤生物传感器)。

5) 苯酚选择透过性聚合物膜制备。为了高选择性透过水体中的苯酚分子, 制备了 β -环糊精掺杂的 PEBA2533 苯酚选择性聚合物膜^[7,12]: (1) 将 5 g PEBA2533 添加到 45 g 正丁醇中, 并使用磁力搅拌器 (60 r/min) 连续搅拌混合物 3 h (温度为 80 °C); (2) 将 0.5 g β -环糊精添加到上述混合物中, 继续搅拌 3 h 使 PEBA2533 和 β -环糊精均匀混合, 将其冷却至常温, 随后将其置入 5 °C 的冰箱中保存 24 h, 用于脱泡; (3) 为了制备聚合物膜, 将制备的混合物浇铸到聚四氟乙烯 (PTFE) 板上, 在真空烘箱 (70 °C) 中干燥 24 h 用于去除聚合物膜中的残留溶剂, 随后将干燥后的聚合物膜从 PTFE 表面剥离, 获得厚度为 (30 ± 2) μm 的苯酚选择透过性聚合物膜, 其表面形貌见文献^[12]。

6) 选择性测量苯酚含量的 SPR 光纤生物传感器制备。为了将制备的 SPR 光纤生物传感器和苯酚选择透过性聚合物膜耦合, 实现对水体中苯酚的选择性快速测量, 使用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 和 UV 无影胶将聚合物膜包裹在 SPR 光纤生物传感器上, 并使用外径为 500 μm 、内径为 300 μm 的毛细管作为掺杂 H_2O_2 磷酸缓冲液入口, 微通道体积约为 50 μL 。

3.3 分析液的配制

本文中溶液包括传感器内环境溶液和传感器外环境溶液。传感器内环境溶液制备过程如下: (1) 采用磷酸二氢钠溶液和磷酸氢二钠溶液配制浓度为 0.05 mol/L 的磷酸缓冲液 (pH 为 7.4); (2) 向 50 mL 磷

酸缓冲液中加入 H_2O_2 , 将其 H_2O_2 浓度配制为 2.5 mol/L, 然后利用盐酸将含有 H_2O_2 的磷酸缓冲液 pH 调节至 4.5 备用 (当溶液 pH 为 4.5、 H_2O_2 浓度为 2.5 mol/L 时, HRP 对 100 mg/L 苯酚溶液的催化氧化并生成难溶聚合物的效率最高^[22-23])。传感器外环境溶液制备过程如下: (1) 称取不同质量的苯酚溶于超纯水中, 制备成质量浓度为 0~100 mg/L 的苯酚溶液备用; (2) 为了表征传感器对 H_2O_2 具有选择性识别特性, 将一定质量的 4-氯酚苯酚 (4-CP)、4-氟苯酚 (4-FP)、2,4-二氟苯酚 (2,4-DFP)、2,4-二氯苯酚 (2,4-DCP)、2,4,6-三氯苯酚 (2,4,6-TCP)、2,3,5-三氟苯酚 (2,3,5-TFP)、氯化钠 (NaCl)、尿素 (Urea)、葡萄糖 (Glucose) 溶解于超纯水中分别制备成浓度为 100 mg/L 的溶液备用。

3.4 传感器测量系统及测量步骤

传感器测量系统主要由选择性测量苯酚含量的 SPR 光纤生物传感器、传感器内环境溶液、传感器外环境溶液、PMMA 样品池 [10 cm \times 10 cm \times 4 cm (长 \times 宽 \times 高), 容积为 2 mL]、微流泵 (Pump_1 流速为 100 $\mu\text{L}/\text{min}$, Pump_2 流速为 10 mL/min)、宽带光源 (DH-2000, 光谱范围为 215~2500 nm)、光谱仪 (QE65Pro, 光谱探测范围为 185~1100 nm, 光谱分辨率为 0.14~7.7 nm) 以及光纤跳线等构成, 如图 3 所示。

实验过程中, 首先采用微流泵向传感器微通道 (图 3) 和 PMMA 样品池注入超纯水清洗 5 min, 记录传感器输出光谱及光强。然后将传感器微通道和样品池中的超纯水排净后, 用注射泵 Pump_1 向传感器微通道中注满磷酸缓冲液 (PB) 或 H_2O_2 掺杂磷酸缓冲液 (H_2O_2 -doped PB), 用注射泵 Pump_2 向样品池中注满苯酚溶液或其他分析液, 并利用光谱仪记录不同时间下的传感器输出光谱。随后将传感器微通道和样品池中的溶液排净, 并用超纯水清洗光纤传感器 5 min, 用于其他分析物测量。

4 分析与讨论

4.1 传感器表征

为了表征聚多巴胺、金纳米颗粒、HRP 被成功固定在传感器敏感区, 以及 HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚产生了难溶聚合物并附着在敏感区表面, 分别对光纤各阶段样品进行了 SEM 及 EDS 表征, 实验结果如图 4、图 5 和表 1 所示。

图 4(a) 显示裸光纤表面光滑无杂质。图 4(b) 显示裸光纤表面附着了颗粒物, 该颗粒物来源于聚合产生的聚多巴胺。图 4(c) 显示金纳米颗粒均匀的吸附聚多巴胺表面, 并形成了金膜。图 4(d) 显示金膜涂覆光纤表面再次聚合了聚多巴胺颗粒, 使其表面形貌变得粗糙。图 4(e) 为 HRP 涂覆光纤表面形貌, 可以看出聚多巴胺表面覆盖了一层 HRP 膜。图 4(f) 为 HRP 催

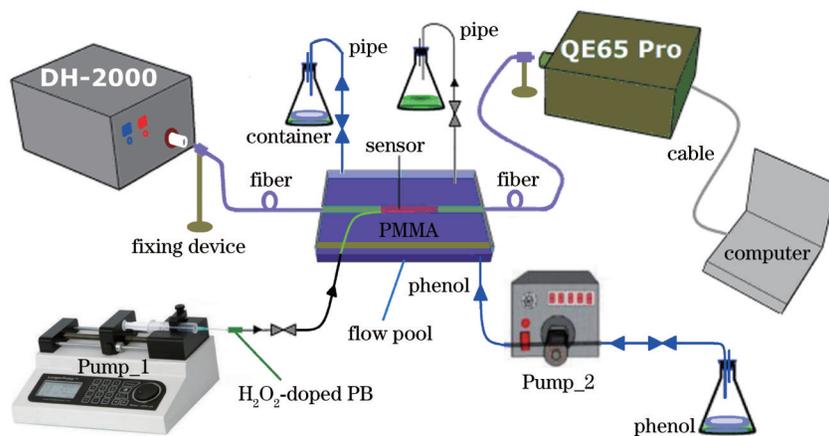


图 3 传感器测量系统示意图

Fig. 3 Schematic diagram of sensor measurement system

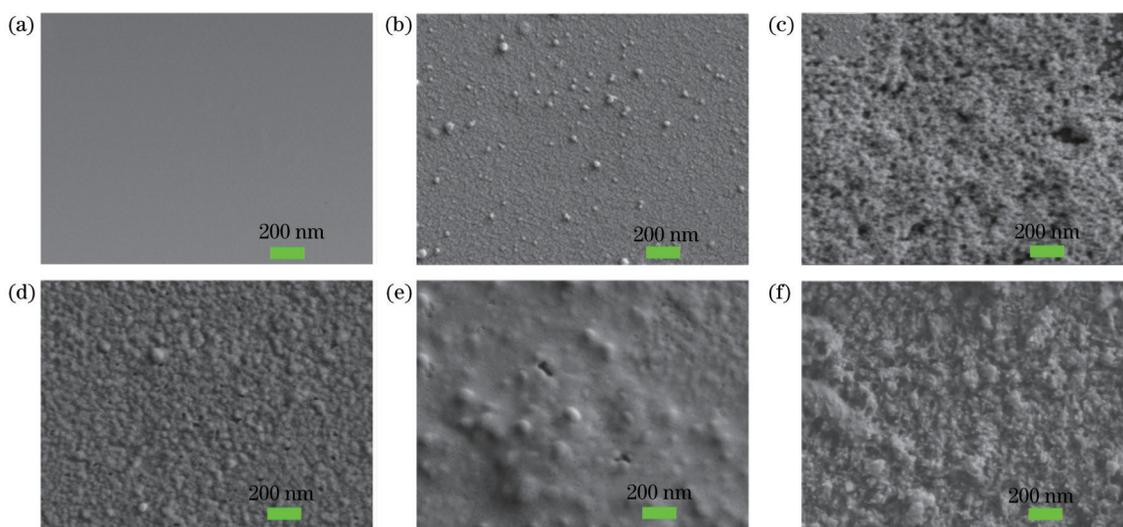


图 4 表面形貌 SEM 图。(a)裸光纤;(b)聚多巴胺光纤;(c)金膜附着光纤;(d)二次聚合聚多巴胺光纤;(e)HRP 固定光纤;(f)苯酚氧化产物附着光纤

Fig. 4 SEM images of surface topography. (a) Bare fiber; (b) polymerized polydopamine fiber; (c) gold-coated fiber; (d) secondary polymerized polydopamine fiber; (e) HRP-coated fiber; (f) phenol oxidation product attached fiber

化 H_2O_2 氧化苯酚产生了难溶聚合物并附着于 HRP 膜表面的形貌图,从图 4(f)中可以看出光纤表面产生了许多沉淀颗粒。

图 5 和表 1 显示,裸光纤仅含有 Si 和 O 元素;聚多巴胺光纤表面增加了 C 和 N 元素,因为聚多巴胺含 C 和 N 元素;金膜涂覆光纤增加了 Au 元素;二次聚合聚

多巴胺光纤的 C 和 N 元素含量[图 5(d)]相比于第一次聚合光纤[图 5(b)]进一步增加;HRP 固定光纤出现了 Fe 元素,因为 HRP 中含 Fe 元素;最后 HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚后光纤表面 C 元素含量进一步增加,进一步证实 HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚产生了难溶聚合物并附着在光纤表面。

表 1 不同光纤样品表面元素含量 EDS 表征(质量分数)

Table 1 EDS characterization of surface element content of different optical fiber samples (mass fraction)

Type of fiber	Si	O	C	N	Au	Fe	unit: %
Bare fiber	49.71	50.29	0	0	0	0	
Polymerized polydopamine fiber	38.83	40.81	18.40	1.96	0	0	
Gold-coated fiber	33.67	23.75	13.30	0.44	28.84	0	
Secondary polymerized polydopamine fiber	29.59	31.02	18.17	1.85	19.37	0	
HRP-coated fiber	23.42	34.43	20.78	2.09	19.22	0.06	
Phenol oxidation product attached fiber	21.11	33.78	27.89	1.75	15.44	0.03	

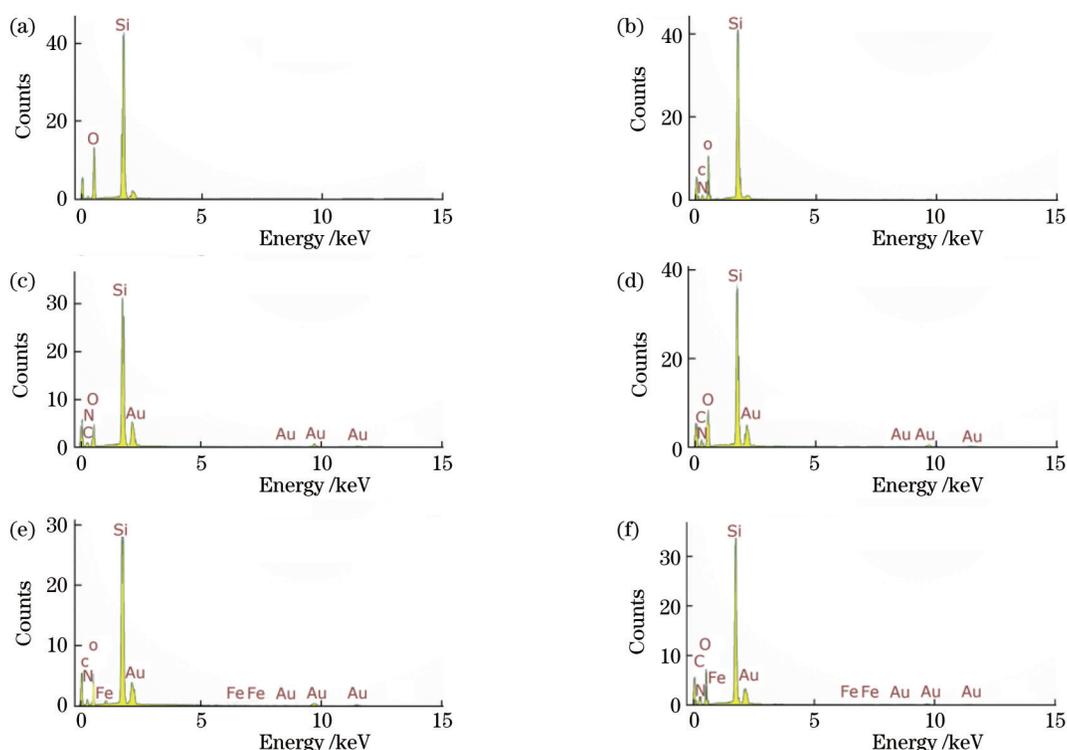


图 5 光纤表面 EDS 能谱图。(a) 裸光纤; (b) 聚多巴胺光纤; (c) 金膜附着光纤; (d) 二次聚合聚多巴胺光纤; (e) HRP 固定光纤; (f) 苯酚氧化产物附着光纤

Fig. 5 EDS energy spectra of optical fiber surface. (a) Bare fiber; (b) polymerized polydopamine fiber; (c) gold-coated fiber; (d) secondary polymerized polydopamine fiber; (e) HRP-coated fiber; (f) phenol oxidation product attached fiber

4.2 传感器制备过程参数对其性能的影响

为获得高灵敏度 HRP 涂覆 SPR 生物传感器, 实验首先研究了聚多巴胺聚合时间和聚合温度对传感器输出光谱和灵敏度的影响, 接着研究了金纳米颗粒在聚多巴胺涂覆光纤表面吸附时间对传感器性能的影响, 最后研究了 HRP 含量和 HRP 固定时间对传感器性能的影响 (苯酚溶液测试温度为 25 °C, 传感器采样时间间隔为 240 s)。

4.2.1 聚多巴胺聚合时间和聚合温度对传感器性能的影响

为了研究第一次聚多巴胺聚合时间对传感器灵敏度及共振光谱传输性能的影响, 首先在聚多巴胺聚合温度为 20 °C、金纳米颗粒吸附时间为 3 h、HRP 质量浓度为 0.15 mg/mL、第二次聚多巴胺聚合时间和聚合温度分别为 20 min 和 25 °C、HRP 质量浓度为 0.15 mg/L、HRP 固定时间为 2 h 时, 研究了聚多巴胺聚合时间对传感器响应性能的影响; 接着在最佳聚多巴胺聚合时间基础上, 研究了聚多巴胺聚合温度对传感器响应性能的影响, 实验结果如图 6 所示。

图 6(a) 显示当传感器敏感区的聚多巴胺聚合时间为 0 min 时, 传感器未显示共振峰, 这是因为光纤表面没聚合聚多巴胺分子, 导致光纤表面难以吸附金纳米颗粒并形成金膜。在 0~20 min 内, 随着聚合时间的增加, 传感器出现 SPR 共振峰, 且共振强度增强; 而在

30 min 时, 传感器 SPR 共振强度降低, 其原因在于: 在聚合时间较短时, 光纤表面聚合的聚多巴胺分子数量较少, 吸附金纳米颗粒的数量较少, 所激发的表面等离子体共振较弱; 而当聚合时间较长时, 光纤上所聚合的聚多巴胺的数量较多, 聚多巴胺对倏逝波的吸收增强, 所激发光纤表面 SPR 效应减弱。图 6(b) 显示传感器的灵敏度随着聚多巴胺聚合时间的增加先提高后降低, 在聚多巴胺聚合时间为 20 min 时, 传感器灵敏度最高, 其原因在于: 当光纤表面聚多巴胺分子的聚合时间为 20 min 时, 传感器 SPR 共振强度最强。

图 6(c) 显示传感器在 25 °C 时, SPR 共振最强, 传感器的灵敏度最高 [图 6(d)], 其原因是: 聚多巴胺聚合温度较低时, 分子扩散较弱, 光纤表面聚合聚多巴胺数量较少, 导致后续吸附金纳米颗粒较少, 激发 SPR 或 LSPR 效益较弱, 传感器对苯酚浓度变化不敏感, 共振波长偏移小即灵敏度低。然而, 当聚多巴胺聚合温度高于 25 °C 时, 虽然随着温度的升高, 光纤表面聚合聚多巴胺数量增多, 但光纤表面聚合过厚的聚多巴胺将对倏逝波产生强吸收, 从而激发 SPR 的光强减弱, SPR 效应减弱, 传感器共振波长偏移较小, 灵敏度较低。此外, 当聚多巴胺聚合时间和聚合温度分别为 20 min 和 25 °C 时, 传感器 SPR 共振光谱的透射率最低, 半峰全宽最窄, SPR 漂移量最大, 传感器灵敏度最高。本文后续实验研究将选择第一次和第二次聚多巴

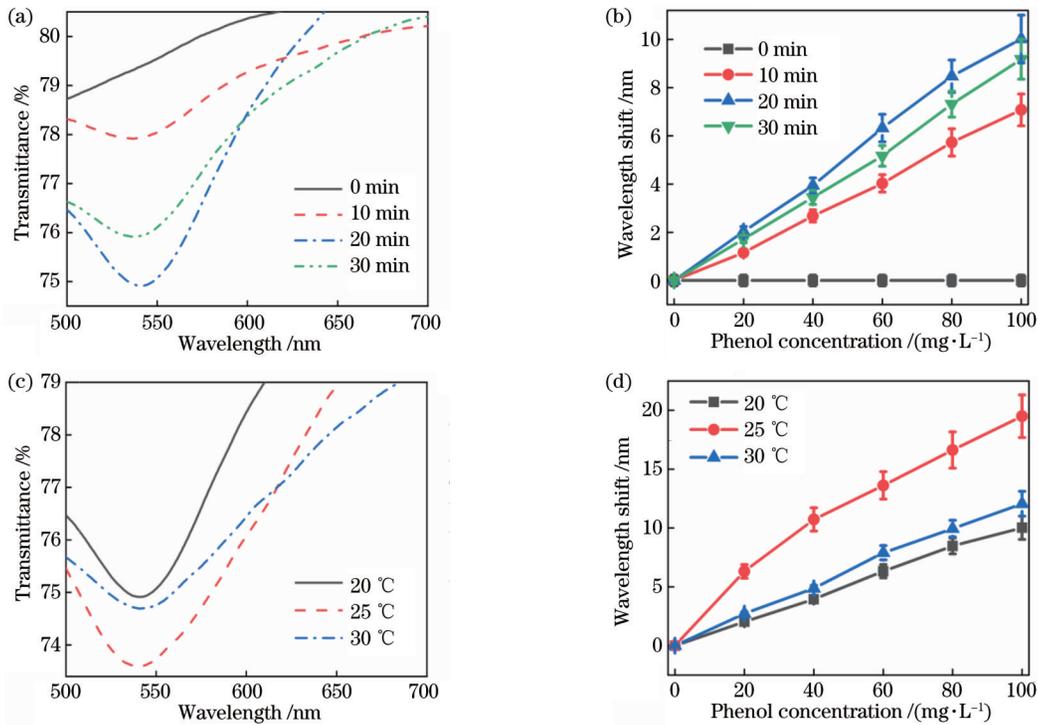


图 6 不同聚多巴胺聚合时间和温度下制备的传感器输出谱及其灵敏度。不同聚多巴胺聚合时间下制备的传感器(a)输出谱及(b)灵敏度;不同聚多巴胺聚合温度下制备的传感器(c)输出谱及(d)灵敏度

Fig. 6 Output spectra and sensitivity of prepared sensors under different polydopamine polymerization time and temperatures. (a) Output spectrum and (b) sensitivity of prepared sensors under different polydopamine polymerization time; (c) output spectrum and (d) sensitivity of prepared sensors under different polydopamine polymerization temperatures

胺聚合时间和聚合温度分别为 20 min 和 25 °C 进行。

4. 2. 2 金纳米颗粒吸附时间对传感器性能的影响

为了提高传感器性能,在最佳聚多巴胺聚合时间

和温度、HRP 质量浓度为 0.15 mg/mL、HRP 固定时间为 2 h 时,研究了金纳米颗粒吸附时间对传感器输出光谱及灵敏度的影响,实验结果如图 7 所示。

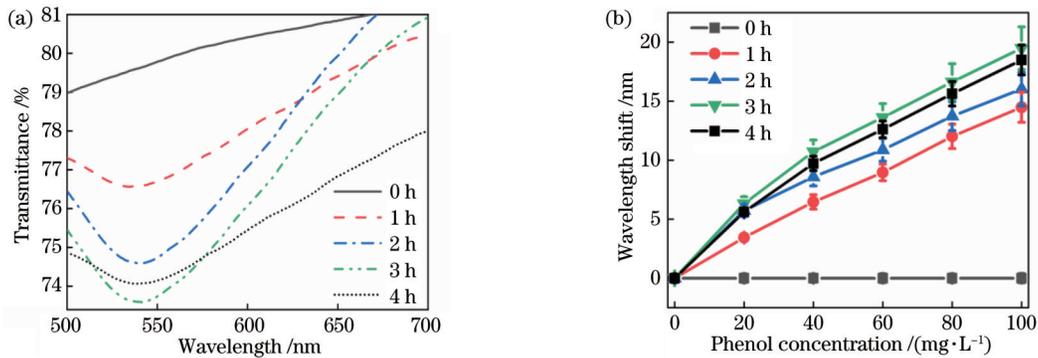


图 7 不同金纳米颗粒吸附时间下制备的传感器输出谱和灵敏度。(a)输出谱;(b)灵敏度

Fig. 7 Output spectrum and sensitivity of prepared sensors under different AuNPs adsorption time. (a) Output spectrum; (b) sensitivity

图 7(a)显示金纳米吸附成膜时间为 0 h 时,传感器未显示有共振峰。在 0~3 h 内,随着吸附成膜时间的增加,传感器 SPR 共振强度增强;当吸附时间为 3 h 时,共振光谱透射率最低,半峰全宽最窄。当金纳米吸附成膜时间小于 3 h 时,共振光谱的透射率较高,半峰全宽较宽,这是因为:吸附时间过短、金膜厚度太薄使入射到光纤-金界面能全反射的光不再能发生全反射,导致透射深度减小,使得能激发 SPR 的光能量减少。然而,金纳米吸附成膜时间过长(如 4 h)会导致光纤表

面附着金膜厚度太厚,进一步导致能够穿透金膜-HRP 膜界面共振耦合的倏逝场能量减小(图 1),共振光谱透射深度减小,半峰全宽增宽。图 7(b)显示传感器的灵敏度随着金纳米吸附成膜时间的增加先提高后降低;在 3 h 时,传感器 SPR 漂移量最大、对苯酚溶液的响应灵敏度最高,其原因在于:当金纳米在光纤表面吸附成膜时间为 3 h 时,SPR 共振强度最强且半峰全宽最窄。因此,本文后续实验研究将选择金纳米吸附成膜时间为 3 h 进行。

4.2.3 HRP 含量和 HRP 固定时间对传感器性能的影响

为了进一步提升传感器的灵敏度,在聚多巴胺聚合时间和温度、金纳米吸附成膜最佳时间下,首先研究

了 HRP 含量对传感器响应性能的影响;在获得最佳 HRP 含量基础上,进一步研究 HRP 固定时间对传感器性能的影响,实验结果如图 8 所示。

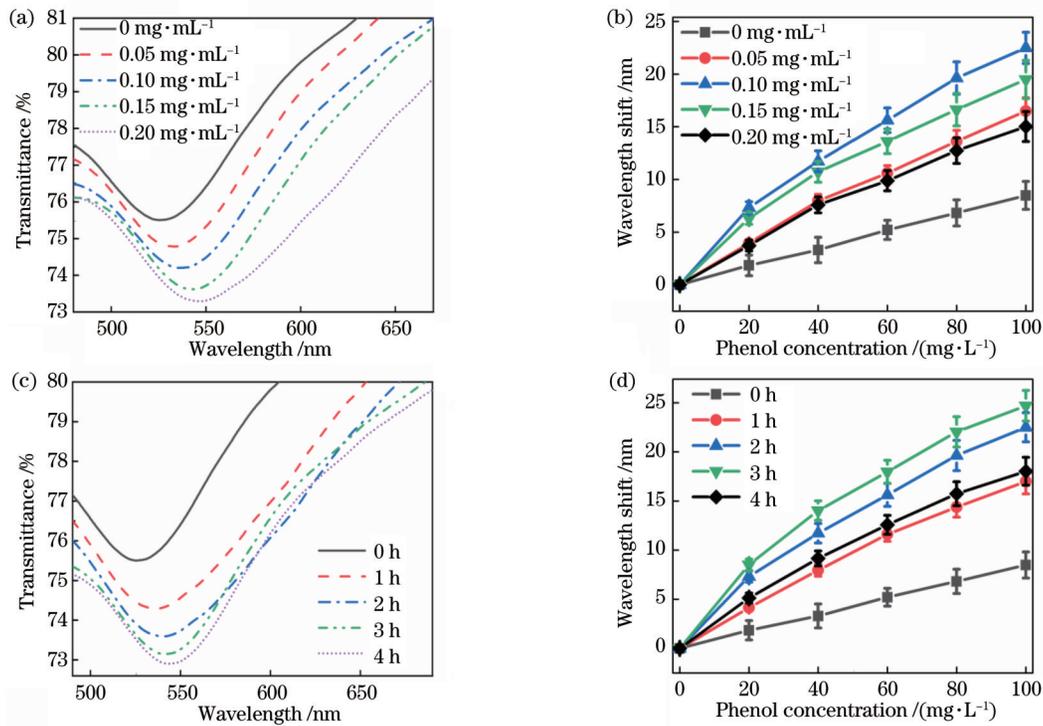


图 8 不同 HRP 含量和固定时间下制备的传感器输出谱及灵敏度。不同 HRP 含量下制备的传感器(a)输出谱和(b)灵敏度;不同 HRP 固定时间下制备的传感器(c)输出谱和(d)灵敏度

Fig. 8 Output spectra and sensitivity of prepared sensors under different HRP concentration and fixation time. (a) Output spectrum and (b) sensitivity of prepared sensors under different HRP concentration; (c) output spectrum and (d) sensitivity of prepared sensors under different HRP fixation time

图 8(a)显示传感器的 SPR 共振强度随着 HRP 含量的增大而增强,且共振波长发生了红移,其原因在于:随着 HRP 含量的增大,吸附在金膜表面的 HRP 含量越大, n_2 越大,金属表面的自由电子在金膜和 HRP 界面被激发得越多,产生的表面等离子体波越强,导致 SPR 共振强度越强,传感器本征共振波长漂移量越大。图 8(b)显示传感器的灵敏度随着 HRP 含量的增大先提高后降低,当 HRP 的质量浓度为 0.10 mg/mL 时,传感器灵敏度最高,其原因在于:随着 HRP 含量的增加,光纤金膜表面固定 HRP 的含量增加,促使 HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚,产生难溶聚合物的量增大,HRP 的折射率改变量 $\Delta n_2'$ 增大,导致传感器波长漂移量增大、灵敏度提高。然而,随着 HRP 含量的进一步增大,在光纤表面金纳米颗粒上吸附的 HRP 达到了饱和;同时,光纤表面 HRP 含量过多会形成酶促聚集,对酶活性产生空间位阻,阻断酶的活性位点,降低酶的活性^[24],导致 HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚产生难溶聚合物的量减少。因此,在相同的苯酚含量下, $\Delta n_2'$ 减小,传感器波长漂移量减小,灵敏度降低。此外,从图 8(a)中也可以看出,当 HRP 的质量浓度高于 0.10 mg/mL

时,传感器的半峰全宽增大,传感器测量苯酚含量的分辨率降低。因此,本文后续实验研究中将选择 HRP 的质量浓度为 0.10 mg/mL 进行。

图 8(c)显示在 HRP 固定时间为 0~4 h 内,传感器的 SPR 共振强度随着 HRP 固定时间的增加而增强,且传感器的共振波长发生了红移,其原因在于:吸附在金膜表面的 HRP 量增大, n_2 增大,金膜和 HRP 界面处产生的表面等离子体波增强,SPR 共振强度增强,传感器的本征共振波长向长波方向移动。图 8(d)显示传感器的灵敏度随着 HRP 固定时间的增加先提高后降低,在 HRP 的固定时间为 3 h 时,传感器的灵敏度达到最高,其原因是:在初始阶段,HRP 与光纤表面金纳米颗粒结合得较少,随着固定时间的增加,酶和金纳米颗粒的结合越来越多,使酶催化 H_2O_2 氧化苯酚产生的难溶聚合物越来越多, $\Delta n_2'$ 增大,传感器共振波长漂移量增大、灵敏度提高。然而,当 HRP 和光纤表面金纳米颗粒的结合时间过长,交联度提高,HRP 间形成空间阻抗,HRP 结合活性位点降低,导致酶活性降低^[25]。因此,当 HRP 的固定时间超过 3 h,在相同的苯酚含量下, $\Delta n_2'$ 减小,传感器波长漂移量减小,灵敏度降低。

综合图 6~8 可以看出,当聚多巴胺聚合时间为 20 min、聚多巴胺聚合温度为 25 °C、金纳米颗粒的吸附时间为 3 h、HRP 的质量浓度为 0.10 mg/mL、HRP 的固定时间为 3 h 时,传感器灵敏度最高为 246.91 pm/(mg/L)。

4.3 传感器灵敏度、响应时间、选择性及检测下限

传感器灵敏度、响应时间、选择性及检测下限是评价传感器性能的重要指标参数,当传感器采用最佳参数制备且表面密封有苯酚选择性透过性膜(图 2)时,实验测试了传感器内部环境液中有 H_2O_2 和无 H_2O_2 时对苯酚溶液的响应灵敏度,传感器有无苯酚选择性敏感膜时对质量浓度为 20 mg/L 的苯酚溶液的响应时间,传感器对外部分析液为质量浓度为 100 mg/L 的 Phenol、4-CP、4-FP、2,4-DFP、2,4-DCP、2,4,6-TCP、2,3,5-TFP、Glucose、NaCl、Urea 的响应特性,以及传感器对低含量苯酚的响应特性实验结果如图 9 所示(苯酚溶液的测试温度为 25 °C)。

图 9(a)显示当传感器表面密封有苯酚选择透过性聚合物膜时,传感器 SPR 共振波长仍发生红移,表明苯酚分子能自由通过苯酚选择透过性聚合物膜,因为 β -环糊精掺杂的 PEBA2533 聚合物膜具有高的苯酚自由通过性^[7,12]。同时,图 9(a)还显示当传感器内部环境液(PB 溶液)中含有 H_2O_2 时,传感器的灵敏度为 [238.91 pm/(mg/L) 或 224.84 pm/(mmol/L)],该灵敏度略低于传感器表面无苯酚选择透过性聚合物膜的灵敏度(其原因在于:聚合物膜对苯酚的传递产生了一定传质阻力,导致在相同的采样时间间隔下,苯酚分子传输到 HRP 膜表面的含量不同),是无 H_2O_2 时的 2.08 倍。HRP 在 H_2O_2 的协助下氧化苯酚产生了难溶聚合物并附着在 HRP 表面[图 4(d)],促使 $\Delta n'_2$ 增大,因此,即使传感器外部分析液中苯酚含量相同,传感器内部 PB 溶液中有 H_2O_2 时导致 HRP 折射率增量($\Delta n'_2$)大于无 H_2O_2 时 $\Delta n'_2$ 的变化量,传感器的共振波长 $\Delta\lambda$ 红移更多,灵敏度更高。

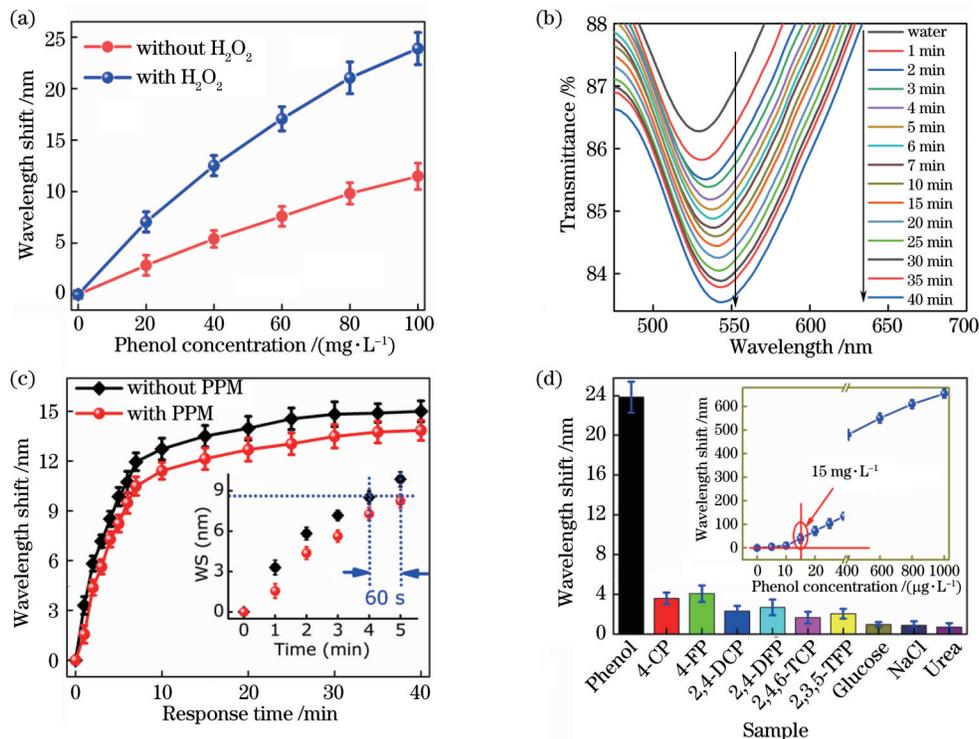


图 9 传感器的灵敏度、响应时间、重复性、选择性及检测下限(LOD)。(a)传感器测量过程中内环境中有无 H_2O_2 时对苯酚溶液的响应灵敏度(采样时间间隔为 300 s);(b)传感器对 20 mg/L 苯酚溶液的响应时间;(c)在传感器测量过程中 PPM 对 20 mg/L 苯酚溶液检测的影响;(d)传感器对苯酚溶液的选择性和 LOD(采样时间间隔为 300 s)

Fig. 9 Sensitivity, response time, repeatability, selectivity, and low limit of detection (LOD) of sensor. (a) Response sensitivity of sensor to phenol solution with and without H_2O_2 in internal environment during measurement of sensor (sampling interval is 300 s); (b) response time of sensor to 20 mg/L phenol solution; (c) effect of PPM on detection of 20 mg/L phenol solution; (d) selectivity and LOD of sensor for phenol solution (sampling interval is 300 s)

图 9(b)显示随着采样时间的推移,具有苯酚选择透过性膜的传感器的共振波长的偏移量先迅速增大,然后缓慢增大,最后趋于稳定,其原因是:在初始时,苯酚的质量浓度差导致传感器外环境溶液中的苯酚分子迅速扩散传递至内环境内 PB 溶液中,进一步传递至

HRP 表面,HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚迅速产生难溶聚合物并附着在 HRP 表面, $\Delta n'_2$ 变化较快,传感器共振波长偏移量迅速增加。而随着测量时间的进一步增加,传感器内外环境溶液中苯酚浓度差减小,扩散传递速率减慢,最终传感器内外环境溶液中苯酚的质量浓

度差达到一致;因此,传感器表面产生的难溶聚合物的增量减小,使得波长偏移量增加缓慢并最终趋于稳定。此外,从图 9(c)进一步可以看出,传感器有苯酚选择透过性膜时,传感响应慢于无苯酚选择透过性膜时,这同样是由膜对苯酚传递产生的传质阻力引起的。传感器无苯酚选择透过性膜时在 240 s 的响应灵敏度相当于传感器有苯酚选择透过性膜时在 300 s 的响应灵敏度。当具有苯酚选择透过性聚合物膜的传感器响应时间为 300 s 时,传感器灵敏度达到最佳灵敏度的 59% 以上,因此,在实际测量过程中样品测量结果的采样时间设定为 300 s 即可。此外,传感器有苯酚选择透过性膜时的灵敏度低于无苯酚选择透过性膜时的灵敏度,其原因在于传感器内部环境中 PB 溶液对苯酚进行了稀释。

图 9(d)显示虽然传感器能对除苯酚以外的其他酚类化合物具有一定的响应特性,尤其对 4-氟苯酚(4-FP)的响应灵敏度达到约为 15% 的苯酚响应灵敏度,但相比于传感器对苯酚的响应灵敏度仍较小,这进一步证实 β -环糊精掺杂 PEBA2533 聚合物膜具有高的苯酚选择通过性。同时,图 9(d)也显示,传感器对 Glucose、NaCl、Urea 共振波长的偏移量很小,其原因是 Glucose、NaCl、Urea 分子难通过 β -环糊精掺杂的 PEBA2533 聚合物膜,且 HRP 只催化 H_2O_2 氧化酚类化合物产生难溶聚合物。因此,传感器对苯酚具有良好的选择敏感性。图 9(d)中的内插图显示传感器能对水溶液中 $15 \mu\text{g/L}$ (159 nmol/L) 的苯酚进行准确识别,表明传感器的检测下限达到 159 nmol/L 。

5 结 论

制作了一种新型高灵敏选择性检测水溶液中苯酚含量的 SPR 光纤生物传感器,该传感器由 HRP 催化 H_2O_2 氧化苯酚产生难溶聚合物并粘附在光纤表面,引起光纤表面 HRP 折射率发生变化,从而使传感器的共振波长发生红移,进而实现对苯酚含量的高灵敏测量。同时,传感器表面固定的 β -环糊精掺杂 PEBA2533 聚合物膜具有高苯酚选择通过性,促使传感器实现对水体中苯酚的选择性测量。实验研究发现,当传感器在聚多巴胺聚合时间和聚合温度分别为 20 min 和 25°C 、金纳米颗粒吸附时间为 3 h、HRP 的质量浓度和固定时间分别为 0.10 mg/mL 和 3 h、苯酚选择透过性膜为 $30 \mu\text{m}$ 的条件下制备时,传感器呈现出苯酚高选择敏感性;当传感器对测量结果的采样时间设置为 300 s 时,传感器灵敏度达到 $224.84 \text{ pm}/(\text{mmol/L})$,检测下限达到 159 nmol/L 。本文研究成果有助于推动光纤感知技术及苯酚含量在线检测技术的发展与工程应用。

参 考 文 献

[1] Hu C, Zhao Q, Zang G L, et al. Preparation and

characterization of a novel Ni-doped TiO_2 nanotube-modified inactive electrocatalytic electrode for the electrocatalytic degradation of phenol wastewater[J]. *Electrochimica Acta*, 2022, 405: 139758.

- [2] Jiang B, Zeng Q Z, Liu J X, et al. Enhanced treatment performance of phenol wastewater and membrane antifouling by biochar-assisted EMBR[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306: 123147.
- [3] Zhong N B, Yuan J L, Luo Y H, et al. Intimately coupling photocatalysis with phenolics biodegradation and photosynthesis [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 425: 130666.
- [4] Karunarathne H D S S, Amarasinghe B M W P K. Fixed bed adsorption column studies for the removal of aqueous phenol from activated carbon prepared from sugarcane bagasse[J]. *Energy Procedia*, 2013, 34: 83-90.
- [5] Yan P C, Jiang D S, Li H N, et al. BiPO_4 nanocrystal/ BiOCl nanosheet heterojunction as the basis for a photoelectrochemical 4-chlorophenol sensor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 279: 466-475.
- [6] Karimi-Maleh H, Fakude C T, Mabuba N, et al. The determination of 2-phenylphenol in the presence of 4-chlorophenol using nano- Fe_3O_4 /ionic liquid paste electrode as an electrochemical sensor[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019, 554: 603-610.
- [7] Xin X, Liu H M, Zhong N B, et al. A highly sensitive plastic optic-fiber with a molecularly imprinted polymer coating for selective detection of 4-chlorophenol in water[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2022, 357: 131468.
- [8] 黄如霞, 王越, 周文超, 等. 非绝热结构模式干涉高灵敏度光纤传感器[J]. *光学学报*, 2021, 41(23): 2306001.
- [9] 徐廷廷, 杨玉强, 杨文龙, 等. 基于 PDMS 膜封装空芯光纤的级联双腔温度传感器[J]. *光学学报*, 2022, 42(8): 0806004.
- [10] Xu T T, Yang Y Q, Yang W L, et al. Cascaded double-cavity temperature sensor based on hollow fibers encapsulated by PDMS membrane[J]. *Acta Optica Sinica*, 2022, 42(8): 0806004.
- [11] Mishra S K, Chiang K S. Phenolic-compounds sensor based on immobilization of tyrosinase in polyacrylamide gel on long-period fiber grating[J]. *Optics & Laser Technology*, 2020, 131: 106464.
- [12] Zhong N B, Chen M, Wang Z K, et al. Photochemical device for selective detection of phenol in aqueous solutions[J]. *Lab on a Chip*, 2018, 18(11): 1621-1632.
- [13] Zhong N B, Chen M, Chang H X, et al. Optic fiber with Er^{3+} : $\text{YAlO}_3/\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ coating and polymer membrane for selective detection of phenol in water[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 273: 1744-1753.
- [14] Wall J F, Clauberg E, Murray R W, et al. Real-time monitoring of the deposition and growth of thin organic films by *in situ* ellipsometry[J]. *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, 1995, 13(5): 2348-2354.
- [15] Singh S, Mishra S K, Gupta B D. SPR based fibre optic biosensor for phenolic compounds using immobilization of tyrosinase in polyacrylamide gel[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 186: 388-395.
- [16] 马加骥, 王永洪, 张明义, 等. 基于光纤布拉格光栅传感器的 PHC 管桩现场静压贯入试验研究[J]. *光学学报*, 2020, 40(12): 1206004.
- [17] Ma J X, Wang Y H, Zhang M Y, et al. Static-pressure penetration field test of PHC pipe pile based on fiber Bragg grating sensor[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, 40(12): 1206004.
- [18] Wang J, Wang L, Su X Q, et al. Temperature, stress, refractive index and humidity multi parameter highly integrated optical fiber sensor[J]. *Optics & Laser Technology*, 2022, 152:

- 108086.
- [17] 邢心魁, 邴卡斌, 覃荷瑛. 一种高灵敏度的新型光纤光栅倾角传感器[J]. 光学学报, 2022, 42(7): 0706004.
Xing X K, Kuang K B, Qin H Y. Novel fiber Bragg grating tilt sensor with high sensitivity[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(7): 0706004.
- [18] 曹振新, 吴乐南, 梁大开. 金膜与银膜光纤 SPR 传感器[J]. 光子学报, 2004, 33(10): 1169-1171.
Cao Z X, Wu L N, Liang D K. Gold and silver film optical fiber SPR sensors[J]. Acta Photonica Sinica, 2004, 33(10): 1169-1171.
- [19] 于少明, 程俊, 左鹏, 等. 以层柱黏土为载体固定辣根过氧化物酶[J]. 化工学报, 2006, 57(12): 3021-3024.
Yu S M, Cheng J, Zuo P, et al. Immobilization of horseradish peroxidase to pillared clay as carrier[J]. Journal of Chemical Industry and Engineering (China), 2006, 57(12): 3021-3024.
- [20] Turac E, Sahmetlioglu E. Oxidative polymerization of 4-[(4-phenylazo-phenylimino)-methyl]-phenol catalyzed by horseradish peroxidase[J]. Synthetic Metals, 2010, 160(1/2): 169-172.
- [21] Petronijević M, Panić S, Savić S, et al. Characterization and application of biochar-immobilized crude horseradish peroxidase for removal of phenol from water[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2021, 208: 112038.
- [22] 王亚丽, 魏娟娟. 辣根过氧化物酶催化降解苯酚过程的研究[J]. 广东化工, 2016, 43(18): 51-53.
Wang Y L, Wei J J. Research of the catalytic degradation process of phenol by horseradish peroxidase[J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(18): 51-53.
- [23] Kazemi S H, Khajeh K. Electrochemical studies of a novel biosensor based on the CuO nanoparticles coated with horseradish peroxidase to determine the concentration of phenolic compounds[J]. Journal of the Iranian Chemical Society, 2011, 8(1): S152-S160.
- [24] 彭飞, 刘志成, 余秋会, 等. 选择性测量 H₂O₂ 浓度的光纤倏逝波生物传感器[J]. 光学学报, 2022, 42(10): 1006001.
Peng F, Liu Z C, Yu Q H, et al. Fiber-optic evanescent wave biosensor for selective detection of H₂O₂ concentration[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(10): 1006001.
- [25] Zhang C, Cai X L. Immobilization of horseradish peroxidase on Fe₃O₄/nanotubes composites for biocatalysis-degradation of phenol[J]. Composite Interfaces, 2019, 26(5): 379-396.

Novel Surface Plasmon Resonance Fiber-Optic Biosensor for Phenol Concentration

Li Linyang¹, Peng Fei¹, Zhong Nianbing^{1*}, Xie Quanhua¹, Tang Bin¹, Chang Haixing²,
Zhong Dengjie²

¹Chongqing Key Laboratory of Optical Fiber Sensor and Photoelectric Detection, Chongqing Engineering Research Center of Intelligent Optical Fiber Sensing Technology, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China;

²College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China

Abstract

Objective As an important chemical raw material, phenol is widely used in the industrial production of pesticides, dyes, plastics, etc. However, phenol is also a major pollutant in environmental groundwater and surface water. Therefore, the development of online sensors for selective and accurate detection of phenol concentration in water is crucial to protect the water environment and human health. In order to realize online detection of the concentration of phenolic compounds in water, electrochemical, photoelectrochemical, and fiber-optic sensors have been widely studied. Among them, the fiber-optic sensor is one of the most promising sensors for online detection of the concentration of phenolic compounds due to its advantages of long-distance transmission, anti-electromagnetic interference, quasi-distributed measurement, etc. However, fiber-optic sensors with photocatalyst or oxidase have low selectivity for the catalysis or oxidation of phenol, which makes the sensor not selective for the detection of phenol in water. In addition, there is no report on the development of horseradish peroxidase (HRP)-coated fiber-optic phenol concentration sensor. Therefore, it is necessary to develop an HRP-coated fiber-optic sensor with high sensitivity and selectivity for detecting phenol concentration by using silica optical fibers.

Methods To increase the sensitivity and selectivity of the fiber-optic sensor for phenol concentration, a novel surface plasmon resonance (SPR) fiber-optic biosensor composed of horseradish peroxidase (HRP)-coated SPR optical fiber and phenol permeable membrane was created. In order to obtain HRP-coated SPR fibers, first, a layer of polydopamine was polymerized on the surface of the optical fibers, which was used to adsorb gold nanoparticles to form a gold film to stimulate the SPR effect, and then the polydopamine was polymerized on the surface of the gold film to immobilize HRP. Second, the phenol permeable membrane prepared with PEBA2533 and β -cyclodextrin was sealed on the HRP-coated fiber. Third, an online analytical platform for detecting the phenol in water was constructed by using polymethyl methacrylate (PMMA) plates. Fourth, the principle of phenol detection by the sensor was analyzed. Fifth, scanning

electron microscope (SEM) and energy dispersive spectroscopy (EDS) were used to characterize the surface morphology and elements of the samples. Furthermore, the influence of the preparation conditions of the sensor on its performance was studied experimentally. Lastly, the output spectrum, sensitivity, response time, selectivity, and detection limit of the sensor were tested.

Results and Discussions The experimental results highlight that when the HRP-coated fiber-optic biosensor was prepared under the optimum conditions and the sampling time of the biosensor was set to 300 s, the sensitivity and lower detection limit (LOD) of the prepared sensor reached $224.84 \text{ pm} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{L}$ and 159 nmol/L , respectively (Fig. 9). The optimum conditions were set as follows: 1) the polymerization time and temperature of the polydopamine were 20 min and $25 \text{ }^\circ\text{C}$, respectively (Fig. 6); 2) the adsorption time of gold nanoparticles was 3 h (Fig. 7); 3) the concentration and fixation time of HRP were 0.10 mg/mL and 3 h, respectively (Fig. 8); 4) the thickness of the phenol permeable membrane was $30 \text{ }\mu\text{m}$. The good sensitivity and LOD of the prepared biosensor were generated by the strongest SPR resonance intensity caused by the formed gold film and oxidized products (insoluble polymer) with a higher refractive index than the phenol (the products were produced during the reaction between the phenol and HRP with the assistance of H_2O_2). The prepared phenol biosensor also showed high selectivity in the 4-chlorophenol, 4-fluorophenol, 2, 4-difluorophenol, 2, 4-dichlorophenol, 2, 4, 6-trichlorophenol, 2, 3, 5-trifluorophenol, NaCl, urea, and glucose solutions. The good selectivity of the biosensor can be attributed to the fact that the phenol permeable membrane prepared with PEBA2533 and β -cyclodextrin shows high phenol selectivity and permeability.

Conclusions In this paper, a novel SPR fiber-optic biosensor with high sensitivity and selectivity for detecting the concentration of phenol in aqueous solutions was developed. The sensor used HRP to catalyze H_2O_2 to oxidize phenol, so as to produce an insoluble polymer that adheres to the surface of the optical fiber, make the refractive index on the surface of the optical fiber change, and increase the shift of the SPR wavelength and sensitivity of the sensor. At the same time, the phenol permeable membrane prepared with PEBA2533 and β -cyclodextrin was sealed on the HRP-coated fiber, which promoted the sensor to achieve selective detection of phenol in water. The research in this paper will promote the development and engineering application of optical fiber sensing technology and phenol concentration online detection technology.

Key words sensors; phenol concentration; horseradish peroxidase; surface plasmon resonance effect; phenol permeable membrane; fiber-optic sensor; selectivity