基于荧光猝灭溶解氧传感器的校准方法研究

张　颖, 张颖颖, 袁　达, 张云燕, 吴丙伟, 冯现东

(齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省科学院海洋仪器仪表研究所, 山东省海洋监测仪器装备技术重点实验室, 国家海洋监测设备工程技术研究中心, 山东 青岛 266061)

摘要: 溶解氧是海洋水质监测的常规关键参数, 基于荧光猝灭原理研制的溶解氧传感器具有准确度高、稳定性好和可长期在线测量等优点, 已经被广泛用于海水溶解氧浓度监测。针对传感器可能发生的数据漂移和显著偏差可能造成的准确度问题, 本文设计了一套专门的校准装置和校准方法。通过严格控制校准水体的温度和溶解氧浓度, 测量待校准传感器和参比传感器的相移、温度和溶解氧浓度数据, 拟合获取传感器校准系数, 实现对光学溶解氧传感器的单个多点校准。传感器校准值与参比值偏差在±8 μmol·L^{-1} 以内。实验室和海水现场比测结果显示, 校准结果达到传感器性能指标要求。此校准装置及方法并不局限于光学溶解氧传感器, 具有良好的推广价值。

关键词: 溶解氧传感器; 荧光猝灭; 校准

中图分类号: TP212; X834　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2021)03-0088-06

DOI: 10.11759/hykx20200526003

人类活动影响使海洋生态环境问题日益凸显, 随着海洋生态文明战略实施, 海洋生态水质关键参数的长期、自动化、连续监测意义重大。溶解氧(dissolved oxygen)作为常规的海洋关键化学参数, 有着其他参数无可比拟的海洋观测历史[1], 这完全得益于 Winkler 发明[2]的一种经典且精确的湿化学溶解氧检测方法。随着时间的推移, 溶解氧传感器检测技术有了很大的创新和发展, 但直至目前为止, Winkler 法仍然是标准的溶解氧检测方法。随着在海洋空间和时间领域扩大监测范围的需求, 需要新的溶解氧检测方法来克服长期存在的取样不足和无法原位监测等问题。为了完成这些具有挑战性的海洋观测任务, 一套在精确度、响应时间和长期稳定性等方面都具有优秀特性的传感器是必不可少的。

Clark 电化学溶解氧传感器[3-4]经过不断改进, 已经在广泛的海洋监测任务中得到了成功的应用, 但其存在耗氧、无法长期原位监测等缺陷, 在海洋溶解氧监测中受到很大的限制。基于荧光猝灭原理研制的溶解氧传感器[5-6]因具有稳定性高、准确度好以及可实现长期原位监测等特性, 已经成为了主流的海洋溶解氧浓度检测仪器。目前国外已经有成熟商用的光学溶解氧传感器, 比如: Aanderaa、YSI 和 WTW 等。国内的光学溶解氧传感器研发起步较晚, 目前也形成了一些可用的溶解氧传感器[7-8]。但是, 当前国内外研制的光学溶解氧传感器都存在数据漂移问题, 产生问题的原因有很多, 其中主要有生物附着、传感膜受光分解, 以及传感器在长时间储存或运输产生的目前仍然无法完全解释的数据漂移[9]。此外, 传感器批量校准产生的显著偏差也会对传感器实际应用产生影响。为了提高光学传感器测量结果的准确度, 必须对其进行重新校准。

传统的传感器校准方法有两点校准法和多项式校准法。两点校准法通过无氧水和 100%溶解氧饱和水体进行传感器校准。该方法基准值少, 校准传感器数据精度无法满足实际应用需求。多项式校准法是根据溶解氧浓度、相移和温度之间的关系建立高阶多项式, 计算溶解氧浓度[10]。存在的主要缺点是校准周期长, 操作繁琐。而且, 不稳定的多项经验公式对基准值的要求很高, 拟合公式如果要精确就必须选

收稿日期: 2020-05-26; 修回日期: 2020-08-11

基金项目: 国家自然科学基金(U1806202); 国家重点研究计划(2016YFC1400800); 青岛市应用基础研究计划(青年专项)(19-6-2-26-cg); 山东省科学院青年基金项目(2018QN0038)

[Foundation: Natural Science Foundation of China under Grant, No. U1806202; National Key Research and Development Project, No. 2016YFC1400800; Qingdao Application Basic Research Plan, No. 19-6-2-26-cg; Youth Foundation of Shandong Academy of Sciences, No. 2018QN0038]

作者简介: 张颖(1995—), 男, 山西吕梁人, 在读硕士研究生, 主要从事海洋生态监测技术研究. E-mail: zhying_note@163.com; 张颖颖(1979—), 通信作者, 女, 山东青岛人, 研究员, 博士, 主要从事海洋生态监测技术研究和传感器研制, E-mail: triciayyz@163.com

择多个基准点，而基准点的增多必然导致校准周期过长，操作繁琐。基准点选择过少，则影响拟合公式的准确度，进而影响校准系数，导致补偿校正数据的误差较大。实际应用发现，当水体中的溶解氧饱和度大于 100%时，该方法会产生极大的测量误差，在低溶解氧饱和度时也无法取得满意的结果。

由于传感器的校准结果直接决定了测量数据的准确度，而上述的光学溶解氧传感器校准方法在校准精度、实验操作等方面都无法满足传感器实际应用需求。同时，传感器需通过定期、准确校准以提高监测数据的质量，这就强调了对光学溶解氧传感器校准方法和过程的可操作性要求。本文采用多点实验室校准方法，设计了一套针对光学溶解氧传感器校准的实验装置和实验方法，使传感器校准的时间周期和操作技能需求大幅降低，并极大提高了传感器的测量准确度。下面将对校准实验过程和结果进行详细的分析说明，并且提出一些切实可行的操作建议。虽然研究和实验采用的是自研的光学溶解氧传感器，但校准方法及结果具有广泛的适用性。

1 材料与方法

1.1 传感器描述

本文待校准传感器选用自研的海水光学溶解氧传感器(图 1)。该传感器采用动态发光猝灭的原理，用含有铂卟啉络合物的传感膜为发光体，当发光体被蓝光激发时，会发出荧光(红色)，而氧分子的存在会降低荧光强度和荧光寿命。鉴于荧光寿命可以很好地反映氧的浓度，故通过测量发光体发出的红色荧光相对于蓝色激发光的相移来计算荧光寿命，以此定量氧浓度。此款传感器具有低功耗、高性能的优点，能够提供长期、稳定、准确的溶解氧测量数据，可以广泛用于河流、湖泊和海洋等水环境的调查和监测。该传感器的性能指标如表 1 所示。



图 1 自研光学溶解氧传感器

Fig. 1 Self-developed optical dissolved oxygen sensor

表 1 传感器性能指标

Tab. 1 Specifications of the sensor

参数	技术指数
溶解氧准确度	<8 μmol·L^{-1} 或 5%，以较大者为准
溶解氧范围	0~500 μmol·L^{-1} 或 0~120%
响应时间(63%)	≤40 s
温度分辨率	0.01℃
温度准确度	典型值±0.1℃
工作温度	0~35℃

参比数据的选择对校准结果有至关重要的作用。本文的参比数据由经过计量校准的 Aanderaa 公司生产的型号为 4531 的光学溶解氧传感器提供，这是目前市场上最成熟的光学溶解氧传感器之一。该传感器声明在整个氧气浓度和温度范围内的绝对精度为±5%或±8 μmol·L^{-1}，63%的响应时间小于 30 s，满足校准参比要求。

1.2 Stern-Volmer-Uchida 公式

温度会影响传感膜中氧的扩散和溶解性，从而改变荧光淬灭效果。随着温度的升高，淬灭效果增强，荧光寿命会缩短，这对所有的光学溶解氧传感器都是通用的[11]。因此，光学溶解氧传感器实验室校准通常会系统地在一定范围内改变水体的温度和溶解氧浓度，同时监测传感器相移(荧光寿命)，选择合适的数学模型以补偿温度对溶解氧测量结果的影响。Uchida 等人[12]基于 Stern-Volmer 方程提出了 Stern-Volmer-Uchida 公式来计算氧浓度，具体描述了动态荧光猝灭中相移、温度和氧浓度之间的关系。由于该公式有很好的经验且仅有 7 个校准拟合系数，已被学者广泛接受。公式如下:

$$[O_2]=(P_0/P_C-1)/K_{sv} \quad (1)$$

式中，$[O_2]$为水体中的溶解氧浓度，P_0 为无$[O_2]$时的相移度数，P_C 为校正的相移度数，K_{sv} 是 Stern-Volmer 常数。

另外，光学传感器的响应会随着压力的增加而下降，压力补偿溶解氧$[O_2]_c$可通过以下公式计算:

$$[O_2]_c=[O_2](1+C_p p/1\ 000) \quad (2)$$

式中，p 为 dbar 表示的压力值，C_p 为补偿系数，建议值为 0.032[12]。鉴于压力对光学溶解氧测量结果影响较小，通常对应用深度不足 100 m 的传感器可以忽略压力校正。

1.3 校准装置及方法

与光学溶解氧传感器的实验室 Winkler 标定方

法(参照 GB 17328.4-2007《海洋监测规范》第 4 部分[13])不同，传感器的校准实验在保证校准结果准确度的前提下，更加强调校准实验的可操作性。本文设计了一套光学溶解氧传感器专用校准装置和校准方法。校准实验首先对待校准传感器进行性能检测。利用无氧水作为实验水体，控制水体温度为 4~35℃，按梯度选取 10 个温度点。在每个温度点下测量溶解氧传感器的相位数据，并对采集数据进行线性拟合。校准装置主体是一个封闭的不锈钢恒温水槽，待校准传感器和参比传感器悬挂在水浴中央并完全浸没在水体中，如图 2 所示。为了确保校准实验数据稳定可靠，在水体表面放置空壳塑料球起到保温和减少气体交换的目的，同时利用水槽底部的循环水泵确保水体温度和溶解氧浓度快速分布均匀。为了严格控制水体的温度和溶解氧浓度，利用比例-积分-微分(PID)温度控制系统调节水体温度，温度误差保持在±0.1 ℃以内，通过鼓入饱和空气或通入高纯氮气调节水体中溶解氧含量。每组测量数据都在停止鼓气至少 10 min 后进行采样。该装置较同类校准装置[10]，温度控制精度更高，对降低外界环境干扰也进行了更多设计。

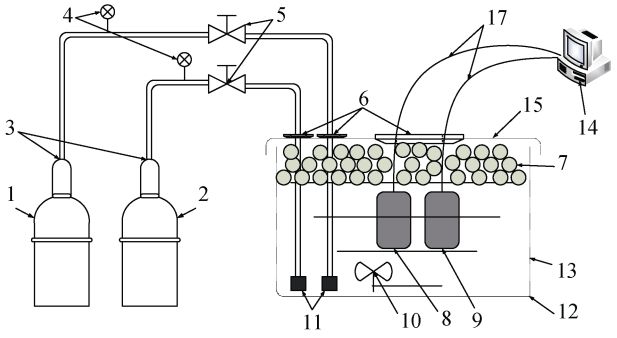


图 2　校准装置

Fig.2　Schematic of the calibration setup

注: 1、饱和空气瓶; 2、高纯氮气瓶; 3、减压阀; 4、压力传感器; 5、质量流量控制器; 6、泡沫或橡皮塞; 7、空壳塑料球; 8、待校准光学溶解氧传感器; 9、参比光学溶解氧传感器; 10、带搅拌功能的循环水泵; 11、鼓泡石; 12、水浴; 13、水槽; 14、计算机; 15、槽盖; 16、导气管; 17、线缆

受传统的实验室校准条件限制，光学溶解氧传感器校准实验通常要选取至少 35 个校准实验点(包括 5 个固定温度值和 7 个溶解氧饱和梯度值)，因此，校准周期较长(至少一周)，操作较繁琐。本文设计的专用校准装置能够准确控制校准实验过程中的温度和溶解氧浓度条件，因此改进校准实验采用散点校准方法。校准采用纯净水作为实验水体，调节水体中溶解氧饱和度在 0~120%范围内随机选取至少 10 个饱和度梯度值，调节水体温度在 4~30 ℃范围内发生变化。每个溶解氧饱和度水平下，每 20 s 进行一次传感器数据采集。计算机实时显示校准水体的环境数据和传感器的测量数据，并将采集到的数据自动存储用于传感器校准。由于采用了散点校准方法，校准过程缩短到两个工作日，较传统校准方法，具有操作简易和无需专业培训的优点。

2　结果分析

2.1　校准结果

从校准实验获取的散点校准数据中，选取 15 ℃、20 ℃、25 ℃和 30 ℃四个温度对应的校准实验数据，按照 Stern-Volmer-Uchida 公式，对自研的光学溶解氧传感器进行校准。校准结果如图 3 所示，曲面拟合相关系数 R^2 等于 0.998 6。

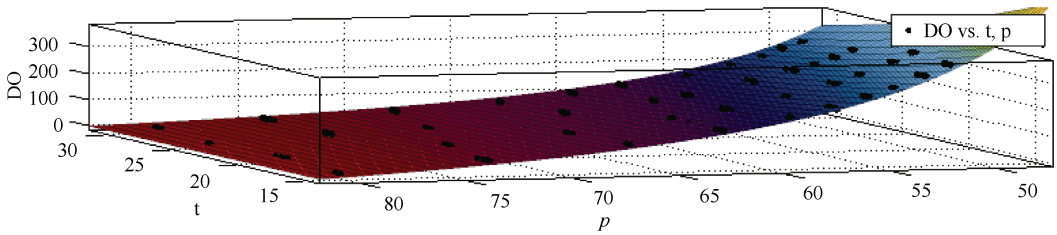


图 3　自研传感器的校准实验结果

Fig. 3　Calibration results of a self-developed sensor

为了更加清晰的表现传感器校准实验结果，从校准实验数据中随机选取 40 组数据(见表 2)，进行定量的误差校准分析。如图 4 所示，校准值与参考值的偏差都在±8 μmol·L^{-1} 以内，达到了光学溶解氧传感器校准要求。如图 5 所示，传感器校准值与参考值之间具有良好的一致性，线性相关系数 R^2 等于 0.998 6。校准结果表明，校准方法和模型能够满足光学溶解氧传感器校准要求，可以准确描述温度、相移和溶解氧浓度之间的关系。

表 2　传感器校准值与 Aanderaa 测定参考值对比数据(单位: μmol·L^{-1})

Tab. 2　Comparisons between the sensor calibration value and Aanderaa measurement reference value (unit: μmol·L^{-1})

序号	15 ℃		20 ℃		25 ℃		30 ℃	
	校准值	参考值	校准值	参考值	校准值	参考值	校准值	参考值
1	5.641 253	5.185	6.010 771	2.235	2.862 64	0.184	3.486 2	1.676
2	40.666 13	42.431	39.525 91	36.721	42.447 01	38.219	41.191 79	45.333
3	89.571 25	88.477	75.013 3	73.466	82.411 96	87.006	68.292 63	71.553
4	133.898 8	134.51	119.582 7	118.637	120.448 2	124.911	94.966 2	98.086
5	179.318 7	178.916	149.454	148.519	138.075 6	144.069	116.714 7	121.479
6	215.947 7	210.192	193.705 6	190.95	186.316 3	190.403	154.516 5	150.522
7	249.333 8	247.913	239.007 5	237.714	222.653	226.768	190.785 5	186.768
8	282.080 9	278.017	267.136 1	268.406	247.233 7	247.046	220.237 7	217.029
9	319.957 4	326.601	317.132 7	314.35	270.709 7	273.757	243.571 9	246.561
10	359.146 3	366.375	352.330 7	348.379	295.619 4	300.444	271.845 1	267.33

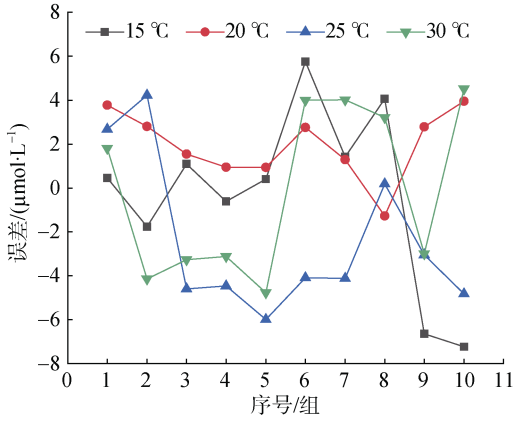


图 4　传感器校准误差

Fig. 4　Error of sensor calibration

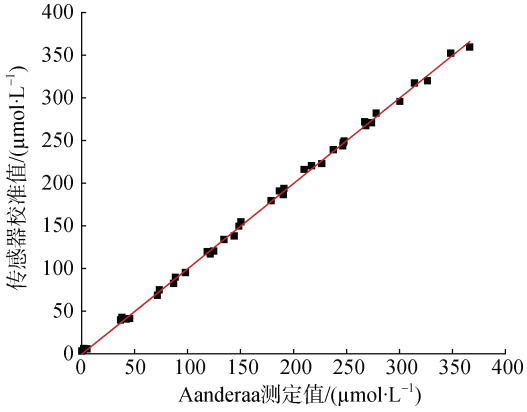


图 5　传感器校准值与 Aanderaa 测定参考值线性相关分析

Fig. 5　Linear correlation analysis between the sensor calibration value and reference value measured using Aanderaa

2.2　传感器比测

为了测试校准后的传感器在实际工作中的性能，在海水现场对传感器进行比测。在青岛八大峡附近海域对自研溶解氧传感器、Aanderaa 传感器、In-Situ 传感器(精度: ±3 μmol·L^{-1}, 0~250 μmol·L^{-1}; ±6 μmol·L^{-1}, 250~625 μmol·L^{-1})进行比测，同时采集海水样品，以 Winkler 法测定结果作为真值。从早上 10: 30 到中午 12: 15，每隔 15 min 进行一组比测。将三台传感器固定在一起，吊挂放置在距海平面约 1m 处，在传感器光学窗口附近采集海水样品。将连续采集三次数据的平均值作为传感器的实际测定值，三次平行海水样品测定的均值作为 Winkler 测定值。比测结果如表 3 所示，测定溶解氧的浓度范围为 239~242 μmol·L^{-1}。三台传感器的测量数据与 Winkler 法测定真值之间的误差如图 6 所示，自研的校准传感器测量误差在 –2~5 μmol·L^{-1} 范围之内，Aanderaa 传感器测量误差在 –3~6 μmol·L^{-1} 范围之内，In-Situ 传感器测量误差在 –6~0 μmol·L^{-1} 范围之内，三台传感器的测量误差均在±6 μmol·L^{-1} 之间。比测结果表明，校准传感器在海水现场的测量性能符合指标要求。

表 3　Winkler 法与光学传感器海试比测结果(μmol·L^{-1})

Tab. 3　Comparison of the measurement results of Winkler titration and optical sensors in the marine environment (μmol·L^{-1})

时间	Winkler	自研传感器	In-Situ	Aanderaa
10: 30	241.25	241.56	242.187 5	237.187 5
10: 45	240.625	242.50	245.312 5	234.687 5
11: 00	241.875	240.31	244.375	240.625
11: 15	240	236.87	244.062 5	241.25
11: 30	240.937 5	239.68	245	241.562 5
11: 45	238.125	236.25	243.75	240.937 5
12: 00	239.375	237.19	243.125	241.25
12: 15	239.062 5	235.00	244.062 5	241.562 5

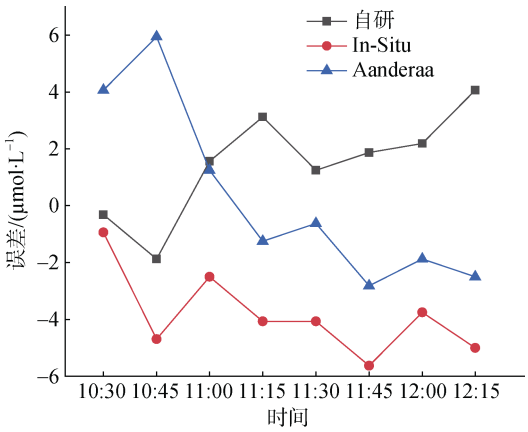


图 6　光学溶解氧传感器海试比测误差

Fig. 6　Comparison of the measurement errors of optical dissolved oxygen sensors in the marine environment

3　讨论

3.1　传感器校准数据

本文提出了一种光学溶解氧传感器散点校准方法，获取随机采样数据作为校准数据，利用 MATLAB 工具箱构建了溶解氧传感器的校准模型。实验室校准结果显示传感器校准数据质量在一定程度上决定了校准模型的准确度。因此，建议在构建校准模型前先对数据进行预处理，剔除所有异常数据，避免异常数据对传感器校准模型结果产生影响。另外，计算拟合模型结果与校准数据之间的误差，将误差较大的数据剔除，用剩下的数据重新拟合校准模型，重复迭代直至所有数据误差都在期望范围内。

采用 Stern-Volmer 方程推导公式作为传感器校准模型，模型结果显示这种公式很好地遵循光学溶解氧传感器工作的物理原理，在实际应用中应避免使用不稳定的高阶多项式模型。

3.2　传感器校准条件

本文利用简易的校准装置进行了光学溶解氧传感器的校准研究，提供了专门的溶解氧传感器校准装置，简化了校准实验流程，保障了传感器的测量准确性和可靠性，实现了以较短的校准周期完成溶解氧传感器的单个多点校准。

传感器校准条件的变化会对校准结果准确度产生很大影响。当校准实验水体在高溶解氧浓度或高温条件下时，外界溶解氧浓度或温度与实验水体环境差别较大，水气交换加快，使实验水体校准参数数值波动较大，而待校准传感器与参比传感器响应时间不同，导致校准实验数据产生误差，从而影响传感器校准结果准确度。此外，建议在对实验装置密封处理的情况下，将实验室空调等外界环境对校准实验的影响也进行充分考虑。

光学溶解氧传感器实际应用环境中的一些物理、化学因子对传感器响应有干扰，例如压力、盐度和一些溶解性气体等环境因子。传感器校准过程中应实时监测这些环境参数的变化，并应适当考虑相关环境因子的补偿，在下一步的工作中也会重点研究这些环境因子对传感器响应的影响规律。

4　结论

校准实验结果表明，传感器校准误差在±8 μmol·L^{-1} 以内，能够达到校准要求。校准方法简单有效，提供了无需 Winkler 手工操作实验方式，极大地简化了校准操作流程，缩短了校准周期，能更好地满足传感器实际应用需求。该校准方法可灵活改进后广泛应用于其他同类型的海洋监测传感器，可对海洋仪器的研究和应用提供重要的技术支撑。

比测实验结果表明，校准传感器在海水现场的测量性能符合指标要求，性能指标达到同类商用传感器水平，校准方法有效可行。

参考文献:

[1] Bittig H C, Fiedler B, Scholz R, et al. Time response of oxygen optodes on profiling platforms and its dependence on flow speed and temperature[J]. Limnology and Oceanography: Methods, 2014, 12(8): 617-636.

[2] Winkler L W. Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes[J]. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 1888, 21: 2843-2854.

[3] Kanwisher J. Polarographic oxygen electrode[J]. Limnology and Oceanography, 1959, 4(2): 210–217.

[4] 张国夫, 高水芳, 梅慰春, 等. 微型计算机控制的电导及溶氧量全自动分析系统[J]. 分析化学, 1983(10): 72-76.
Zhang Guofu, Gao Shuifang, Mei Weichun, et al. Microcomputer-based analyzing system for conductivity and dissolved oxygen in water flow line[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1983(10): 72-76.

[5] Tengberg A, Hovdenes J, Andersson H J, et al. Evaluation of a lifetime-based optode to measure oxygen in aquatic systems[J]. Limnology and Oceanography: Methods, 2006, 4.

[6] Wei Y, Jiao Y, An D, et al. Review of dissolved oxygen detection technology: From laboratory analysis to online intelligent detection[J]. Sensors, 2019, 19(18): 3995.

[7] 张涛. 海洋原位溶解氧检测仪设计与开发[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.

Zhang Tao. Design of an in-situ dissolved oxygen detector using fluorescence quenching[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2013.

[8] 周冬秋, 肖韶荣, 肖林. 基于荧光猝灭原理的光纤溶解氧传感器研制[J]. 光学与光电技术, 2013(4): 67-69, 88.
Zhou Dongqiu, Xiao Shaorong, Xiao Lin. Development of fiber optic dissolved oxygen sensor based on fluorescence quenching[J]. Optics & Optoelectronic Technology, 2013(4): 67-69, 88.

[9] Drucker R, Riser S C. In situ phase-domain calibration of oxygen Optodes on profiling floats[J]. Methods in Oceanography, 2016, 17: 296-318.

[10] 郑旻辉, 潘建明, 杨俊毅, 等. 荧光猝灭法溶解氧传感器实验室校准方法研究[J]. 海洋技术学报, 2016, 35(1): 65-70.
Zheng Minhui, Pan Jianming, Yang Junyi, et al. Study on the method for laboratory calibration of dissolved oxygen sensors based on fluorescence quenching[J]. Journal of Ocean Technology, 2016, 35(1): 65-70.

[11] Bittig H C, Arne K, Craig N, et al. Oxygen optode sensors: principle, characterization, calibration, and application in the ocean[J]. Frontiers in Marine Science, 2018, 4: 429.

[12] Uchida H, Kawano T, Kaneko I, et al. In situ calibration of optode-based oxygen sensors[J]. Journal of Atmospheric & Oceanic Technology, 2008, 25(12): 2271- 2281.

[13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 17378.7—2007 海洋监测规范第 4 部分: 海水分析[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration. GB 17378.7—2007 The specification for marine monitoring Part 4: Seawater analysis[S]. Standards Press of China, Beijing, 2007.

Calibration method of a fluorescence quenching dissolved oxygen sensor

ZHANG Ying, ZHANG Ying-ying, YUAN Da, ZHANG Yun-yan, WU Bing-wei, FENG Xian-dong

(Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Institute of Oceanographic Instrumentation, Shandong Provincial Key Laboratory of Ocean Environmental Monitoring Technology, National Engineering and Technological Research Center of Marine Monitoring Equipment, Qingdao 266061, China)

Received: May 26, 2020
Key words: dissolved oxygen sensor; fluorescence quenching; calibration

Abstract: Dissolved oxygen is one of the conventional key parameters for the monitoring of marine water quality. The dissolved oxygen sensor based on the principle of fluorescence quenching has been widely used in the monitoring of dissolved oxygen concentration in the sea owing to its high accuracy, good stability, long-term in situ measurement, and other advantages. Aiming at the accuracy problem caused by the possible data drift and significant deviation of the sensor, this study designed a special calibration device and calibration method. Under the strict control of temperature and the dissolved oxygen concentration of the calibrated water body, the phase shift, temperature, and dissolved oxygen concentration data of the sensor and reference sensor to be calibrated were measured. The sensor calibration coefficient was obtained by fitting. Single multipoint calibration of the optical dissolved oxygen sensor was realized. The calibration value of the sensor was within ±8μmol·L^{-1}. Laboratory results and field seawater comparison showed that the calibration results meet the requirements of the sensor performance indexes. The calibration device and method are not limited to optical dissolved oxygen sensors and have a good popularization value.

(本文编辑: 杨　悦)