氨基酸分子水溶液的太赫兹无损检测

施卫^{1*}, 王海青¹, 侯磊^{1*}, 董陈岗¹, 杨磊¹, 赵红卫², 王志全¹, 王悦政¹, 李超凡¹

1. 西安理工大学理学院, 陕西省超快光电技术与太赫兹科学重点实验室, 西安 710048;

2. 中国科学院上海高等研究院, 上海 201210

*联系人, 施卫, E-mail: swshi@mail.xaut.edu.cn; 侯磊, E-mail: houleixaut@163.com

收稿日期: 2020-07-23; 接受日期: 2020-09-01; 网络出版日期: 2021-02-23

国家自然科学基金(编号: 61427814, 61575161)、国家重点基础研究发展计划(编号: 2017YFA0701005)、陕西省自然科学基金(编号: 2019JZ-04)、陕西省超快光电技术与太赫兹科学重点实验室(编号: 2018SZS-06)、西安市超快光电器件技术重点实验室(编号: 201805055ZD6-CG39)资助项目

摘要 大多数生物分子在液体环境中才能维持其生物活性, 实现液态生物分子的太赫兹(THz)光谱检测对活性生物分子的功能与结构. 无创性生物医学检测的研究具有重要的应用价值. 本文利用铌酸锂(LiNbO₃)光整流产生的 THz 辐射, 结合喇叭形渐变平行平板波导的局域电场增强效应, 构建了可以检测微量活细胞和含水生物分子的 THz 时域光谱测量系统, 实现了对 4-氨基苯甲酸(4-Aminobenzoic Acid)及谷氨酸(Glutamic Acid)溶液的 THz 光谱检测. 结果表明, 去除水对 THz 波吸收的影响, 4-氨基苯甲酸以及谷氨酸水溶液在 0.1–2.0 THz 频段有明显且独特的特征吸收峰. THz 频段内的氨基酸水溶液特征吸收谱的获取为活性生物大分子或组织的检测奠定了基础.

关键词 太赫兹光谱测量, 平行平板波导, 4-氨基苯甲酸, 谷氨酸

PACS: 87.64.-t, 87.15.H-, 87.15.M-, 87.50.U-, 87.63.-d

1 引言

氨基酸作为构成蛋白质大分子的基本组成单位, 是机体细胞生长和分裂所需物质的重要组成部分, 对生命的新陈代谢有着不可替代的作用. 天然的氨基酸通过肽键以不同的连接顺序连接起来构成蛋白质^[1], 因此对氨基酸分子的深入研究, 是了解蛋白质结构和功能的基础, 对了解生命起源、揭示生命本质以及诊断疾病和筛选药物等关乎人类健康的问题起着举足轻重的作用^[2]. 4-氨基苯甲酸(4-Aminobenzoic Acid)因其对酪氨酸酶的单酯酶和二酯酶的抑制作用可以用于皮

肤色素障碍性疾病的辅助治疗, 同时, 其也是合成补血剂——叶酸、促凝血药——对羧基苄胺的关键中间体. 谷氨酸(Glutamic Acid)在治疗肝性昏迷、某些精神-神经系统疾病以及改善儿童智力发育等方面也发挥着重要的作用. 此外, 4-氨基苯甲酸及谷氨酸作为人类必需氨基酸分子的代表, 对生命机体的正常发育和代谢有着不可替代的作用, 因此, 研究其与生物学功能密切相关的构象信息变得尤为重要.

分子系统的皮秒时间尺度(THz 频率范围)振动动力学是其化学功能的关键, 与其分子的结构和构象具有高度的相关性^[3]. 然而, 该时间尺度与组织和细胞中

引用格式: 施卫, 王海青, 侯磊, 等. 氨基酸分子水溶液的太赫兹无损检测. 中国科学: 物理学 力学 天文学, 2021, 51: 054210

Shi W, Wang H Q, Hou L, et al. Terahertz spectral nondestructive detection of amino acid molecules in aqueous solution (in Chinese). Sci Sin-Phys Mech Astron, 2021, 51: 054210, doi: [10.1360/SSPMA-2020-0279](https://doi.org/10.1360/SSPMA-2020-0279)

分子的生物学功能密切相关的构象信息很难用其他技术获得. THz光谱检测技术因其具有高灵敏度、较低的光子能量(4.13 meV@1 THz)以及指纹谱特性等特点, 对生物分子及其组成的单分子等生物样品的检测具有独特的优势及广泛的应用价值^[4-8].

遗憾的是, 目前THz光谱检测技术并不能直接获取含水生物样品的THz特征谱. 主要技术瓶颈是由于水溶液中溶质表面的水分子紧密结合在溶质分子上, 水的偶极运动和氢键作用使得水对THz波具有强烈的吸收作用^[9-11], 掩盖了生物分子本身可检测的特征指纹信号, 甚至在某些情况下无法观察到, 严重限制了其医学领域的应用. 现有的THz检测手段大多局限于固态物质^[12-15], 即脱水处理或制粉压片后进行检测, 但正常机体中的生物大分子只能在液体环境中执行其生理功能, 为了克服生物分子溶液的强吸水性和提高检测灵敏度, 微/纳米通道被广泛应用于生物分子溶液的THz光谱测量^[16-18], 目的是通过减少体系中水分子含量从而减少水分子对靶信号的掩盖作用来实现目标分子的指纹谱检测^[19]. 然而, 微/纳米通道对生物分子的管壁限制效应会对THz光谱造成一定的影响, 管壁限制效应一定程度上减缓了水分子的动力学, 从而降低了整个溶液在限制环境下的THz吸收^[9]. 因此, 进一步探索测量水溶液中生物分子或组织的THz特征光谱检测技术有着至关重要的作用.

本文采用铌酸锂(LiNbO₃)晶体作为THz辐射源, 利用光整流的方法产生强场THz波, 为了克服生物大分子中水的强吸收的影响, 越来越多的研究者将波导用于THz时域光谱的检测^[20]. 本文采用喇叭形渐变平行平板波导将自由空间中的THz波耦合至平行平板波导, 基于波导平行平板部分的THz电磁场局域增强效应, 实现了含水氨基酸样品的THz检测, 获得4-氨基苯甲酸以及谷氨酸水溶液的THz特征指纹谱, 突破了THz时域光谱技术对含水样品测试的瓶颈, 为生物医学领域中活性生物样品及组织的识别和检测提供了一种新的方法.

2 样品和实验

2.1 样品制备

本文所使用的4-氨基苯甲酸及谷氨酸样品纯度为分析纯. 为了检测4-氨基苯甲酸及谷氨酸水溶液在

THz频段的特征吸收谱, 考虑到在室温环境下, 4-氨基苯甲酸、谷氨酸在水中的溶解度分别为4.7 mg/mL (20°C), 7.5 mg/mL (20°C), 因此, 本实验选用0.1 g 4-氨基苯甲酸、0.36 g谷氨酸分别配制50 mL 4-氨基苯甲酸及谷氨酸水溶液. 最终配置的4-氨基苯甲酸浓度为 1.46×10^{-2} mol/L, 谷氨酸浓度为 4.89×10^{-2} mol/L.

2.2 实验平台搭建

传统的THz时域光谱系统(THz-TDS)不能直接满足含水生物分子的THz光谱检测, 平行平板波导中传播的TEM模式具有低损耗, 无截止频率和可忽略的群速度色散等优良特性. 无氧铜在THz波段近似完美电导体, 本文采用无氧铜为材料, 构建喇叭形渐变平行平板波导, 其平行平板部分的间距 $d = 100 \mu\text{m}$, 如图1所示. 飞秒激光入射LiNbO₃晶体所产生的THz波通过喇叭形渐变波导耦合至平行平板波导, THz波在平行平板中以TEM模式传播. 经该波导出射的THz波由探测器获得THz时域波形. 待检测的含水生物样品用移液枪滴在平行平板波导的中心位置, 较小的间距 d 可以实现THz电场的局域增强效果, 使THz波与待检测生物样品的相互作用更加充分, 从而实现微量含水样品的检测.

本文采用的整体光路如图2所示, 主要由MaiTai飞秒激光器、THz辐射源、喇叭形渐变平行平板波导和THz探测器四部分组成. 该系统采用Spectra-Physics的MaiTai XF-1型钛蓝宝石飞秒激光振荡器作为种子光源, 激光中心波长为800 nm, 脉宽约为80 fs, 重复频率80 MHz, 平均输出功率约1 W, 经激光放大器(Spitfire Ace-100F)放大后, 重复频率为Single-1 kHz, 脉宽约为

图1 (网络版彩图)喇叭形渐变平行平板波导示意图
Figure 1 (Color online) Schematic diagram of a flared gradient parallel flat waveguide.

图 2 (网络版彩图)基于波前倾斜的THz静态测量光路图. BS: 分束镜; HWP: 半波片; OPM: 离轴抛物面镜; waveguide: 平行平板波导; P: 起偏器; M: 反射镜; ITO: 氧化铟锡; QWP: 四分之一波片; WP: 沃拉斯顿棱镜; L: 透镜

Figure 2 (Color online) Optical path of terahertz sight-shot measurement system based on tilted wavefront. BS: beam splitter; HWP: half wave plate; OPM: off-axis parabolic mirror; waveguide: parallel plate waveguide; P: polarizer; M: mirror; ITO: indium tin oxide; QWP: quarter wave plate; WP: Wollaston prism; L: lens.

100 fs, 平均输出功率约为4.5 W. 飞秒激光经分束镜分为泵浦光和探测光, 对应的单脉冲能量经衰减片分别设定为2和0.02 mJ, 通过光能计(J-25MB-LE, 25 μ J–50 mJ)进行测量. 其中泵浦光经过闪耀光栅(闪耀角为28.7°, 闪耀波长为800 nm, 刻线密度为1200/mm)衍射后产生一束波前倾斜的飞秒激光脉冲, 然后照射在特定切割角度为63°的LiNbO₃晶体上, 实现在THz波出射方向上THz波与飞秒激光的波速匹配. 从而提高辐射效率, 激发出平均功率约为500 μ W的THz波. LiNbO₃晶体辐射的THz波经离轴抛物面镜OPM1准直后入射到带有喇叭形渐变结构的平行平板波导中, 利用波导中THz电场的局域增强效应, 检测微量含水生物样品. 波导出射的THz波将携带含水样品信息, 并经过离轴抛物面镜OPM2, OPM3, OPM4准直聚焦后, 由氧化铟锡玻璃(Indium Tin Oxide, ITO)反射与探测光共线垂直入射到ZnTe晶体上. 探测光经过时间延迟系统到反射镜M5, 再经过透镜L3聚焦后穿过ITO膜与携带样品信息的THz波共线垂直入射到ZnTe探测晶体上, 利用ZnTe晶体线性光电效应探测THz波, 后经过四分之一波片(QWP)和透镜L4被沃拉斯顿棱镜(WP)

分成偏振方向相互垂直的两束光, 然后利用平衡探测器探测其差分信号, 最后通过锁相放大器和计算机进行数据采集. 为了避免空气中水蒸气的影响, 整套系统放置在一个密闭的箱子里, 并充以干燥的空气使其工作环境的相对湿度小于3%, 工作环境温度保持在24°C. 此测试系统获得信噪比高于10000, 系统的光谱分辨率达到11 GHz, 频谱宽度为0.1–2.0 THz.

3 实验结果

3.1 4-氨基苯甲酸及谷氨酸溶液的THz检测

实验测量的环境温度为室温(24.2°C), 环境相对湿度维持在3%左右. 在检测样品前, 首先对空载波导(未加样品, 波导内部区域为空气)的THz传输情况进行检测, 并以其信号作为参考信号; 其次, 20 μ L的待测纯净水滴入平行平板波导部分的中心位置进行水的THz光谱检测, 用于去除含水样品中水的特征吸收峰的干扰; 最后, 滴进20 μ L的4-氨基苯甲酸或谷氨酸水溶液到纯净水相同的位置, 获得含水样品溶液的THz光谱. 图3分别是空气、纯净水、4-氨基苯甲酸以及谷氨酸

图 3 (网络版彩图)空载波导、纯净水、4-氨基苯甲酸及谷氨酸水溶液的THz光谱. (a) 时域谱图; (b) 对应的频谱图

Figure 3 (Color online) The THz spectrum of no-load waveguide, water, 4-aminobenzoic acid solution and glutamic acid solution. (a) Time-domain waveforms; (b) the corresponding frequency-domain waveforms.

水溶液透过喇叭形平行平板波导的THz时域谱图和相应的频谱图. 由空载波导的时域谱的幅值, 可以判断THz波在喇叭口渐变平行平板波导中进行低损耗传输, 结合实验, 通过计算空载波导的时域谱幅值与未加波导干燥空气的时域谱幅值的比值, 可以获得THz波在波导中的传输效率达到80%. 从图3的检测结果可见, 由于实验中样品溶液总量只有20 μL , 纯净水和4-氨基苯甲酸水溶液、谷氨酸水溶液的信号没有明显的时间延迟, 但是其时域谱的幅值随之减小, 可以证明水、4-氨基苯甲酸溶液以及谷氨酸水溶液对THz有较强的吸收作用, 并且4-氨基苯甲酸和谷氨酸水溶液的吸收作用比水更强.

3.2 4-氨基苯甲酸及谷氨酸溶液的THz吸收谱

根据比尔-郎伯定律(Beer-Lambert Law), 可以计算出样品溶液的THz特征吸收谱. 其原理是当THz波照射在吸收介质表面上, 并通过一定厚度的介质后, 由于介质吸收了部分光能, 导致透射光的强度减弱. 这种吸收程度可定量描述为

$$A = -\log_{10}\left(\frac{I_t}{I_0}\right), \quad (1)$$

其中 A 为样品溶液对THz波的吸光度, I_0 为入射光的强度, I_t 为透射光的强度. 对于4-氨基苯甲酸溶液的THz实验测试, 水的频谱强度为 I_0 , 4-氨基苯甲酸溶液及谷氨酸溶液的频谱强度为 I_t . 将二者代入式(1)中计算, 可得到4-氨基苯甲酸、谷氨酸水溶液在THz频段的特征吸收谱, 如图4和5所示.

图 4 (网络版彩图) 4-氨基苯甲酸水溶液的特征吸收谱

Figure 4 (Color online) Characteristic absorption spectrum of 4-aminobenzoic acid solution.

利用喇叭形渐变平行平板波导的局域场增强效应对4-氨基苯甲酸的水溶液进行检测, 检测结果如图4所示, 4-氨基苯甲酸水溶液在0.18, 0.99, 1.09, 1.23, 1.29, 1.35, 1.44, 1.53, 1.63和1.84 THz处有明显的特征吸收峰, 从图中可以看出纯净水在0.1–2.0 THz内的特征吸收峰分别是1.44, 1.53, 1.63, 1.78和1.84 THz等. 去除水对太赫兹波吸收的影响, 我们认为在现有水的特征吸收峰附近小于20 GHz波动范围内, 视为水的特征吸收峰. 排除这些干扰后, 最终得到4-氨基苯甲酸在0.1–2.0 THz频段特征吸收峰为0.18, 0.99, 1.09, 1.23, 1.29, 和1.35 THz.

图5是谷氨酸水溶液的THz特征吸收谱图, 从图中

图 5 (网络版彩图)谷氨酸水溶液的特征吸收谱

Figure 5 (Color online) Characteristic absorption spectrum of glutamic acid solution.

可以看到谷氨酸水溶液在1.09, 1.15, 1.30, 1.36, 1.44, 1.49, 1.68和1.95 THz处有明显的特征吸收峰。同样地, 去除纯净水的特征吸收峰的影响, 最终得到谷氨酸在0.1–2.0 THz频段特征吸收峰为1.09, 1.15, 1.30, 1.36和

1.95 THz.

4 结论

本文采用LiNbO₃晶体光整流的方法辐射THz波, 提高了THz波的辐射功率。基于喇叭形渐变平行平板波导对入射THz波的局域电场增强效应, 实现了含水生物样品的THz波吸收光谱检测, 该系统可以进行微量活细胞和含水生物大分子的无损检测, 突破了THz时域波谱技术对含水样品测试的瓶颈。实验测试了4-氨基苯甲酸及谷氨酸溶液的THz时域光谱, 获得了4-氨基苯甲酸及谷氨酸溶液在0.1–2.0 THz频段内的特征峰。实验结果表明, 在0.1–2.0 THz频谱范围内, 4-氨基苯甲酸溶液THz吸收峰分别为0.18, 0.99, 1.09, 1.23, 1.29和1.35 THz; 谷氨酸溶液的THz吸收峰分别为1.09, 1.15, 1.30, 1.36和1.95 THz。氨基酸分子水溶液THz特征吸收谱的获取为活性生物大分子或组织的深入研究提供了一种新的途径。

致谢 感谢韩家广教授和许全博士对波导的设计和制作做出的贡献。

参考文献

- 1 Yu Q, Jiang L, Zhang L. Progress in the study of terahertz spectra of amino acids (in Chinese). *Infrared Tech*, 2018, 40: 220–226 [余琦, 蒋玲, 章龙, 等. 氨基酸的太赫兹光谱研究进展. *红外技术*, 2018, 40: 220–226]
- 2 Samanta N, Das Mahanta D, Choudhury S, et al. Collective hydration dynamics in some amino acid solutions: A combined GHz-THz spectroscopic study. *J Chem Phys*, 2017, 146: 125101
- 3 Swithenbank M, Burnett A D, Russell C, et al. On-chip terahertz-frequency measurements of liquids. *Anal Chem*, 2017, 89: 7981–7987
- 4 Yang X, Zhao X, Yang K, et al. Biomedical applications of terahertz spectroscopy and imaging. *Trends Biotech*, 2016, 34: 810–824
- 5 Yang X, Yang K, Luo Y, et al. Terahertz spectroscopy for bacterial detection: Opportunities and challenges. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100: 5289–5299
- 6 Liu W, Liu Y, Huang J Q, et al. Application of terahertz spectroscopy in biomolecule detection. *Front Laboratory Med*, 2018, 2: 127–133
- 7 Liu Y S, Wu K J, Liu C L, et al. Amplification of terahertz/infrared field at the nodes of Ranvier for myelinated nerve. *Sci China-Phys Mech Astron*, 2020, 63: 274211
- 8 Wang J. Twisted optical communications using orbital angular momentum. *Sci China-Phys Mech Astron*, 2019, 62: 034201
- 9 Ling D, Zhang M, Song J, et al. Calculated terahertz spectra of glycine oligopeptide solutions confined in carbon nanotubes. *Polymers*, 2019, 11: 385
- 10 Torii T, Chiba H, Tanabe T, et al. Measurements of glucose concentration in aqueous solutions using reflected THz radiation for applications to a novel sub-THz radiation non-invasive blood sugar measurement method. *Digital health*, 2017, 3: 2055207617729534
- 11 Arora A, Luong T Q, Krüger M, et al. Terahertz-time domain spectroscopy for the detection of PCR amplified DNA in aqueous solution. *Analyst*, 2012, 137: 575–579

- 12 Cherkasova O P, Nazarov M M, Shkurinov A P, et al. Terahertz spectroscopy of biological molecules. *Radiophys Quantum Electron*, 2009, 52: 518–523
- 13 Allis D G, Prokhorova D A, Korter T M. Solid-state modeling of the terahertz spectrum of the high explosive HMX. *J Phys Chem A*, 2006, 110: 1951–1959
- 14 Nie P, Cai C, Qu F, et al. Study of 2,4-D spectral characteristics and its detection in zizania latifolia using terahertz time-domain spectroscopy. *Appl Sci*, 2019, 9: 2248
- 15 Leng W X, Li Q Y, Bao R M, et al. Characterizing the rock geological time by terahertz spectrum. *Sci China-Phys Mech Astron*, 2019, 62: 014221
- 16 Masini L, Meucci S, Xu J, et al. Terahertz probe of individual subwavelength objects in a water environment. *Laser Photonics Rev*, 2014, 8: 734–742
- 17 Brown E R, Mendoza E A, Xia D, et al. Narrow THz spectral signatures through an RNA solution in nanofluidic channels. *IEEE Sens J*, 2010, 10: 755–759
- 18 Brown E R, Zhang W, Mendoza E A, et al. Concentration methods for high-resolution THz spectroscopy of nucleic-acid biomolecules and crystals. In: *Proceedings of the Optical Interactions with Tissue and Cells XXIII*. International Society for Optics and Photonics. San Francisco, 2012. 8221: 82210S
- 19 Fu W L, Luo Y. *Terahertz Technology and Its Biological Application* (in Chinese). Beijing: People's Medical Publishing House, 2007 [府伟灵, 罗阳. 太赫兹技术及其生物学应用. 北京: 人民卫生出版社, 2007]
- 20 Liu G, Chang C, Qiao Z, et al. Myelin sheath as a dielectric waveguide for signal propagation in the mid-infrared to terahertz spectral range. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1807862

Terahertz spectral nondestructive detection of amino acid molecules in aqueous solution

SHI Wei^{1*}, WANG HaiQing¹, HOU Lei^{1*}, DONG ChenGang¹, YANG Lei¹, ZHAO HongWei², WANG ZhiQuan¹, WANG YueZheng¹ & LI ChaoFan¹

¹ Key Laboratory of Ultrafast Photoelectric Technology and Terahertz Science in Shaanxi, School of Science, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048, China;

² Shanghai Institute for Advanced Study, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China

Only in liquid environment can most biomolecules maintain their biological activity, the realization of terahertz (THz) spectrum detection of water-bearing biomolecules has an important application value for the research of the function and structure of active biomolecules and non-invasive biomedical detection. In this paper, by using the THz radiation source generated by LiNbO₃ light rectification, and combining with the local electric field enhancement effect of the flared gradient parallel flat waveguide, we have built a THz time domain spectral measurement system that can detect the trace amounts of living cells and aqueous biomolecules, which can implement THz spectral detection of 4-aminobenzoic acid and glutamic acid in solution. The results show that 4-aminobenzoic acid and glutamic acid in aqueous solution have obvious and unique characteristic absorption peaks in the frequency band of 0.1–2.0 THz when the effect of water on THz wave absorption is removed. The acquisition of characteristic absorption spectrum of amino acid aqueous solution in THz frequency band lays a foundation for the detection of active biological macromolecules or tissues.

terahertz spectral measurement, parallel plate waveguide, 4-aminobenzoic acid, glutamic acid aqueous

PACS: 87.64.-t, 87.15.H-, 87.15.M-, 87.50.U-, 87.63.-d

doi: 10.1360/SSPMA-2020-0279