

氨基酸官能团的太赫兹振动模式研究

燕芳, 李伟*, 王志春

内蒙古科技大学信息工程学院, 内蒙古 包头 014010

摘要 对比于氨基酸的红外分析法, 太赫兹波的电子能量更低, 可实现无损检测。氨基酸分子内原子振动、分子间氢键的作用、以及晶体中晶格的低频振动均处于太赫兹波段, 使其在太赫兹波段具有吸收峰, 且不同的氨基酸分子太赫兹吸收峰不同, 故可用氨基酸在太赫兹波段的这种“指纹特性”实现氨基酸类物质的定性分析。量子化学分析方法可以应用量子力学的基本原理和方法, 研究稳定和不安定分子的结构、性能及其之间的关系, 还可以针对分子与分子间的相互作用、相互碰撞及相互反应等问题进行研究。通过量子化学计算方法计算氨基酸分子的太赫兹吸收谱, 可以为氨基酸分子的太赫兹吸收峰匹配分子振动模式, 对氨基酸定性分析有一定参考性与指向性, 并为实验获取的样品太赫兹时域光谱提供理论支撑, 在实验获得太赫兹吸收谱的基础上进行量子化学计算, 还能为实验结果进行验证。首先利用太赫兹时域光谱技术获取了谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸的太赫兹吸收谱, 分别构建这三种氨基酸样品在实物中以两性离子形式存在的单分子构型, 利用量子化学计算方法在完成结构优化后进行太赫兹吸收谱模拟计算。计算结果表明三种氨基酸单分子的太赫兹吸收谱计算结果与实验获取的太赫兹吸收谱差异较大, 但在高频段吸收峰峰位基本吻合。通过 GaussView 分别查看了这三种氨基酸分子在太赫兹段内的吸收峰对应频率处的振转情况, 发现在高频段内三种氨基酸分子官能团均只发生转动而未见振动, 并且转动模式基本一致。通过对氨基酸官能团的太赫兹吸收谱进行量子化学计算, 将官能团在高频段内吸收峰对应频率处的振转模式与三种氨基酸分子在该段内吸收峰对应频率处的振转模式做了对比。研究表明, 在氨基酸单分子构型下由量子化学方法计算所得的太赫兹吸收谱中, 高频段内计算得出的模拟吸收峰与实验获取的太赫兹吸收峰基本吻合; 振转模式分析发现, 谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸在太赫兹高频段内的氨基酸官能团振转模式相同, 三种氨基酸分子在高频段内的吸收峰主要来源于氨基酸官能团。因此, 结合量子化学计算与太赫兹吸收谱可以实现氨基酸类物质的定性分析。

关键词 太赫兹吸收谱; 氨基酸; 量子化学; GaussView; 吸收峰

中图分类号: TP391.9 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)02-0397-06

引言

太赫兹波的能量介于光子和电子之间, 能穿透非金属和非极性材料, 使太赫兹时域光谱技术 (THz-TDS) 作为无损检测的一项新兴技术手段成为可能。许多生物分子的集体振转模式位于太赫兹波段, 使生物分子在太赫兹波段具有指纹性, 获得待测物质的太赫兹吸收谱后, 与标准谱进行对照可以实现对待测物质的定性分析。在此基础上, 结合最小二乘法、支持向量机等数据处理技术还可以实现基于太赫兹时域光谱对待测物质的定量分析。

构成蛋白质的二十种氨基酸与生命活动紧密相关, 王卫宁等^[1]研究发现, 氨基酸类物质在实验的有效光谱范围内, 具有各自的特征吸收, 因此可以利用太赫兹时域光谱技术定性鉴别物质, 并对精氨酸、组氨酸的太赫兹吸收谱与分子间集体振转模式的对应关系做了相关研究。

目前的量子化学分析计算在国际上广泛使用 Gaussian03 软件。Gaussian03 基于从头算理论、半经验法和密度泛函等计算方法, 在气相范围内研究分子结构及能量、分子间作用力、IR 和拉曼光谱等具有突出优势^[2]。研究生物分子太赫兹吸收峰的归属, 多采用密度泛函理论, 为不同的分子匹配不同的算法、不同的基组 (如杂化泛函算法、6-311G++基组) 计

收稿日期: 2018-12-26, 修订日期: 2019-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (61463041), 内蒙古自然科学基金项目 (2018MS06020) 资助

作者简介: 燕芳, 1980年生, 内蒙古科技大学信息工程学院副教授 e-mail: 0472yanfang@163.com

* 通讯联系人 e-mail: yjsumu@163.com

算生物分子的红外振动谱,为在红外谱内提取的太赫兹谱做简正振动分析,对分子结构内振转与太赫兹吸收峰做出指认。

在对氨基酸样品的太赫兹吸收谱计算中,为了分析与样品更为接近的构型,应选择全面反映分子间作用力的晶胞构型作为计算的初始构型。而晶胞构型计算对数据处理器的要求偏高,同时运算时间较长(30 h 以上),限于以上缺点该方法对于大量样品的计算适用性不强。本文通过对三种氨基酸样品单分子构型的分析,找到了吸收峰所在频率对应的原子或原子团振转模式的一致规律,可以为氨基酸类物质的太赫兹定性分析提供一定的参考。

1 样品实验部分

利用透射式太赫兹时域光谱系统获取谷氨酰胺、苏氨酸和组氨酸样品的太赫兹吸收谱,设备详细描述见文献。通过在密闭的实验光路中充满氮气来降低环境湿度对太赫兹波的吸收^[3],测试温度为室温 25 °C。吸收谱的获取参照了 Dorney 等^[4]提出的方法。

为了降低颗粒度差异引起的太赫兹波散射,实验所用谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸样品经充分研磨后加入 120 mg 聚乙烯粉末混合,以 8 MPa 压力冲压成片,样片厚度约 0.9 mm,直径 13 mm。

实验中,分别记录太赫兹光路中有无样品时的时域信号作为样品信号和参考信号,为了减小 THz-TDS 系统测量时域样品信号和参考信号的误差,每种样品均测量三次后取其平均值。然后对时域测量结果做傅里叶变换,样品信号傅里叶变换结果记为 $E_{\text{sam}}(\omega)$,参考信号傅里叶变换结果记为 $E_{\text{ref}}(\omega)$ 。取 $E_{\text{sam}}(\omega)$ 和 $E_{\text{ref}}(\omega)$ 比值的幅频特性和相频特性,如式(1)和式(2)所示

$$\frac{|E_{\text{sam}}(\omega)|}{|E_{\text{ref}}(\omega)|} = \frac{4n}{(1+n)^2} \exp\left(-\frac{ad}{2}\right) \quad (1)$$

$$\phi(\omega) = -(n-1) \frac{\omega d}{c} \quad (2)$$

其中: d 为样品厚度, c 为光速, ω 为角频率, $\phi(\omega)$ 为相位差。折射率 $n(\omega)$ 和吸收系数 $\alpha(\omega)$ 为

$$n(\omega) = 1 - \frac{c}{\omega d} \phi(\omega) \quad (3)$$

$$\alpha(\omega) = -\frac{d}{2} \ln \left\{ \frac{|E_{\text{sam}}(\omega)|}{|E_{\text{ref}}(\omega)|} \frac{[n(\omega)+1]^2}{4n(\omega)} \right\} \quad (4)$$

由式(4)即可计算出样品的太赫兹吸收谱。

2 量子化学分析

量子化学分析计算在 Gaussian03 软件中进行,采用密度泛函理论中的杂化泛函理论,为不同分子选用了不同基组,首先,对谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸样品进行单分子构型计算,为了对氨基酸类物质进行定性分析,还构建了氨基酸官能团的模型并进行了相应的量子化学计算。

2.1 谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸单分子构型计算

氨基酸在固体样品中以两性离子形式存在,故将对谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸单分子的两性离子进行计算分析。分

子构型在 ChemDraw 中绘制,导出分子结构的笛卡尔坐标并导入 Gaussian03 进行运算。因两性离子带正负两性电荷,故选用 6-311G++(d, p)基组,同时采用基于 B3LYP 杂化泛函的密度泛函理论做构型优化^[5],最后进行 IR 计算。由于太赫兹波处于远红外波段,故太赫兹吸收谱需在 IR 的远红外段提取。图 1(a), (b) 和(c)分别为谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸两性离子形式存在的单分子构型。

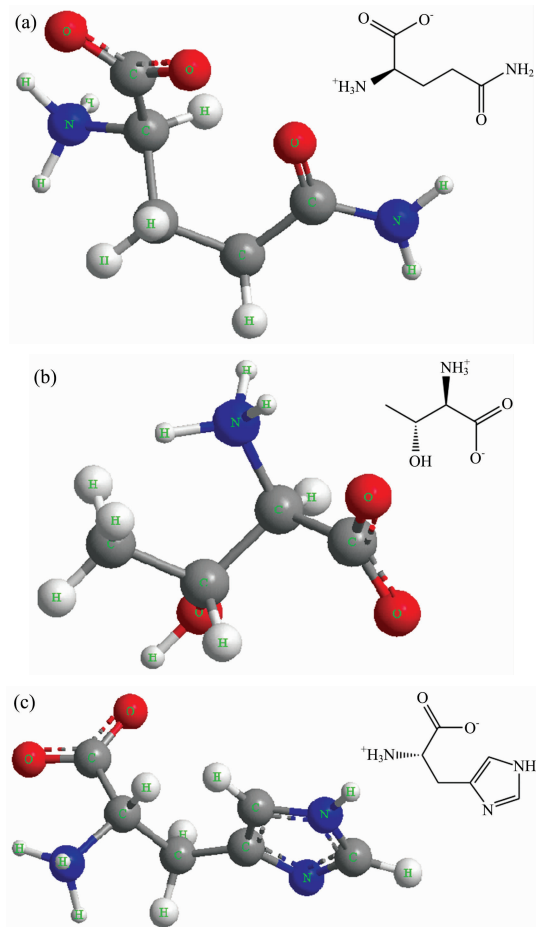


图 1 三种氨基酸样品的单分子构型

(a): 谷氨酰胺单分子构型; (b): 苏氨酸单分子构型; (c): 组氨酸单分子构型

Fig. 1 Single molecular configuration of three amino acid samples

(a): Single molecular configuration of glutamine; (b): Single molecular configuration of threonine; (c): Single molecular configuration of histidine

三种样品的单分子构型在量子化学计算过程中,选用的运算理论与基组均相同,计算机时与收敛迭代次数限于原子个数、分子空间结构和数据处理器配置。三种样品的计算机时和收敛迭代次数示于表 1,计算所用数据处理器配置为 2.6 GHz 主频,单核四线程,缓存数据存储为 128 G 固态硬盘(SSD)。

2.2 氨基酸官能团单分子构型计算

王卫宁等指出,发展较为成熟的红外吸收谱的构成是由

表 1 计算机时及收敛迭代次数

Table 1 Computing time and convergence iteration number

编号	名称	计算机时/h	收敛迭代次数/次
1	谷氨酰胺	26	89
2	苏氨酸	17	70
3	组氨酸	31	115

固定的原子或原子基团的峰位、峰形支撑的。也就是说,各原子或原子基团有特定的红外吸收峰位和峰形。保持氨基酸类物质化学通性的最小基团为氨基酸官能团,为了探索太赫兹吸收谱是否具有和红外吸收谱相类似的性质,研究氨基酸官能团在太赫兹波段是否具有固定峰位,本文构建了氨基酸官能团的单分子模型,计算了氨基酸官能团的太赫兹吸收谱。

氨基酸官能团由一个氨基和一个羧基构成,为了与氨基酸固体样品做出更精确的对照,将氨基酸官能团也绘制成两性离子。而且,绘制了含 R 基和不含 R 基两种结构,其中含 R 基结构用一个氢(H)原子取代 R 基,不含 R 基为 C⁻带电荷形式。计算过程与三种样品的单分子计算类似,由 ChemDraw 绘制分子构型,导出笛卡尔坐标后,在 Gaussian03 中进行优化和 IR 计算。其中氢原子取代 R 基的氨基酸官能团选用 6-311G++(d, p)基组,而不含 R 基的氨基酸官能团带两个单位负电荷和一个单位正电荷,在基组选择时考虑到不含 R 基的氨基酸官能团电荷个数为 3,但依然带两性电荷,故仍然选用 6-311G++(d, p)基组。图 2(a)和(b)分别为含 R 基和不含 R 基氨基酸官能团的单分子构型。

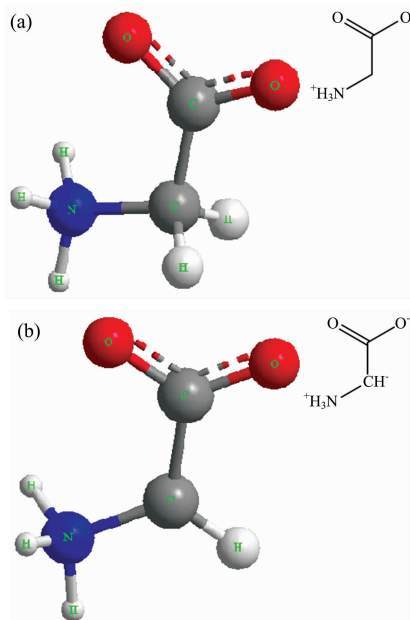


图 2 氨基酸官能团的单分子构型

(a): 含 R 基氨基酸官能团; (b) 不含 R 基氨基酸官能团

Fig. 2 Single molecular configuration of amino acid functional groups

(a): Functional groups containing R-based amino acids;

(b): Functional groups without R-based amino acids

3 结果与讨论

利用量子化学分析软件计算 IR 后,在远红外波段(波数 3~333 cm⁻¹)提取太赫兹吸收谱,由于实验所用仪器精度所限,3 THz 后的实验数据受环境因素影响较大,故只提取 3 THz(波数 3~100 cm⁻¹)之前的计算数据与有效的实验数据进行对比。

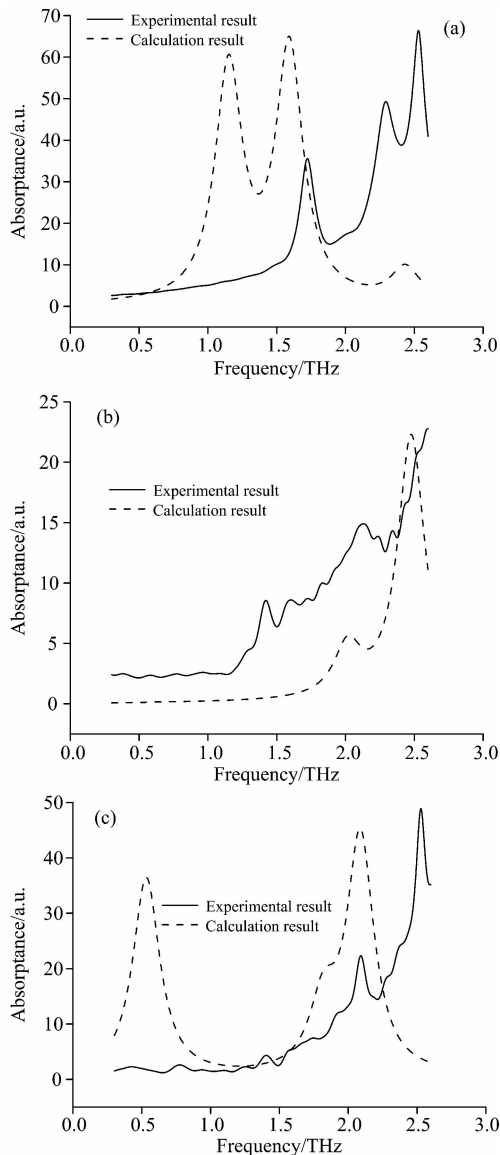


图 3 三种氨基酸的实验和计算数据对比

(a): 谷氨酰胺实验谱与计算谱对比;

(b): 苏氨酸实验谱与计算谱对比;

(c): 组氨酸实验谱与计算谱对比

Fig. 3 Comparison of experimental and computational data for three amino acids

(a): Comparison of experimental and computational spectra of glutamine; (b): Comparison of experimental and computational spectra of threonine; (c): Comparison of experimental and computational spectra of histidine

3.1 样品实验结果与计算结果对比

图 3(a), (b)和(c)中分别对比了三种氨基酸分子的实验谱和由量子化学计算获得的模拟谱。

对比发现, 每种氨基酸由量子化学计算获得的模拟谱在高频段内的吸收峰与实验谱基本一致, 而低频段吸收峰的峰位和峰形均与实验谱有较大差距。这是由于氨基酸单分子构型的计算仅提供了分子内部原子及原子基团在太赫兹频段内的振转结果, 没有体现物质内分子间的氢键及范德华力作用, 而分子间氢键及范德华力的作用在太赫兹频段内的振转结果集中体现于实验获得的太赫兹吸收谱低频段内。

3.2 氨基酸官能团的计算结果

不含 R 基的氨基酸官能团整体电性为一个单位负电荷, 在体系中不稳定, 自然界中不存在, 量子化学优化结果不收敛(找不到体系能量最低点), 5 THz 以下的太赫兹频段未见

吸收峰, 5.3 THz 时出现第一个吸收峰。含 R 基的氨基酸官能团整体为电中性, 可以找到体系总最低点, 2.8 THz 时出现第一个太赫兹吸收峰, 但由氢原子取代 R 基的官能团只能保持氨基酸的部分理化性质。

研究发现三种氨基酸样品的实验谱与模拟谱在 2~3 THz 基本吻合, 含 R 基官能团在 2.8 THz 也出现吸收峰。为了讨论氨基酸类物质 2~3 THz 的吸收峰是否由氨基酸官能团内原子的振转提供, 接下来为三种样品单分子构型和 H-氨基酸官能团单分子构型在 2~3 THz 内吸收峰对应频率的振转模式做了指认。

3.3 含 R 基氨基酸官能团的太赫兹振动模式

由于 H-氨基酸官能团不能完全代表实际氨基酸官能团的理化性质, 对 H-氨基酸官能团与谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸在 2~3 THz 内的振转模式的指认如图 4 所示。

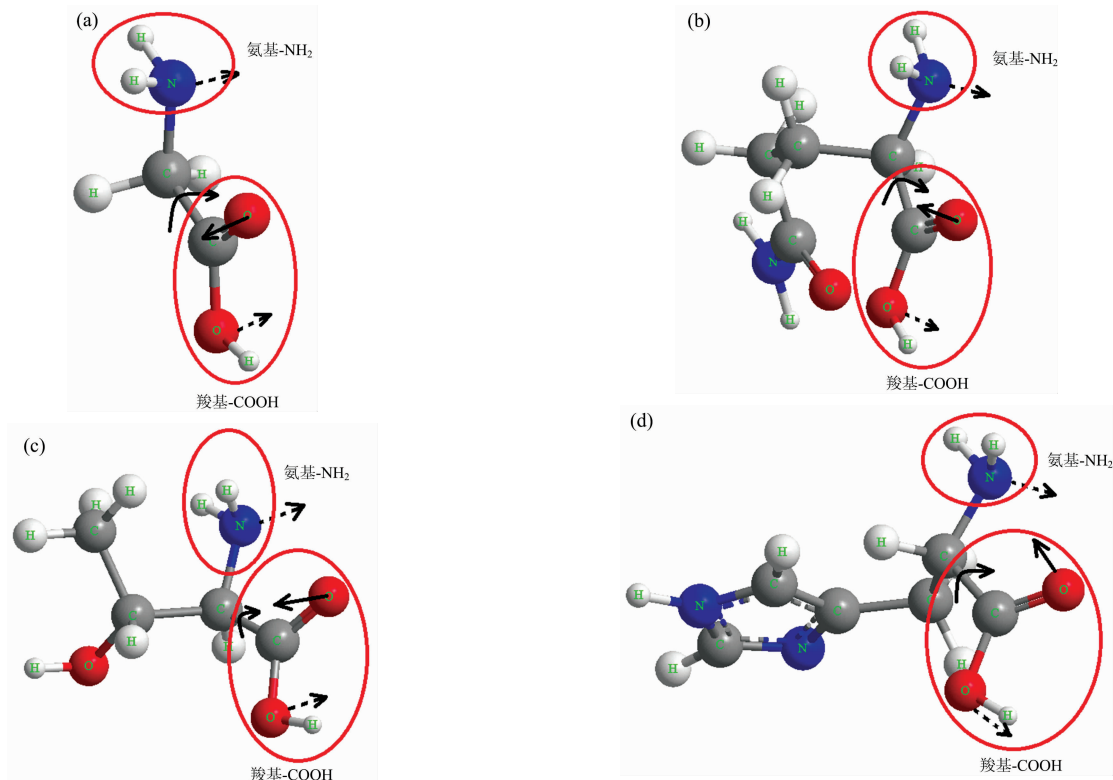


图 4 氨基酸官能团振转模式指认

- (a): H-氨基酸官能团 2.8 THz 振转图; (b): 谷氨酰胺内官能团 2.41 THz 振转图;
(c): 苏氨酸内官能团 2.49 THz 振转图; (d): 组氨酸内官能团 2.09 THz 振转图

Fig. 4 Identification of oscillation and rotation patterns of amino acid functional groups

- (a): 2.8 THz oscillation diagram of the internal functional groups of H-amino acid;
(b): 2.41 THz oscillation diagram of the internal functional group of glutamine;
(c): 2.49 THz oscillation diagram of the internal functional group of threonine;
(d): 2.09 THz oscillation diagram of the internal functional group of histidine

指认结果显示, 在该频段内氨基酸官能团不发生振动, 只存在 C—C 键旋转, 旋转角约为 60° 。C—C 键旋转使氨基由图示位置顺时针转动, 羧基由图示位置逆时针转动。

4 结论

谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸单分子构型的太赫兹吸收谱计算结果在 2~3 THz 段内的吸收峰与实验吸收谱在该频段

的结果基本一致, 但其他吸收峰差距较大, 表明样品的太赫兹吸收谱是分子内原子及原子团作用、分子间氢键及范德华力作用的集中体现。另外, 含 R 基氨基酸官能团在 2~3 THz 段的吸收峰为 2.8 THz, 而且在该段内, 含 R 基官能团

振动模式与谷氨酰胺、苏氨酸、组氨酸官能团振转模式只发现 C—C 键的旋转。氨基酸官能团在 2~3 THz 段内的振转是氨基酸类物质在该段内吸收峰的主要来源, 据此可以实现氨基酸类物质的定性指认。

References

- [1] WANG Wei-ning, LI Yuan-bo, YUE Wei-wei(王卫宁, 李元波, 岳伟伟). Acta Physica Sinica(物理学报), 2007, 56(2): 781.
- [2] WANG Guang-qin, LI Ning, SHEN Jing-ling(王光琴, 李 宁, 沈京玲). Journal of Capital Normal University • Natural Science Edition (首都师范大学学报 • 自然科学版), 2007, 28(3): 27.
- [3] YAN Fang, ZOU Liang-hui, WANG Zhi-chun, et al(燕 芳, 邹粮徽, 王志春, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2018, 38(4): 1044.
- [4] Duvillaret L, Garet F, Coutaz J L. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 1996, 2(3): 739.
- [5] Wong M W. Chemical Physics Letters, 1996, 256(4): 391.

Study of Terahertz Vibration Modes of Amino Acid Functional Groups

YAN Fang, LI Wei*, WANG Zhi-chun

School of Information Engineering, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou 014010, China

Abstract Compared with the infrared analysis of amino acids, terahertz wave has lower electronic energy and can be used for nondestructive testing. The intramolecular atomic vibration, the intermolecular hydrogen bond and the low-frequency vibration of the crystal lattice of amino acids are all in terahertz band, which makes them have absorption peaks in terahertz band, and different amino acid molecules have different Terahertz Absorption peaks. Therefore, this fingerprint characteristic of amino acids in terahertz band can be used for qualitative analysis of amino acids. Quantum chemical analysis methods can apply the basic principles and methods of quantum mechanics to study the structure, properties and relationships of stable and unstable molecules. It can also study the interactions, collisions and reactions between molecules. The Terahertz Absorption Spectra of amino acids can be calculated by quantum chemical calculation method, which can match the molecular vibration mode of the terahertz absorption peaks of amino acids. It has certain reference and directivity for the qualitative analysis of amino acids, and provides theoretical support for the terahertz time domain spectra of samples obtained from experiments. Quantum chemical calculation is carried out on the basis of the terahertz absorption spectra obtained from experiments. It can also validate the experimental results. In this paper, Terahertz Absorption Spectra of glutamine, threonine and histidine were obtained by terahertz time-domain spectroscopy. The monomolecular configurations of these three amino acids in the form of amphoteric ions were constructed respectively. The Terahertz Absorption spectra were simulated by quantum chemical calculation method after the structural optimization was completed. The calculated results showed that the Terahertz Absorption Spectra of three amino acids are quite different from those obtained by experiments, but the peak positions at high frequencies are basically the same. GaussView was used to observe the vibration and rotation of the absorption peaks of the three amino acids at the corresponding frequencies in the terahertz band. It was found that the functional groups of the three amino acids only rotated without vibration in the high frequency band, and the rotation modes were basically the same. The Terahertz Absorption Spectra of amino acid functional groups were calculated quantum chemistry. The vibration and rotation patterns of functional groups at the corresponding frequencies of the absorption peaks in the high frequency band were compared with those of three amino acid molecules at the corresponding frequencies of the absorption peaks in the high frequency band. The results showed that in the terahertz absorption spectra calculated by quantum chemistry method under the single molecular configuration of amino acids, the simulated absorption peaks calculated in the high frequency band are basically consistent with the experimental Terahertz Absorption peaks. Vibration mode analysis showed that the vibrational modes of amino acid functional groups of glutamine, threonine and histidine were the same in the terahertz high frequency band. The absorption peaks of the three amino acid molecules in the high frequency band mainly came from amino acid functional groups. Therefore, the qualitative analysis of amino acids can be realized by combining quantum chemical calculation with Terahertz Absorption spectrum.

Keywords Terahertz absorption spectrum; Amino acids; Quantum chemistry; GaussView; Absorption peak

* Corresponding author

(Received Dec. 26, 2018; accepted Mar. 29, 2019)

《光谱学与光谱分析》投稿简则

《光谱学与光谱分析》是由中国科协主管,中国光学学会主办,钢铁研究总院、中国科学院物理研究所、北京大学、清华大学共同承办的专业学术期刊。国内外公开发行人,从 2004 年起为月刊,大 16 开本,2020 年仍为月刊,每期 332 页。《光谱学与光谱分析》主要报道我国光谱学与光谱分析领域内具有创新性科研成果,及时反映国内外光谱学与光谱分析的进展和动态;发现并培育人才;推动和促进光谱学与光谱分析的发展。为科教兴国服务。读者对象为从事光谱学与光谱分析的科研人员、教学人员、分析测试人员和科研管理干部。

栏目设置和要求

1. 研究报告 要求具有创新性的研究成果,一般文章以 8000 字(包括图表、参考文献、作者姓名、单位和中文、英文摘要,下同)为宜。
2. 研究简报 要求在前人研究的基础上有重大改进或阶段性研究成果,一般不超过 5000 字。
3. 评述与进展 要求评述国内外本专业的发展前沿和进展动态,一般不超过 10000 字。
4. 新仪器装置 要求介绍新型光谱仪器的研制、开发、使用性能和应用,一般不超过 5000 字。
5. 来稿摘登 要求测试手段及方法有改进并有应用交流价值,一般以 3000~4000 字为宜。

稿件要求

1. 投稿者请经本刊编委(或历届编委)一人或本专业知名专家推荐,并附单位保密审查意见及作者署名顺序,主要作者介绍。文章有重大经济效益或有创新者,请说明,同时注明受国家级基金或国家自然科学基金资助情况。
2. 来稿要观点明确、数据真实可靠、层次分明、言简意明、重点突出。来稿必须是网上在线投稿(含各种符号和外文字母大写、小写、正体、斜体;希腊字母、拉丁字母;上角、下角标位置应标清楚)。中文摘要以 800 字为宜,英文摘要(建议经专业英语翻译机构润色)与中文摘要要对照;另附关键词。要求来稿应达到“齐、清、定”,中文、英文文字通顺,方可接受送审。
3. 为了进一步统一和完善投稿方式、缩短论文发表周期,本刊只接收网上在线投稿,不接收以邮寄方式或 e-mail 方式的投稿,严禁“一稿多投”,对侵权、抄袭、剽窃等学术不端行为,一经发现,取消三年投稿资格。
4. 文中插图要求完整,图中坐标、线条、单位、符号、图注等应标注准确、完整。如作者特殊要求需出彩色插图者,必须在投稿时事先加以说明,并承担另加的彩印费用。图幅大小:单栏图 7.5cm(宽)×6cm(高);双栏图:14cm(宽)×6cm(高);图中数字、图题、表题全部用中文、英文对照,图中数字、中文、英文全用 6 号字。电子文档中除实物图外,曲线图要用 Matlab, Excel, Visio 或 Origin 等软件制作,稿件中图片的原图并转成相应(可编辑)的文件格式(.fig, .xls, .vsd, .opj),非“.jpg”格式的文档,随电子版修改稿一同发送到本刊的修改稿专用邮箱。
5. 文中出现的单位必须按“中华人民共和国计量标准”及有关 GB 标准规定缮写。物理量符号一律用斜体,单位符号和词头用正体字母。
6. 名词术语,请参照全国科学技术名词规定缮写。
7. 参考文献,采用顺序编码制,只列主要文献;以 15~20 条为宜。内部资料、私人通讯、未经公开发表的一律不能引用。日文、俄文等非英文文献,请用英文表述;中文文献和中文图书采用中、英文对照表述,文献缮写格式请参照本刊。
8. 请在投稿第一页左下角写明投稿联系人的电话和两个 e-mail,以便及时联系。

稿件处理

1. 自收到稿件之日起,一个月内作者会收到编辑部的稿件处理意见。请根据录用通知中所提出的要求认真修改,希望修改稿在 30 天内寄回编辑部,并作为作者最终定稿(当作者接到校样时,以此修改稿为准进行校对,请勿再做大的改动),若二个月内编辑部没收到修改稿,将视为自行撤稿处理。
2. 有重大创新并有基金资助者可优先发表;不录用的稿件,编辑部将尽快通知作者,底稿一律不退,请自留底稿。
3. 来稿一经发表将酌致稿酬并送样刊 2 册。
4. 遵照《中华人民共和国著作权法》,投稿作者须明确表示,该文版权(含各种媒体的版权)授权给《光谱学与光谱分析》期刊社。国内外各大文献检索系统摘录本刊刊出的论文;凡不同意被检索刊物无稿酬摘引者,请在投稿时事先声明,否则,本刊一律认为已获作者授权认可。
5. 修改稿请寄:100081 北京市海淀区学院南路 76 号(南院西北门),《光谱学与光谱分析》期刊社(收)
电话:010-62182998 或 62181070 传真:010-62181070
e-mail: chngpxygpfx@vip.sina.com; 修改稿专用邮箱: gp2008@vip.sina.com 网址: http://www.gpxygpfx.com