

〈太赫兹技术〉

## 基于太赫兹辐射的甘草主成分光谱分析

燕芳<sup>1</sup>, 张俊林<sup>1</sup>, 刘成毫<sup>1</sup>, 于洋<sup>2,3</sup>

(1. 内蒙古科技大学 信息工程学院, 内蒙古 包头 014010; 2. 北京科技大学 自动化学院, 北京 100083;  
3. 北京市工业波谱成像工程技术研究中心, 北京 100083)

**摘要:** 采用透射式太赫兹时域光谱系统测试了甘草主成分甘草酸、甘草次酸以及甘草苷的太赫兹光谱, 发现甘草酸、甘草次酸以及甘草苷在 0.3~1.72 THz 频段内具有明显的吸收特征, 此频段内它们的太赫兹吸收峰峰位接近、吸收谱谱线相似。利用量子化学方法模拟甘草酸的太赫兹吸收谱, 并与实验谱进行对比指认完成对 3 种单质的定性分析工作。本文分别采用基于 DFT 和 PM3 模型, 完成对甘草酸单分子构型的结构优化与频率计算。结果表明, 两种方法得到的太赫兹模拟吸收峰与实验吸收峰基本吻合, 而且基于 DFT 模型得到的太赫兹模拟吸收谱波形与实验谱更为接近。最后选取了甘草酸的特征吸收峰 1.655 THz 及其附近 6 个数值点的太赫兹吸收系数, 将其取平均值后与浓度进行了一元线性回归拟合, 拟合结果从理论上验证了甘草酸太赫兹吸收谱符合朗伯比尔定律。

**关键词:** 太赫兹时域光谱; 甘草酸; 一元线性回归; 量子化学

**中图分类号:** O657.3      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1001-8891(2021)03-0279-05

## Principal Component Spectrum Analysis of Licorice Based on Terahertz Radiation

YAN Fang<sup>1</sup>, ZHANG Junlin<sup>1</sup>, LIU Chenghao<sup>1</sup>, YU Yang<sup>2,3</sup>

(1. School of Information Engineering, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China;  
2. School of Automation, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China;  
3. Beijing Industrial Spectrum Imaging Engineering Technology Research Center, Beijing 100083, China)

**Abstract:** In this study, a transmission terahertz time-domain spectrum system was used to test the terahertz spectra of glycyrrhizic acid, glycyrrhetic acid, and glycyrrhizin as the main components of glycyrrhiza (licorice). The characteristics of these licorice constituents and their terahertz absorption peaks were found to be close to each other and their absorption spectra were similar. A quantum chemistry method was used to simulate the terahertz absorption spectrum of glycyrrhizic acid; this spectrum was then compared with the experimental spectrum to perform a qualitative analysis of the three elements. In this study, based on the density functional theory (DFT) and PM3 models, a single molecular configuration of glycyrrhizic acid was introduced for structural optimization and frequency calculation. The results showed that the terahertz simulated absorption peaks obtained by the two methods coincided with the experimental absorption peaks, and the terahertz simulated absorption spectrum waveforms obtained based on the DFT model were closer to those of the experimental spectrum. Finally, the characteristic absorption peak of glycyrrhizic acid at 1.655THz and the terahertz absorption coefficients of six nearby numerical points were selected, and the average value was used to perform a one-dimensional linear regression fitting with the concentration. The fitting results verified the licorice theoretically, and the acid terahertz absorption spectrum conformed to Lambert's law.

**Key words:** terahertz time-domain spectroscopy, glycyrrhizic acid, univariate linear regression, quantum chemistry

收稿日期: 2020-04-30 ; 修订日期: 2020-12-30.

作者简介: 燕芳 (1980-), 女, 副教授, 博士, 主要研究领域为太赫兹技术及应用。E-mail: 0472yanfang@163.com。

通信作者: 张俊林 (1994-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为太赫兹时域光谱技术。E-mail: zhangjunlin88888@163.com。

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)

## 0 引言

近年来,太赫兹时域光谱技术在药物检测方面展现出无与伦比的优势。Zhang 等<sup>[1]</sup>获取了不同比例混合的金胺 O 粉末与蒲黄太赫兹光谱数据,并采用 2DCOS-PLSR 模型预测样品中金胺 O 粉末含量。逯美红等<sup>[2]</sup>以盐酸罂粟碱为研究对象,利用密度泛函理论计算其振动频率,并在此基础上讨论其分子构象和振动模式。周永军等<sup>[3]</sup>验证了太赫兹光谱在中药材鉴别中的可行性。刘晓庆等人<sup>[4]</sup>利用太赫兹时域光谱系统获得纯青霉素钠以及来自 3 个不同厂商的阿莫西林胶囊在 0.2~1.4 THz 波段的吸收光谱,分析了样品质量与吸收峰的关系。Wang 等<sup>[5]</sup>建立了一种绿色、无损的基于太赫兹指纹峰的膳食补充剂中 L-组氨酸和  $\alpha$ -乳糖的快速原位分析方法。刘丽萍等<sup>[6]</sup>将 THz-TDS 技术与量子化学计算软件 Materials Studio 相结合,检测并分析了天麻胶囊和天麻素,并对天麻素的吸收峰进行了振动模式分析。Chen<sup>[7]</sup>的研究结果提示甘草酸是潜在的抗 COVID-19 的化合物。申美伦等<sup>[8]</sup>归纳了甘草中甘草酸、甘草次酸的提取和分离纯化方法。丁玲等<sup>[9]</sup>证实了 HPLC (high performance liquid chromatography) 法测得甘草中甘草酸、甘草苷含量与利用可见-短波红外技术结合 PLS (partial least-square) 回归模型预测得到的数据相关性较高。

本文实验测得甘草酸、甘草次酸与甘草苷单质的太赫兹光谱,运用 Gaussian09 计算甘草酸单分子的太赫兹吸收谱,最后采用一元线性回归模型预测甘草酸浓度。

## 1 实验分析

### 1.1 实验仪器

本实验所用仪器为北京市工业波谱成像工程技术研究中心的透射式 THz-TDS 平台<sup>[10]</sup>实验前将干燥的氮气充入密闭的太赫兹光路中,将湿度降低至 7% 以下才开始实验数据采集,并保证实验进行中样品室及密闭光路系统的湿度始终小于 7%,温度保持在约 20℃。

### 1.2 样品制备

甘草酸、甘草苷与甘草次酸性状相似,均为白色粉末。本文实验中均选取纯度大于 98% 高纯度粉末状样品,其中甘草酸、甘草次酸购买于北京百灵威科技有限公司,甘草苷购置于南京秋实生物科技有限公司,聚乙烯购于 Sigma-Aldridge。

根据表 1 样品配比,将适量的样品粉末和聚乙烯粉末倒入玛瑙研钵,并混合均匀。然后,将混合后的粉末送入内径 13 mm 的压片模具,由压片机以 6 MPa 的压强压制 3 min 制备成直径约 13 mm,厚度约 1 mm 的圆柱形样片,取出后送入样品干燥柜中备用。按照上述方法,每种样品配置 5 组,将 5 组样品的测量数据取平均值,得到最终的太赫兹吸收光谱。

### 1.3 数据处理

首先,分别记录太赫兹光路中的样品信号  $E_{\text{sam}}(t)$  与参考信号  $E_{\text{ref}}(t)$ 。然后进行傅里叶变换得到对应的频域信号  $E_{\text{sam}}(\omega)$  与  $E_{\text{ref}}(\omega)$ ,代入吸收系数计算公式 (1)、(2),得到样品的太赫兹吸收光谱<sup>[11-12]</sup>。

$$n_s(\omega) = 1 + \frac{c}{\omega d} \varphi(\omega) \quad (1)$$

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

表 1 样品配比信息 Table 1 Sample Mixing Information

Sample	Sample number	Powder/mg	Pill weight/mg	Thickness/mm	Sample proportion/%
Glycyrrhizic acid (gcs)	gcs1	152.7	144.3	1.3	40
	gcs2	157.4	152.7	1.4	40
	gcs3	162.9	153.2	1.42	40
	gcs4	159.6	154.2	1.4	40
	gcs5	143.5	122.8	1.1	40
Liquiritin (gcg)	gcg1	157.8	152.3	1.3	45
	gcg2	159.5	152.8	1.32	45
	gcg3	162.6	154.8	1.3	45
	gcg4	157.4	149.2	1.28	45
	gcg5	134.7	126.6	1.1	45
Glycyrrhetic acid (gccs)	gccs1	155.9	150.6	1.3	45
	gccs2	160.0	143.4	1.32	45
	gccs3	163.2	157.4	1.4	45
	gccs4	160.4	151.8	1.4	45
	gccs5	158.9	151.3	1.44	45

式中： $\omega$ 是角频率； $c$ 为真空中光速； $d$ 为样品厚度； $\Phi(\omega)$ 参考信号与样品信号的相位差， $|E_{\text{sam}}|$ 、 $|E_{\text{ref}}|$ 分别为样品信号和参考信号的频域幅值。 $n_s(\omega)$ 为样品折射率， $a(\omega)$ 为样品吸收系数。

## 2 结果讨论

### 2.1 实验谱分析

图1中3种样品的吸收谱线均随频率增加呈不断上升的趋势，且甘草酸、甘草苷及甘草次酸的吸收谱线形状相似，但吸收峰位与强度有明显差别。3种单质的太赫兹吸收峰位参见表2。

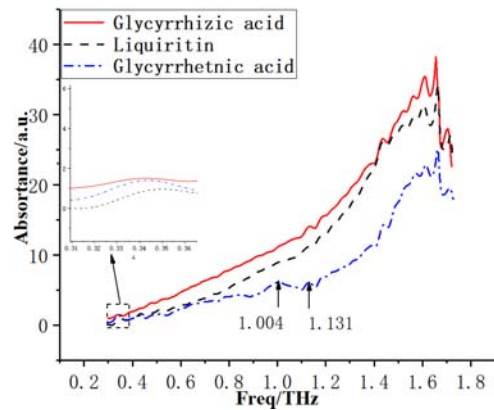


图1 三种单质的太赫兹吸收谱

Fig.1 THz absorption spectrum of three simple substances

表2 三种样品吸收峰位

Table 2 Peak absorption of three samples

No.	THz								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Glycyrrhizic acid (gcs)	1.131	1.440	1.561	1.610	1.655	1.704	-	-	-
Liquiritin (gcg)	0.349	0.433	1.437	1.518	1.564	1.606	1.662	1.714	-
Glycyrrhetic acid (gccs)	0.342	0.427	1.004	1.131	1.44	1.574	1.613	1.662	1.714

观察图1虚线框内局部放大的吸收特性可知，在0.3~1 THz内甘草酸并无吸收峰，而甘草苷与甘草次酸均存在接近的吸收峰位。1~1.6 THz频段内，可以根据1.004、1.131两个峰位区别甘草苷与甘草次酸。另外，甘草酸、甘草苷及甘草次酸3种物质在多个位置的吸收峰较为接近甚至相同，这是因为三者在化学结构与化学性质上有着很大的相似性。

### 2.2 甘草酸实验谱与计算谱对比

如图2所示将甘草酸单分子分为含氧碳环块、碳环块。

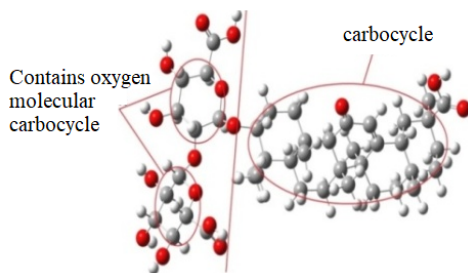


图2 甘草酸的分子构型

Fig.2 Glycyrrhizic acid molecular configuration

首先，采用PM3算法对上述单分子构型进行结构优化与频率计算，得到甘草酸分子的太赫兹吸收计算谱，如图3黑色虚线所示。观察黑色虚线，甘草酸分子在0.3~1.7 THz范围内3个理论吸收峰分别位于0.869 THz、1.176 THz、1.565 THz处。PM3算法吸收计算谱波形与实验谱波形相差较大，需要改善理论方法，获取更为精确的吸收谱。

密度泛函(Density functional theory)理论中的B3LYP泛函适用于较大体系的单分子结构计算，基组选择6-31G(d)，引入色散校正项DFT-D3。另外采用谐振频率校正因子校正分子理论构型与计算方法选择引起的计算频率与实验数据之间的偏差。在CCCBDB查得6-31G(d)基组的校正因子为0.96。最终计算谱如图3蓝色点划线所示。观察蓝色点划线发现，PM3理论计算值1.565 THz与实验值1.561 THz吻合，但是1.561 THz吸收强度的实验值相对较弱。计算谱中1.176 THz的理论计算值接近实验光谱中1.131 THz的峰值位置。基于DFT计算的吸收光谱的峰值位于1.279 THz和1.661 THz，并且波形与实验谱更加一致，而理论计算值1.661 THz与实验值1.655 THz符合，证明理论方法的选择是合理的。

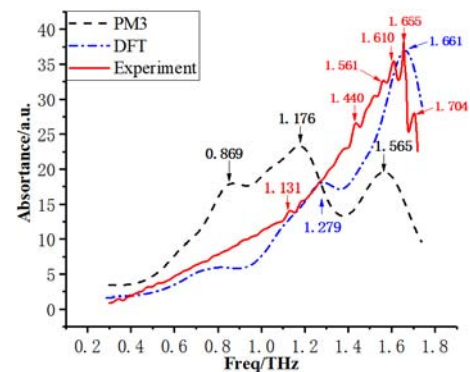


图3 甘草酸实验光谱与PM3、DFT计算谱对比

Fig.3 Comparison of glycyrrhizic acid experimental spectrum with PM3, DFT calculated spectrum

### 2.3 一元线性回归模型预测

朗伯比尔定律是光吸收基本定律，其表达式为：

$$A = \epsilon \cdot d \cdot c \quad (3)$$

式中： $A$ 为样片吸收系数； $\epsilon$ 为单位摩尔吸收系数； $d$ 为样片厚度； $c$ 为样片浓度。本节制备不同质量分数的甘草酸样片，样片信息如表3所示，利用太赫兹时域光谱系统获取太赫兹吸收光谱。观察图4发现3种甘草酸太赫兹吸收谱的基线斜率会随浓度的增大而上升。为了验证甘草酸太赫兹吸收系数与浓度之间的线性关系，选取特征吸收峰1.655 THz及其附近6个数值点的太赫兹吸收系数如表4所示，取其平均值与浓度进行一元线性回归拟合。结果如图5所示。从图中可以看出甘草酸太赫兹吸收光谱符合朗伯比尔定律。一元线性回归模型为： $y = 93.74173x - 18.56105$ ，相关系数  $R_2 = 0.99824$ 。利用一元线性回归模型预测样品的浓度，结果见表5。

### 3 结论

本文首先制备了甘草酸、甘草次酸以及甘草苷样片，利用透射式太赫兹时域光谱系统测得上述样片的太赫兹光谱，发现它们的谱线相似。其次，构建甘草酸单分子构型，并利用 Gaussian09 软件对其进行了结构优化与频率计算，获得了太赫兹计算谱。对比发现，随着理论方法的改进，甘草酸的太赫兹吸收计算谱和实验谱不仅在峰位上对应，且太赫兹吸收谱波形也趋于一致。最后制备含量分别为20%，30%，40%的甘草酸样品，通过一元线性回归模型拟合了甘草酸太赫

兹光谱吸收系数与浓度的关系，验证了甘草酸的太赫兹吸收光谱符合朗伯比尔定律。

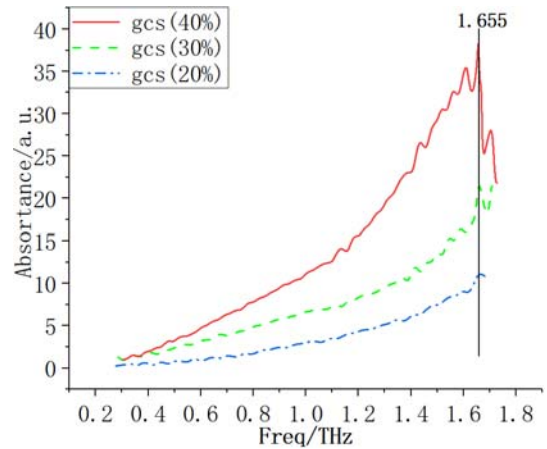


图4 不同浓度的甘草酸太赫兹吸收谱

Fig.4 THz absorption spectrum of glycyrrhizinate with different contents

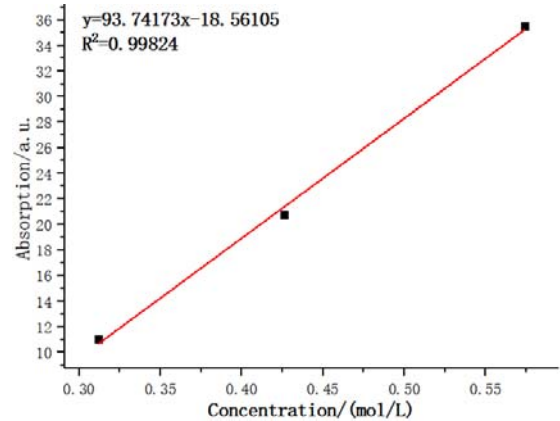


图5 一元线性回归预测模型

Fig.5 Univariate linear regression prediction model

表3 不同浓度甘草酸样品的配比信息

Table 3 Proportion information of glycyrrhizic acid samples with different concentrations

Sample number	Powder/mg	Pill weight/mg	Thickness/mm	Sample proportion/%	Concentration/(mol/L)
gcs01	158.4	155.7	1.28	20	0.312
gcs02	161.2	158.7	1.43	30	0.426
gcs03	159.6	154.2	1.4	40	0.574

表4 1.655 THz 及其附近6个频率点的吸收系数值

Table 4 Absorption coefficient values at 1.655 THz and 6 frequency points around it

Frequency/THz	Absorption/(gcs01)	Absorption/(gcs02)	Absorption/(gcs03)
1.646	10.935	19.566	34.327
1.649	11.026	20.573	35.255
1.652	11.074	21.274	36.572
1.655	11.083	21.473	38.239
1.659	11.061	21.276	36.482
1.662	11.017	20.876	34.127
1.665	10.962	20.404	33.539
Average absorption	11.023	20.777	35.506

表5 浓度预测值及相对误差

Table 5 Concentration prediction values and relative errors

Sample number	gcs01	gcs02	gcs03
Prediction/(mol/L)	0.316	0.420	0.577
Real/(mol/L)	0.312	0.426	0.574
Relative error/%	1.28	1.41	0.52

致谢:感谢北京市工业波谱成像工程技术研究中心提供的太赫兹时域光谱实验平台,感谢北京科技大学自动化学院的于洋博士在实验方面给予的帮助和有益讨论。

参考文献:

- [1] ZHANG H, LI Z, CHEN T, et al. Quantitative Determination of Auramine O by Terahertz Spectroscopy with 2DCOS-PLSR Model[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2017, **184**: 335-341.
- [2] 逯美红, 雷海英, 黄振芬, 等. 基于密度泛函理论的盐酸罂粟碱太赫兹振动光谱计算与分析[J]. *原子与分子物理学报*, 2019, **36**(6): 908-916.  
LU Meihong, LEI haiying, HUANG zhenfen, et al. Density functional theoretical calculations and analysis on terahertz vibrational spectra of papaverine hydrochloride[J]. *Journal of Atomic and Molecular Physics*, 2019, **36**(6): 908-916.
- [3] 周永军, 刘劲松, 王可嘉, 等. 基于太赫兹谱分析中药材鉴别[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, **34**(7): 1840-1843.  
ZHOU Yongjun, LIU Jinsong, WANG Kejia, et al. Identification of Chinese Herbal Medicines Based on Terahertz Spectroscopy Analysis[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2014, **34**(7): 1840-1843.
- [4] 刘晓庆, 姚嘉丽, 黄凡, 等. 基于太赫兹时域光谱的青霉素类药物检测研究[J]. *光学学报*, 2020, **40**(6): 0630001.  
LIU Xiaoqing, YAO Jiali, HUANG Fan, et al. Study on Detection of Penicillin Drugs Based on Terahertz Time-Domain Spectroscopy[J]. *Acta Optica Sinica*, 2020, **40**(6): 0630001.
- [5] WANG Yongmei, ZHAO Zongshan, QIN Jianyuan, et al. Rapid in situ analysis of l-histidine and  $\alpha$ -lactose in dietary supplements by fingerprint peaks using terahertz frequency-domain spectroscopy[J]. *Talanta*, 2020, **208**: 120469.
- [6] 刘丽萍, 王煜斐, 杨霏, 等. 基于太赫兹时域光谱技术的天麻素检测[J]. *中药材*, 2018, **41**(4): 909-911.  
LIU Liping, WANG Yufei, YANG fei, et al. Detection of Gastrodin Based on the Terahertz Time-domain Spectroscopy[J]. *Journal of Chinese Medical Materials*, 2018, **41**(4): 909-911.
- [7] CHEN H S, DU Q H. Potential natural compounds for preventing 2019-nCoV infection[J]. *Preprints Org*, 2020. Doi: 10.20944/preprints202001.0358.v3.
- [8] 申美仑, 刘广欣, 梁业飞, 等. 甘草酸和甘草次酸提取分离方法的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, **40**(18): 326-333.  
SHEN Meilun, LIU Guangxin, LIANG Yefei, et al. Progress on Extraction and Separation of Glycyrrhizic Acid and Glycyrrhetic Acid[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, **40**(18): 326-333.
- [9] 丁玲, 李宏益, 张学文. 实测甘草冠层光谱定量估算甘草酸和甘草苷含量[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, **34**(7): 1933-1937.  
DING Ling, LI Hongyi, ZHANG Xuewen. Quantitative Estimation of Glycyrrhizic Acid and Liquiritin in Contents Using In-Situ Canopy Spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2014, **34**(7): 1933-1937.
- [10] ZHANG Tianyao. Characterization of Terahertz Absorption and Dielectric Properties of Solids Based on Time Domain Spectroscopy[D]. Beijing: University of Science and Technology Beijing, 2019.
- [11] Duvillaret L, Garet F, Coutaz J L. A Reliable Method for Extraction of Material Parameters in Terahertz Time-Domain Spectroscopy[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 1996, **2**(3): 739-746.
- [12] Duvillaret L, Garet F, Coutaz J L. Highly Precise Determination of Optical Constants and Sample Thickness in Terahertz Time-Domain Spectroscopy[J]. *Applied Optics*, 1999, **38**(2): 409-415.