
文章编号：2095-4980(2019)01-0035-05

神经细胞中五种常见物质的太赫兹波谱的推定

罗洁，寇天一，施辰君，吴旭*

(上海理工大学 上海市现代光学系统重点实验室，上海 200093)

摘要：利用太赫兹时域光谱技术(THz-TDS)对神经细胞中常见的5种物质(L-谷氨酸、 γ -氨基丁酸、肌酸、盐酸多巴胺和肌醇)的纯品进行特征谱检测。实验结果显示，5种物质在太赫兹波段有明显且独特的吸收谱线，并且同一种物质不同浓度的吸收系数符合朗伯比尔定律。此外，利用CASTEP软件包对5种物质的光谱进行仿真，结果显示太赫兹波段光谱特征吸收峰的成因主要由分子基团的振动而引起。之后，对肌醇、L-谷氨酸、 γ -氨基丁酸和肌酸的1:1:1:1混合物的谱线进行检测，结合最小二乘法等算法倒推，可以准确推断每一种物质的含量及比例。结果表明，当4种物质混合时，物质含量推断的准确率为94%以上，这一研究结果对于癌组织的早期检测有重大意义。

关键词：太赫兹时域光谱技术；混合物成分分析；吸收系数；光谱检测

中图分类号：TN29

文献标志码：A

doi: 10.11805/TKYDA201901.0035

Estimation of five common substances in nerve cells by terahertz spectroscopy

LUO Jie, KOU Tianyi, SHI Chengjun, WU Xu*

(Shanghai Key Laboratory of Modern Optical System, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: The spectra of five substances commonly in nerve cells including, L-glutamic acid, Gamma Amino Butyric Acid(GABA), creatine, dopamine hydrochloride and myo-inositol are investigated by Terahertz Time-Domain Spectroscopy(THz-TDS). The experimental results show that the five substances have obvious and unique absorption spectra in terahertz region. For the same material, absorbance coefficient of different concentrations agrees with Lambert-Beer Law. In addition, the spectra of five substances are simulated by using CASTEP software package. The results show that the absorption peaks of terahertz spectrum are mainly due to the vibration of molecular groups. Furthermore, the spectra of 1:1:1:1 mixture of GABA, creatine, L-glutamic acid, myo-inositol are tested. By using the Least Square Method(LSM), the proportion and percentage of each substance are deduced exactly. The results show that the accuracy of substance content prediction is more than 94% when the four substances are mixed, which is of great significance for the early detection of cancer tissue.

Keywords: Terahertz Time-Domain Spectroscopy(THz-TDS); mixture component analysis; absorption coefficient; spectroscopic inspection

太赫兹(THz)波是指频率在0.1~10 THz范围的电磁波，介于微波与红外之间，是电磁波谱上电子学向光子学过渡的特殊区域。相较于其他波段，太赫兹波具有高穿透性、低电离能等重要特性。但早期受高功率发射源和灵敏探测器的限制，太赫兹波段成为宽广的电磁波谱中的“空白”，被称为太赫兹间隙(THz gap)^[1]。随着超快激光的发展，THz技术得以迅速发展，目前已被广泛用于药物、毒品以及生物分子检测^[2]。近年来，人们对太赫兹技术在生物医学上的应用，特别是癌症组织鉴定，表现出更多的兴趣。在生物组织细胞中，各种物质的比例可以反映组织细胞的状态。基于此，许多研究小组想通过太赫兹技术实现混合物的定量分析，以达到癌症早期诊断的目的^[3]。但由于生物组织中物质种类繁多，导致其在太赫兹波段内特征吸收峰叠加，特征谱线无法获取，物质的定量分析难度大，无法准确判断癌组织与正常组织。为解决该问题，本文结合分子模拟计算，实现物质太赫兹特征吸收峰的准确识别，采用最小二乘法(LSM)推算混合物的成分比例。

收稿日期：2018-05-30；修回日期：2018-07-15

基金项目：国家自然科学基金资助项目(61805140)

*通信作者：吴旭 email:wuxumaomao@hotmail.com

1 太赫兹时域光谱(THz-TDS)技术

1.1 THz-TDS 技术简介

THz-TDS 技术是太赫兹光谱技术的典型代表，20世纪90年代由 Bell 实验室和 IBM 公司的 T J Watson 研究中心发展起来的一种基于飞秒超快激光技术的远红外波段的相干探测技术^[4]，能够同时获得 THz 脉冲的振幅和相位信息。随着技术的发展，THz-TDS 已然成为一种便捷有效的测试手段^[5]。现阶段最常用的光谱系统为透射式和反射式 THz-TDS 系统^[6]。

1.2 THz-TDS 测量系统

本实验所用 THz-TDS 测量系统采用泵浦探测方法，以光纤式飞秒激光器为泵浦光源，产生中心波长为 780 nm，脉宽为 100 fs，脉冲功率为 150 mW 的飞秒激光脉冲。飞秒激光脉冲经半波片后被分束镜分为泵浦光束和探测光束(分光比为 50:50)。泵浦光束经光学斩波器调制后入射到砷化镓(GaAs)上产生太赫兹波，太赫兹波通过抛物面镜聚焦到生物样本表面，另一束探测光经过光学系统与载有样品信息的太赫兹波束共线经过探测晶体，最终得到载有样品信息的太赫兹信号。为降低水分对太赫兹信号的干扰，样品箱内相对湿度控制在 3.5% 以下^[7]。

1.3 样品制备及数据处理

本实验中所用纯品均从美国 Sigma-Aldrich 公司购置，使用时未再次提纯(纯度大于 99%)。纯品为多晶粉末，故采用粉末常用的压片法制备样品。由于纯品对 THz 波吸收很强，需要选择对 THz 波吸收弱的生物样品载体，实验选择高密度聚乙烯(PE)作为生物样品载体。纯品与 PE 以 1:19 质量比均匀混合，在玛瑙研钵中研磨成细小粉末，在 3 T 压力下压制为厚约 1 mm，直径为 13 mm 的圆片，保证前后表面平行、光滑^[8]。所有压片质量控制在 100 mg，质量损失控制在 1% 以下，以保证压片厚度一致。通过 Matlab 程序将 THz-TDS 系统采集得到的时域脉冲信号进行快速傅里叶变换，样品的吸光系数 α 为：

$$\alpha = \frac{1}{d} \ln \left[\frac{I_{\text{ref}}(\omega)}{I_{\text{sam}}(\omega)} \right] \quad (1)$$

式中： d 为压片厚度； $I_{\text{sam}}(\omega) = E_{\text{sam}}(\omega) \times E_{\text{sam}}(\omega)^*$ 为样品信号的功率谱， $E_{\text{sam}}(\omega)$ 为样品信号在频域上的电场形式^[9]； $I_{\text{ref}}(\omega) = E_{\text{ref}}(\omega) \times E_{\text{ref}}(\omega)^*$ 为参考信号的功率谱， $E_{\text{ref}}(\omega)$ 为参考信号在频域上的电场形式^[9]，参考信号为 100 mg 纯 PE 压片的太赫兹信号。太赫兹信号易受周围环境扰动以及空气中水分的干扰，测量得到的吸收谱线含有微小噪声，因此实验中利用双正交小波对吸收谱线进行降噪处理，使特征峰更加明显^[10]。

2 基于最小二乘法的混合物成分推定方法

在方程组 $\mathbf{AX} = \mathbf{b}$ 中，混合物的吸光度为 \mathbf{A} ， $\mathbf{A} = (a_{ij})_{m \times n}$ ， \mathbf{b} 是 m 维已知向量， \mathbf{X} 是 n 维解向量，当 $m > n$ ，即方程组中方程个数大于自变量个数时，该方程为超定方程组^[11]。记 $\mathbf{r} = \mathbf{b} - \mathbf{AX}$ ，使 $\|\mathbf{r}\|_2^2$ 最小的解 \mathbf{X}^* 称为方程组 $\mathbf{AX} = \mathbf{b}$ 的最小二乘解。 \mathbf{X}^* 是 $\mathbf{AX} = \mathbf{b}$ 的最小二乘解的充要条件为： \mathbf{X}^* 是 $\mathbf{A}^\Gamma \mathbf{AX} = \mathbf{A}^\Gamma \mathbf{b}$ 的解^[12]。

根据朗伯比尔定律，当样品厚度一致时，样品的吸光度与其浓度正相关^[13]。假设这 5 种物质的吸收系数分别为 f, g, h, i, j ，对于每一个采样点而言，以矩阵形式表示，则可以得到：

$$\begin{bmatrix} f_1 & g_1 & h_1 & i_1 & j_1 \\ f_2 & g_2 & h_2 & i_2 & j_2 \\ \vdots & & & & \\ f_n & g_n & h_n & i_n & j_n \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ \vdots \\ X_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \\ \vdots \\ A_n \end{bmatrix} \quad (2)$$

通过化简式(2)，可得 $\mathbf{M} \cdot \mathbf{X} = \mathbf{A}$ ，解该等式得出其最小二乘解，即混合物中的物质含量。

3 结果与讨论

3.1 神经细胞 5 种常见物质的太赫兹吸收谱线

本实验利用 THz-TDS 系统对神经细胞中常见的 5 种物质在 0.9~4.5 THz 内的吸收谱线进行检测。图 1 为 5 种物质的 THz 吸收谱图，图中纵坐标吸收系数均为除以药片厚度的结果。表 1 为 5 种物质的 THz-TDS 光谱特征

峰峰位。实验结果显示，5种物质在0.9~4.5 THz内均有清晰且独特的吸收谱，且谱线随频率的增大而缓慢上扬。

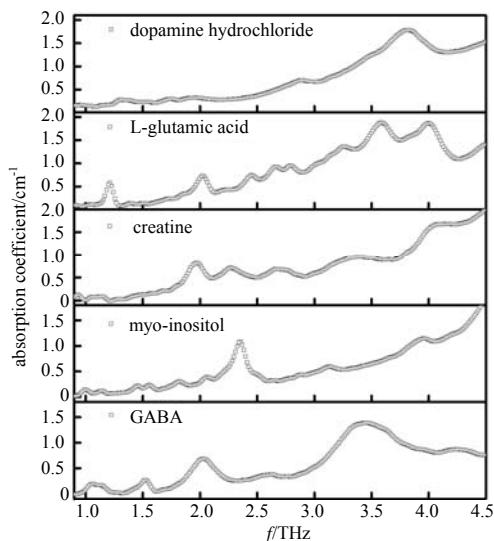


Fig.1 THz-TDS spectra of five common substances in nerve cells

图1 五种神经细胞中常见物质的 THz-TDS 光谱

3.2 神经细胞中5种常见物质太赫兹特征吸收峰的理论分析与仿真

利用CASTEP软件包中的交换相关泛函GGA-PW91对5种物质进行太赫兹理论光谱仿真，仿真结果与实验结果吻合较好。通过振动峰分析得到每一个特征峰对应的振转模式，见图2~图6。其中，白色代表H原子，灰色代表C原子，红色代表O原子，蓝色代表N原子。从图2可以看出肌酸的振动模式：1.83 THz特征峰主要源于水分子振荡，辅之以肌酸中甲基及其他部分的轻微振动而产生；2.11 THz处的特征峰则主要由肌酸中甲基运动产生；3.03 THz特征峰由分子中的各部分沿不同方向振动产生。

从图3可以看出盐酸多巴胺的振动模式：1.33 THz吸收峰与多巴胺分子及盐酸分子的整体振动相关；1.78 THz特征峰来源于苯环2,3号碳原子、盐酸分子中氢原子以及与苯环相连的碳链2号碳原子和氨基的振动叠加；2.77 THz吸收峰主要由与苯环相连碳链上2号碳原子上氢原子的振动引起；3.63 THz吸收峰主要源于苯环上羟基、碳链末端氨基以及盐酸分子的振动；4.15 THz处吸收峰主要与碳链上氢原子及盐酸分子振动有关。从图4可以看出肌醇的振动模式：1.61 THz处的特征峰由肌醇分子整体骨架的振动得到，其余的特征吸收峰主要由连接在六元碳环上的羟基的缓慢运动而造成其间氢键的转动或扭动形成。

从图5可以看出L-谷氨酸的振动模式：0.89 THz振动峰，主要由羧基中的羟基振动产生；1.94 THz吸收峰主要由羧基及其相邻碳原子的振动产生；2.49 THz吸收峰与L-谷氨酸分子整体的运动有关；2.76 THz和2.88 THz的特征峰产生原因比较复杂，总之与L-谷氨酸中各基团间的振动叠加相关；3.45 THz吸收峰则主要由氨基振动产生；3.88 THz吸收峰则由羧基及其相邻碳原子中化学键扭动形成；4.16 THz处吸收峰则主要来源于羧基中羰基以及中心碳原子上氢原子的振动。

从图6得出 γ -氨基丁酸的振动模式：1.32 THz吸收峰由碳链上的氢原子振动以及羧基中C=O基团的伸缩振动引起；1.89 THz吸收峰由碳链中靠近氨基的碳原子及其上氢原子振动形成；2.10 THz吸收峰主要由羧基中的羟基与碳链上氢原子的振动形成；2.22 THz吸收峰则由碳链上氢原子及羧基中的C=O基团振动而引起；2.97 THz吸收峰则由羧基的整体振动以及碳链上氢原子的振动而形成；3.45 THz吸收峰则由碳链上的氢原子以及氨基振动引起；3.87 THz的吸收峰则由碳链上的氢原子振动引起。

3.3 基于太赫兹吸收谱的神经细胞常见物质混合物比例推定

从测试的5种纯品物质中随意选出若干物质混合压片并采用THz-TDS采集吸收谱。然后，通过最小二乘法对去除基线后的混合物及纯品的太赫兹谱进行分析，推算出混合物中各物质含量与比例。图7为4种物质(肌醇、L-谷氨酸、 γ -氨基丁酸和肌酸)1:1:1:1混合物实验结果与拟合结果。表2为相应的混合物成分推定结果，表中实际含量(Real concentration)是通过测量压片后样品的质量同实验之前称量所得的差值，再通过等比例减去损失样品量后得到。实际含量与理论含量的误差与研磨以及压片过程中的样品损耗有关。实验结果表明，4种物质混合，物质含量推断的准确率为94%以上。

表1 五种物质 THz-TDS 光谱特征峰峰位表(THz)

Table1 Characteristic peaks of THz-TDS spectrum of five substances/THz

GABA	myo-inositol	creatine	L-glutamic acid	dopamine hydrochloride
1.09	0.97	1.86	1.21	1.32
1.52	1.44	2.29	2.04	1.72
2.03	1.58	2.67	2.46	1.96
2.95	1.84	3.49	2.71	2.89
3.42	2.05	—	2.83	3.83
3.89	2.35	—	3.26	—
—	2.85	—	3.60	—
—	3.10	—	4.03	—
—	3.89	—	—	—

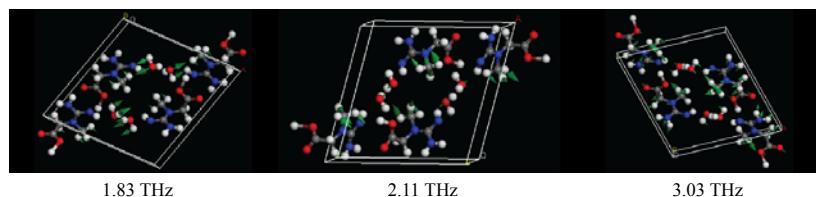


Fig.2 Schematic diagram of each absorption peak of creatine
图 2 肌酸各吸收峰产生原因示意图

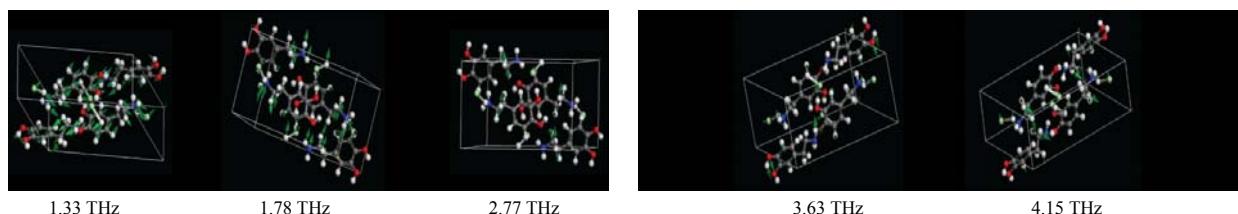


Fig.3 Schematic diagram of each absorption peak of dopamine hydrochloride
图 3 盐酸多巴胺各吸收峰产生原因示意图

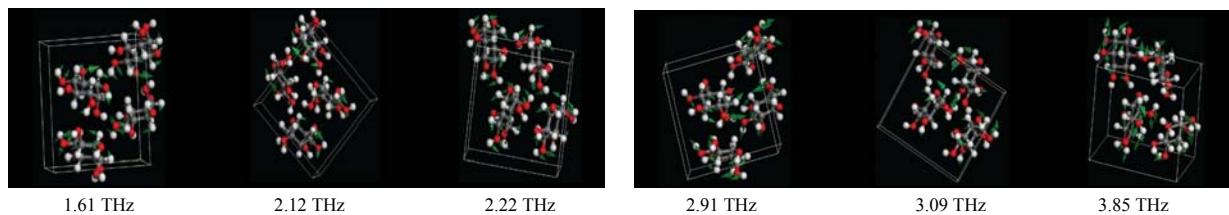


Fig.4 Schematic diagram of each absorption peak of myo-inositol
图 4 肌醇各吸收峰产生原因

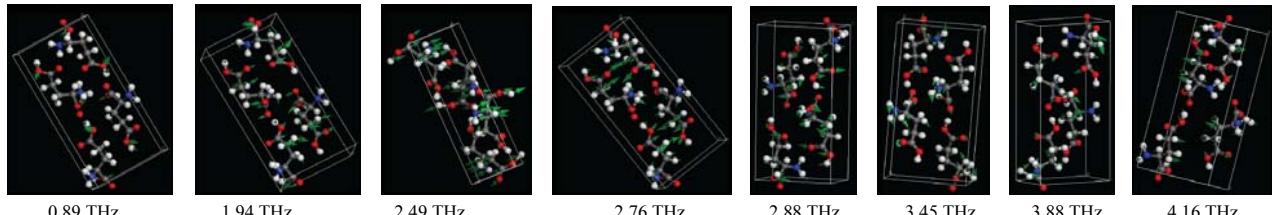


Fig.5 Schematic diagram of each absorption peak of L-glutamic acid
图 5 L-谷氨酸各吸收峰产生原因示意图

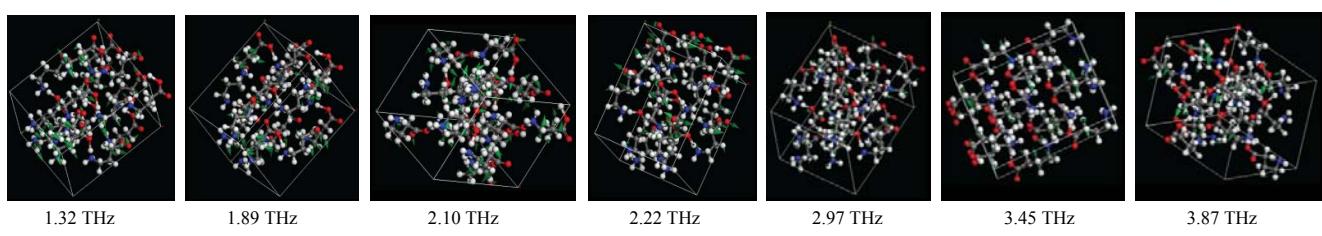


Fig.6 Schematic diagram of each absorption peak of GABA
图 6 γ -氨基丁酸各吸收峰产生原因示意图

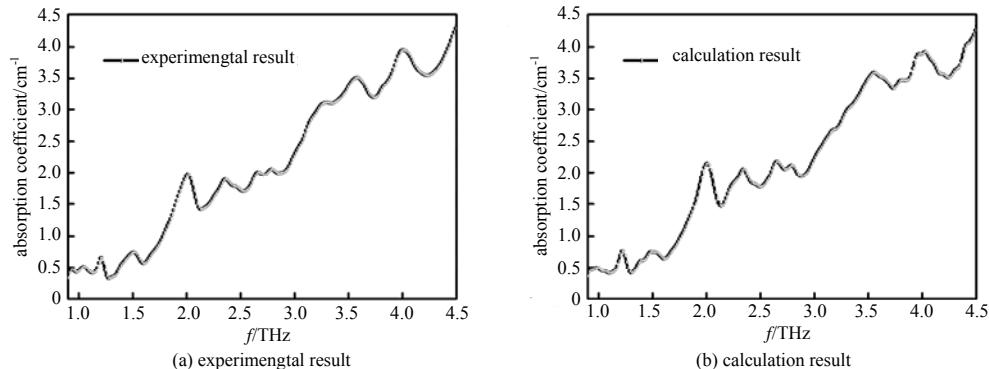


Fig.7 Experimental results and calculation result of 1:1:1:1 mixture made by GABA, creatine, myo-inositol, L-glutamic acid
图 7 γ -氨基丁酸、肌酸、肌醇和 L-谷氨酸 1:1:1:1 混合物谱线实验与拟合结果

表2 L-谷氨酸、肌醇、 γ -氨基丁酸和肌酸4种物质1:1:1:1混合物中各物质比例推定结果

Table2 Results of GABA, creatine, myo-inositol, L-glutamic acid in 1:1:1:1 mixture

sample	theory concentration/%	real concentration/%	real ratio	reproducibility/%	calculated ratio	Root Mean Square(RMS)/%
L-glutamic acid				4.50		8.16
myo-inositol				4.90		0
GABA	5	4.9	1:1:1:1	4.80	0.92:1:0.94:0.98	2.04
creatine				4.60		6.12
average RMS		—	—	—	—	5.44

4 结论

本文利用 THz-TDS 系统对神经细胞中 5 种常见物质 L-谷氨酸、肌酸、盐酸多巴胺、 γ -氨基丁酸和肌醇进行检测，并通过 CASTEP 软件包对 5 种物质太赫兹特征峰进行分析，结果显示太赫兹波段光谱特征吸收峰主要源于分子基团的缓慢振动。基于肌醇、L-谷氨酸、 γ -氨基丁酸和肌酸的 1:1:1:1 混合物的太赫兹吸收谱，采用 LSM 对混合物中纯品物质的含量和比例进行推定。结果表明，该方法对混合物成分分析的准确率可达 94%以上。这为之后利用血液、细胞和组织的特征吸收谱线来判别其病变状况的研究打下了较为扎实的基础。下一步工作将对癌变组织、癌旁组织和正常组织的特征吸收谱线进行对比分析，尝试利用特征吸收谱线的差异，结合医学检测结果，对组织的病变与否进行判定；并利用 LSM 法对组织中特异性成分进行推定，以达到高效、准确判别病变组织及其病变程度的目的，为医生对疾病的预判和确诊提供可靠的技术。

参考文献：

- [1] WEI D,YANG Z,ZHANG M,et al. Terahertz spectroscopy of biomolecules[J]. Terahertz Science and Technology, 2015,8(3):101–112.
- [2] CHEN W,PENG Y,JIANG X,et al. Isomers identification of 2-hydroxyglutarate acid disodium salt(2HG) by Terahertz Time-Domain Spectroscopy[J]. Scientific Reports, 2017,7(1):12166-1–12166-6.
- [3] FAN S,HE Y,UNG B S,et al. The growth of biomedical terahertz research[J]. Journal of Physics D:Applied Physics, 2014, 47(37):374009-1–374009-11.
- [4] ZHENG Z P,FAN W H,LIANG Y Q,et al. Application of terahertz spectroscopy and molecular modeling in isomers investigation: Glucose and fructose[J]. Optics Communications, 2012,285(7):1868–1871.
- [5] DU S Q,LI H,XIE L,et al. Vibrational frequencies of anti-diabetic drug studied by terahertz time-domain spectroscopy[J]. Applied Physics Letters, 2012,100(14):143702-1–143702-4.
- [6] PENG Y,YUAN X,ZOU X,et al. Terahertz identification and quantification of neurotransmitter and neurotropy mixture[J]. Biomedical Optics Express, 2016,7(11):4472–4479.
- [7] LI T,MA H,PENG Y,et al. Gaussian numerical analysis and terahertz spectroscopic measurement of homocysteine[J]. Biomedical Optics Express, 2018,9(11):5467–5476.
- [8] YAMAMOTO K,KABIR M H,TOMINAGA K. Terahertz time-domain spectroscopy of sulfur-containing biomolecules[J]. JOSA B, 2005,22(11):2417–2426.
- [9] PENG Y,SHI C,XU M,et al. Qualitative and quantitative identification of components in mixture by Terahertz spectroscopy[J]. IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology, 2018,8(6):696–701.
- [10] BOSKEY A L,MENDELSON R. Infrared spectroscopic characterization of mineralized tissues[J]. Vibrational Spectroscopy, 2005,38(1/2):107–114.
- [11] MIGNOLET A,DERENNE A,SMOLINA M,et al. FTIR spectral signature of anticancer drugs. Can drug mode of action be identified?[J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Proteins and Proteomics, 2016,1864(1):85–101.
- [12] FATTINGER C,GRISCHKOWSKY D. Terahertz beams[J]. Applied Physics Letters, 1989,54(6):490–492.
- [13] NAHATA A,AUSTON D H,HEINZ T F,et al. Coherent detection of freely propagating terahertz radiation by electro-optic sampling[J]. Applied Physics Letters, 1996,68(2):150–152.

作者简介：



罗洁(1994-)，女，陕西省宝鸡市人，在读硕士研究生，主要从事太赫兹生物检测研究。
email:877892344@qq.com.

寇天一(1995-)，男，江苏省连云港市人，在读硕士研究生，主要从事太赫兹生物检测研究。

施辰君(1996-)，男，上海市人，在读硕士研究生，主要从事太赫兹生物检测研究。

吴旭(1988-)，女，浙江省台州市人，讲师，主要从事太赫兹生物检测工作。