

芳香族氨基酸的太赫兹光谱研究*

岳伟伟 王卫宁[†] 赵国忠 张存林 闫海涛

(首都师范大学物理系, 北京 100037)

(2004 年 11 月 23 日收到, 2004 年 12 月 17 日收到修改稿)

利用太赫兹时域光谱研究了三种芳香族氨基酸, 即酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸, 在 0.2—1.6THz 波段的光学特性, 得到了对应的吸收谱. 对比各自的吸收谱发现, 酪氨酸和色氨酸分别在 0.976THz 和 1.465THz 有明显的吸收峰, 而苯丙氨酸则没有明显的吸收峰. 利用密度泛函(DFT)理论初步计算表明, 氨基酸在 THz 波段的吸收是由分子转动或扭动造成的, 氨基酸的不同结构造成了它们在 THz 波段不同的吸收峰位. 另外, 还得到了三种氨基酸在该波段的折射率谱并首次定量给出了三种氨基酸在 0.2—1.6THz 波段的平均折射率. 酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸的平均折射率分别为 1.507, 1.526 和 1.686. 这项研究不仅为研究生物分子结构和动力学提供了新的理论和实验方法, 而且对进一步利用 THz 时域光谱研究其他生物大分子具有借鉴意义.

关键词: 太赫兹(THz)时域光谱, 芳香族氨基酸, 吸收谱, 分子动力学

PACC: 3220F, 8715B, 8715H

1. 引言

太赫兹波(THz)位于远红外和微波之间, 频率范围约为 0.1—1.0THz. 由于长期缺少有效的产生和探测技术, THz 波段曾一度被称作“THz 空隙”^[1]. 上世纪 80 年代末, 超快激光的出现为脉冲 THz 波的产生和探测提供了有效的手段, THz 波的相关理论和技术也因此吸引了众多研究者的关注, 研究领域主要包括 THz 发射^[2], THz 光谱分析和成像等方面^[3]. 国外在 THz 技术领域的研究已经取得了许多有价值的成果, 国内研究者同样取得了令人鼓舞的成果^[4-6]. 目前, 国内已有中科院物理所, 上海光机所和首都师范大学等单位对 THz 波科学与技术展开研究工作.

利用 THz 时域光谱(THz-TDS)技术研究材料在 THz 波段的光学性质是 THz 研究领域的一个热点. 理论及实验研究表明, 许多生物大分子的集体振动和转动模恰好位于 THz 波段^[7]. 因此, 利用 THz 时域光谱技术可以获得这些生物大分子在 THz 波段的光学常数, 进而可以研究它们的结构和动力学特性. 2000 年, Markelz 等人利用 THz 时域光谱技术研究了

DNA, 牛血清蛋白和胶原质在 THz 波段的性质, 发现这三种分子在 THz 波段都有吸收特性^[8]; 2003 年, Taday 研究了谷氨酸在 THz 波段的性质, 得到了对应的吸收谱^[9]. 以上结果都证明了 THz 时域光谱有潜力成为研究生物大分子的有效手段之一.

氨基酸是一类结构简单的生物分子, 但它是蛋白质大分子构成的基本单位, 因此研究氨基酸在 THz 波段的性质是进一步研究蛋白质大分子的基础. 氨基酸按照其侧链 R 基团的化学性质不同可以分为非极性脂肪链、芳香族、极性不带电、极性带正电和极性带负电氨基酸. 其中, 芳香族氨基酸包括苯丙氨酸, 酪氨酸和色氨酸, 它们的 R 基团中皆有苯环结构, 在结构上有很大的相似性, 是氨基酸中比较有特点的一族, 分子式如图 1 所示. 本文利用 THz 时域光谱技术研究了三种芳香族氨基酸在 0.2—1.6THz 波段的光学性质, 得到了各自的特征吸收谱和折射率谱, 并定量给出了这三种氨基酸在 0.2—1.6THz 范围的平均折射率. 这一研究不仅表明了 THz 时域光谱可以用于研究氨基酸分子, 而且为进一步研究蛋白质等其他生物大分子在 THz 波段的光学性质提供了有效的理论和实验依据.

* 国家自然科学基金(批准号:10390160, 10474067)北京市教育委员会科技发展基金(批准号:KM200410028004)和北京市纳米光电子重点实验室开放基金资助的课题.

[†]E-mail: wwn-phy@mail.cnu.edu.cn

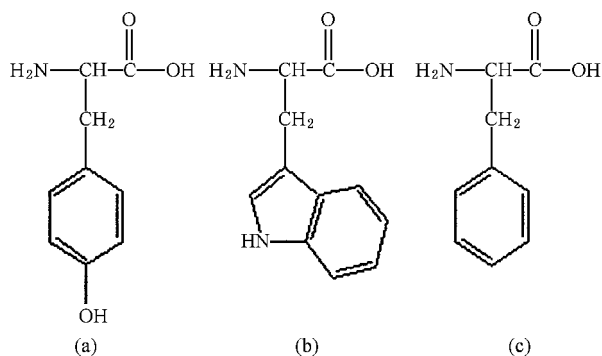


图1 三种氨基酸的分子式 (a)酪氨酸 (b)色氨酸 (c)苯丙氨酸

2. 实验及数据处理方法

2.1. 实验系统及样品制备

本文所采用的实验光路如图2所示. 掺钛蓝宝石锁模激光器产生中心波长为 800nm, 重复频率为 76MHz, 脉宽为 30fs 的飞秒激光脉冲作为产生 THz 波的抽运光源. 飞秒激光脉冲功率约为 400mW. 飞秒激光以布儒斯特角(约 70°)入射到砷化铟(InAs)晶体上, 产生 THz 脉冲, 有效频率范围约为 0.2—1.6THz. 探测方法采用电光取样技术^[1], 探测晶体采用碲化铋(110 ZnTe)^[10].

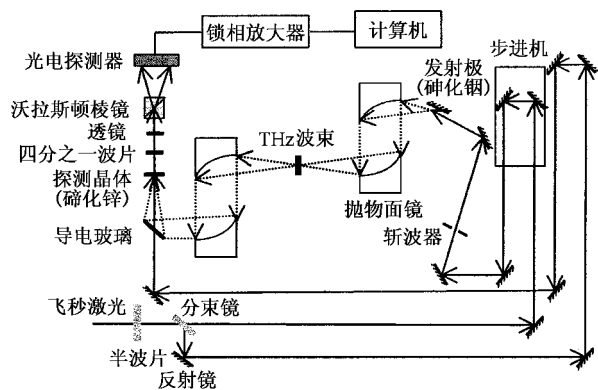


图2 实验光路图

本实验采用的样品为三种芳香族氨基酸, 即苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸. 由于纯氨基酸粉末难以压片成型, 故需要将其与其他材料混合压片. 本实验选择聚乙烯粉末作为混合材料, 原因是它对 THz 波只有很少的吸收^[8]. 对购买的样品没有进一步的干燥处理, 分别将样品粉末与聚乙烯粉末按质量比为 1:1

的比例混合, 经研磨后, 用 400kg 的力压成厚度约 1mm, 直径为 13mm 的圆盘形试件作为实验用的氨基酸样品. 作为比较, 本文同时制备了聚乙烯纯品的试件, 并得到了它的吸收和折射率谱. 三种氨基酸样品的分子式、分子量及厚度参数如表 1 所示. 本实验的环境温度为 22℃, 相对湿度约为 37%.

表1 测试样品参数

样品名称	分子式 (分子量)	样品厚度/mm
酪氨酸	C ₉ H ₁₁ N ₂ O ₅ (181.19)	0.78
色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂ (204.23)	0.98
苯丙氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂ (165.2)	1.33

2.2. 数据处理

本实验采用 Dorney 和 Duvillaret 等人提出的提取材料 THz 光学参数的物理模型来处理测得的实验数据^[11]. 该模型假设 THz 时域系统的响应函数不随时间改变, 且样品的结构均匀, 前后表面平行, 如图3所示. 实验中制备的样品基本符合上述的条件. 当 THz 波垂直入射到样品时, 由菲涅耳公式可以推出频率的透过率函数 $t(\tilde{\omega})$ 和反射率函数 $r(\tilde{\omega})$:

$$t(\tilde{\omega}) = 2\tilde{n}_s(\tilde{n}_0 + \tilde{n}_s), \quad (1)$$

$$r(\tilde{\omega}) = (\tilde{n}_s - \tilde{n}_0)(\tilde{n}_s + \tilde{n}_0), \quad (2)$$

其中 \tilde{n}_s 为样品的复折射率; \tilde{n}_0 为与样品前后表面接触的介质的复折射率, 本实验中即为空气的复折射率. THz 波在介质中的传播函数可以表示为

$$p(\tilde{\omega}) = \exp(-j\tilde{n} \tilde{\omega} l/c), \quad (3)$$

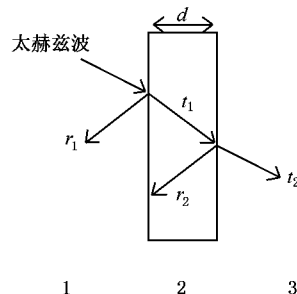


图3 样品模型示意图

其中 l 为 THz 波传播的距离. 设经过样品后的信号为 $E_s(t)$, 未经过样品的信号为 $E_i(t)$. 经过傅里叶变换分别为 $E_s(\tilde{\omega})$ 和 $E_i(\tilde{\omega})$. 对于厚样品, 不考虑 Fabry-Barot 效应的影响, 则其表达式分别为

$$E_s(\tilde{\omega}) = A(\tilde{\omega}) \cdot t_{1s} \cdot P_s \cdot t_{s3}, \quad (4)$$

$$E_r(\tilde{\omega}) = A(\tilde{\omega}) \cdot t_{12} \cdot p_2 \cdot t_{23} \quad (5)$$

那么,

$$\begin{aligned} E_s(v) & \mathcal{Y} E_r(v) \\ &= [\tilde{n}_s(\tilde{n}_1 + \tilde{n}_2)(\tilde{n}_2 + \tilde{n}_3) \\ & \quad / \tilde{n}_2(\tilde{n}_1 + \tilde{n}_s)(\tilde{n}_s + \tilde{n}_3)] \\ & \quad \cdot \exp[-(\tilde{n}_s - \tilde{n}_2)\tilde{\omega}d/c] \\ &= \rho(\omega) \cdot e^{-j\alpha(\omega)l} \end{aligned} \quad (6)$$

式中 d 为样品的厚度, $\tilde{n}_1, \tilde{n}_2, \tilde{n}_3$ 皆为空气的折射率, 约等于 1. 由于复折射率 $\tilde{n} = n - jk$, n 为样品的实折射率, k 为消光系数, 且有 $\alpha = 2\omega k/c$, 又因为试件对 THz 波的吸收很小, 认为 $k \ll n$, 所以由 (6) 式可得到样品对 THz 波的折射率 n_s , 消光系数 k_s 和吸收系数 α_s 分别为

$$n_s(\omega) = \rho(\omega) \cdot \frac{c}{\omega d} + 1, \quad (7)$$

$$k_s(\omega) = \ln\left(\frac{4n_s(\omega)}{\rho(\omega) \cdot (n_s(\omega) + 1)^2}\right) \cdot \frac{c}{\omega d}, \quad (8)$$

$$\alpha_s(\omega) = \frac{2k_s(\tilde{\omega}) \cdot \omega}{c}. \quad (9)$$

本实验即采用 (7) (8) 和 (9) 式对实验数据进行处理得到了三种氨基酸的折射率和吸收谱.

3. 实验结果及分析

图 4(a)(b) 以酪氨酸样品为例给出了 THz 波穿过样品(样品信号)和直接在空气中传播(参考信号)的时域信号及频谱图. 从图 4(a) 的时域图中可以看到, 样品信号相对参考信号有时间的延迟, 这是由于 THz 波在酪氨酸样品中的折射率大于在空气中的折射率所致. 图 4(b) 的频谱图中, 样品和参考在 0.56, 0.756, 1.098 和 1.416 THz 处皆存在吸收凹陷, 说明这是由系统及环境吸收造成的, 而在 0.976 THz 处, 只有样品的 THz 频谱存在吸收凹陷, 说明该处吸收是由样品引起的, 这从酪氨酸的吸收谱中可以更明确地看出. 色氨酸和苯丙氨酸与之类似, 在此不重复给出.

本文对三种芳香族氨基酸(酪氨酸, 色氨酸和苯丙氨酸)进行了研究, 对每一种氨基酸在不同日期进行了两次测量, 以检验结果的可重复性, 图 5 至图 7 分别为三种氨基酸的吸收谱和折射率谱, 图中用不同线型表示两次实验得到的结果. 将本文吸收峰位与此前他人得到的吸收峰位^[12, 43]进行对比, 如表 2 所示, 两者在 1.6 THz 以下有较好的一致性, 也表明本文结果的正确性.

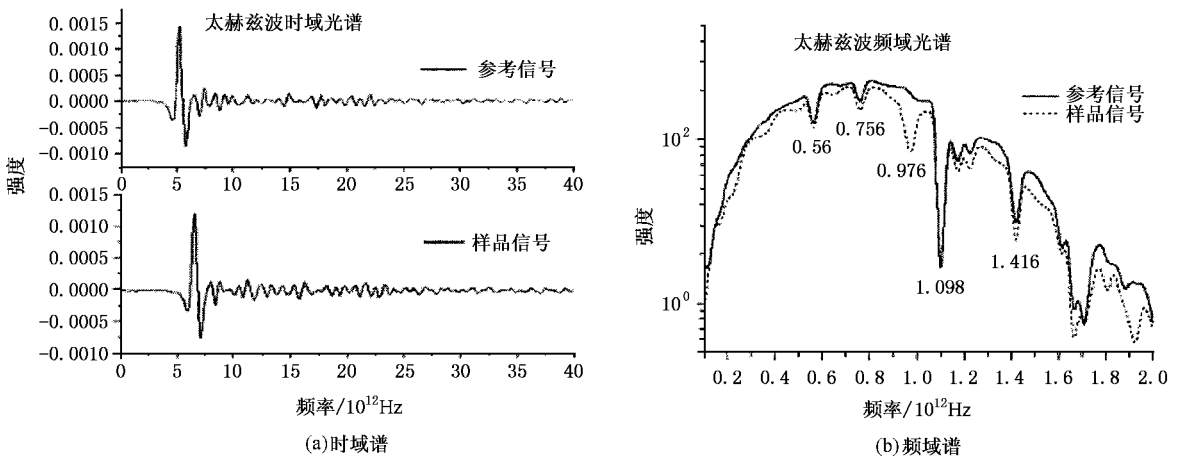


图 4 酪氨酸参考和样品时域信号及频谱图

表 2 平均折射率及 THz 吸收峰位对比

样品名称	平均折射率		THz 吸收峰位/THz
	(本文结果)	本文结果	此前他人结果
酪氨酸	1.507	0.976	0.96, 1.91, 2.08, 2.70
色氨酸	1.526	1.465	1.435, 1.842
苯丙氨酸	1.686	无	2.72

图 5(a)(b) 分别为酪氨酸的吸收和折射率谱, 三角形线和圆形线表示不同日期得到的实验结果, 粗实线为聚乙烯纯品的吸收谱线. 从吸收谱可以看出样品在 0.976 THz 处有明显的吸收峰, 对比聚乙烯的吸收谱, 可以确定该吸收是由酪氨酸引起. Miyamaru 发现酪氨酸在 0.96 THz 处有明显吸收峰^[12], 与本文结果相

差 0.016THz. 两次实验的折射率谱线如图 5(b) 所示,

酪氨酸的平均折射率为 1.507.

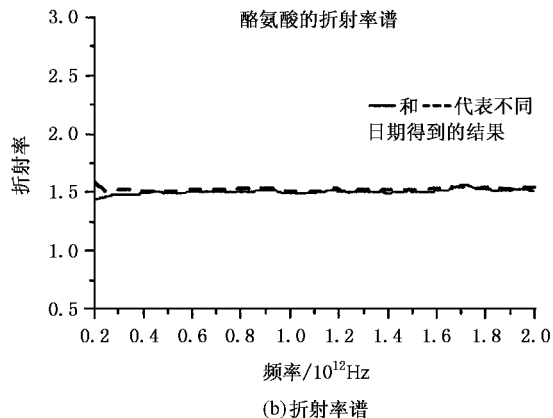
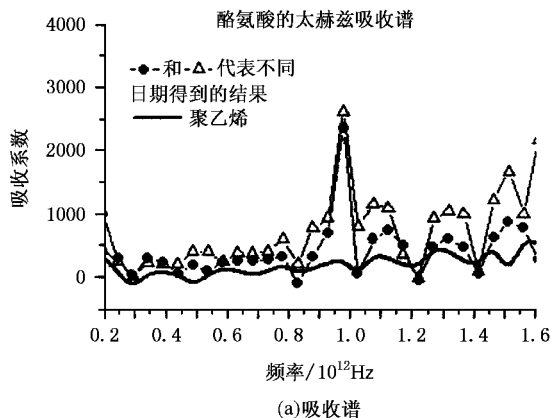


图 5 酪氨酸的吸收和折射率谱

图 6(a)(b) 为色氨酸两次实验的吸收谱, 同样用不同线型表示不同日期的实验结果. 从吸收谱可以看出, 色氨酸在 1.465THz 有明显的吸收峰. Yu 发现色氨酸在 1.435THz 附近有明显吸收峰^[13], 与本文结果相差 0.03THz, 这一差别在本实验系统的误差范围之内. 图 6(b) 为两次实验得到的色氨酸的折射率谱, 其平均折射率为 1.526.

相比酪氨酸和色氨酸, 苯丙氨酸在 0.2—1.6THz 没有吸收峰, 这也与 Miyamaru 的结果相一致^[12]. 图 7(a)(b) 分别为苯丙氨酸的吸收和折射率谱. 两次实验的吸收谱不一致是由系统及环境随机噪声引起的. 苯丙氨酸的在这一波段的平均折射率为 1.686.

从以上三种氨基酸的实验结果可以看出, 对于

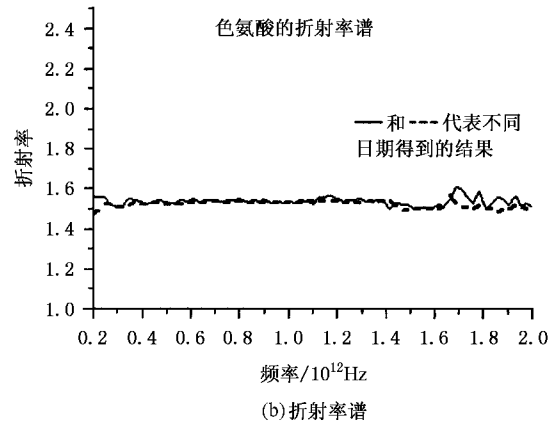
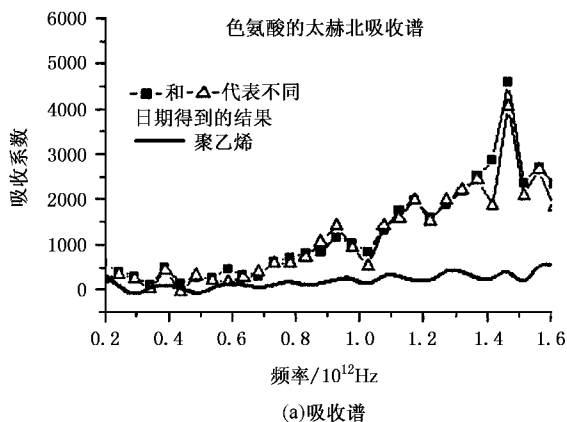


图 6 色氨酸的吸收和折射率谱

同一种氨基酸, 重复实验得到相同的吸收峰位, 这不仅证明本系统具有较高的稳定性, 而且说明了实验结果的可信性. 实验发现, 三种芳香族氨基酸在 0.2—1.6THz 之间有明显不同的吸收谱和折射率谱, 并且发现酪氨酸和色氨酸分别在 0.976THz 和 1.465THz 有明显的吸收峰. 利用密度泛函(DFT)算法进行初步理论计算, 表明三种氨基酸在 THz 波段的吸收主要由分子的转动及扭动造成, 而分子的转动及扭动频率与分子的结构有关, 所以, 三种氨基酸

分子在 THz 波段不同的吸收峰位应是由它们的结构不同所致. 对比三种氨基酸的分子式, 酪氨酸相比苯丙氨酸在苯环上多了一—OH 键, 而色氨酸则相比苯丙氨酸增加了环状结构. Yu 利用密度泛函理论研究色氨酸, 认为它在 THz 波段的吸收正是与其环状结构的转动和扭动有关^[13]. 将理论计算与实验结果相结合, 确定氨基酸吸收谱中各吸收峰的成因, 对进一步分析氨基酸分子的结构和动力学特性具有重要意义.

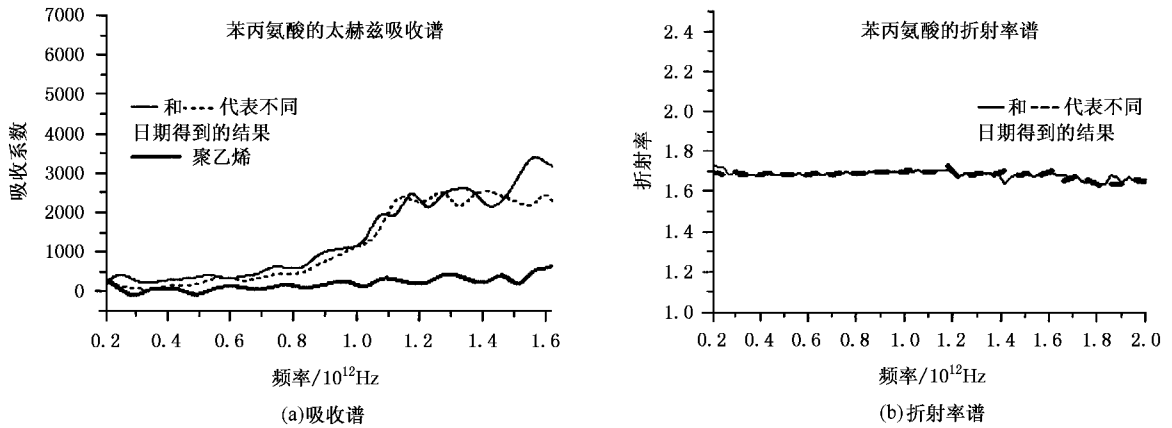


图 7 苯丙氨酸吸收和折射率谱

4. 结 论

本文利用 THz 时域光谱研究了三种芳香族氨基酸,即苯丙氨酸,酪氨酸和色氨酸在 THz 波段的光学特性,获得了它们在 0.2—1.6THz 波段的吸收谱和折射率谱,并报道了上述三种氨基酸在这一波

段的平均折射率. THz 时域光谱实验发现酪氨酸和色氨酸分别在 0.976THz 和 1.465THz 处有明显吸收峰,通过理论计算,初步确认了氨基酸分子在 THz 波段吸收峰是由分子转动和扭动造成的. 本文所得结果不仅表明 THz 时域光谱可以用于研究生物大分子的结构和动力学特性,而且对进一步研究蛋白质等其他生物大分子具有重要的指导和借鉴意义.

- [1] Mickan S P and Zhang X C 2003 *Int. J. High Speed Electron. Syst.* (Singapore) **13** 601
- [2] Wen J H and Lin W Z 1998 *Progress in Physics* **18** 1742 (in Chinese) [文锦辉、林为株 1998 物理学进展 **18** 1742]
- [3] Wang S H, Ferguson B, Zhang C L and Zhang X C 2003 *Acta Phys. Sin.* **52** 120 (in Chinese) [王少宏、Ferguson B、张存林、张希成 2003 物理学报 **52** 120]
- [4] Cao J C, Liu H C and Lei X L 2000 *J. Appl. Phys.* **87** 2867
- [5] Cao J C 2003 *Phys. Rev. Lett.* **91** 237401
- [6] Cao J C and Lei X L 2003 *Phys. Rev. B* **67** 085309
- [7] Shen Y C, Upadhyay P C, Linfield E H and Davies A G 2004

Vibrational Spectroscopy **35** 111

- [8] Markelz A G and Roitberg A 2000 *Chem. Phys. Lett.* **320** 42
- [9] Taday P F, Bradley I V and Amone D D 2003 *Journal of Biological Physics* **29** 109
- [10] Liu R and Gu C M 2004 *Acta Phys. Sin.* **57** 1217 (in Chinese) [刘 锐、顾春明 2004 物理学报 **57** 1217]
- [11] Dorney T D, Baraniuk R G and Mittleman D M 2001 *J. Pt. Soc. Am. A* **18** 1562
- [12] Miyamaru F *et al* 2003 *CLEO* '03 3
- [13] Yu B and Zeng F 2004 *Biophysical Journal* **86** 1649

THz spectrum of aromatic amino acid^{*}

Yue Wei-Wei Wang Wei-Ning Zhao Guo-Zhong Zhang Cun-Lin Yan Hai-Tao

(Department of Physics ,Capital Normal University ,Beijing 100037 ,China)

(Received 23 September 2004 ; revised manuscript received 17 December 2004)

Abstract

We have studied the optical properties of three kinds of aromatic amino acids including tyrosine , tryptophane and phenylalanine using THz time domain spectroscopy between 0.2 and 1.6 THz. Comparing their absorption spectra ,we find that tyrosine and tryptophane have sharp absorption peaks at 0.976THz and 1.465THz respectively ,while phenylalanine does not have absorption peak in this range. This result shows the capability of THz time domain spectroscopy to distinguish different molecules. Calculating by density functional ,we found that the absorption peaks are caused by the rotation and torsion of the molecules. The average refractive indexes of these three amino acids are also obtained ,they are 1.507 ,1.526 and 1.686 respectively. This work not only is significant for the research of molecular structure and molecular dynamics ,but can also provide reference for studying other large biological molecules by THz time domain spectroscopy.

Keywords : THz time domain spectroscopy , aromatic amino acid , absorption spectrum , molecular dynamics

PACC : 3220F , 8715B , 8715H

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 10390160 and 10474067) ,the Science and Technology Development Foundation from the Education Commission of Beijing ,China(Grant No. KM200410028004) and the Laboratory Open Foundation from Beijing Key Lab for Nano-photonics and Nano-Structure.