

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.08.013

基于太赫兹—衰减全反射光谱的甘氨酸溶液定量研究

Quantitative analysis of glycine solutions by Terahertz attenuated total reflection (THz-ATR) spectra

程 丽¹ 马 微² 刘 祺¹ 小川雄一³

CHENG Li¹ MA Wei² LIU Qi¹ OGAWA Yui-chi³

(1. 黑龙江大学农业微生物技术教育部工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150500; 2. 中华人民共和国东宁海关技术中心, 黑龙江 东宁 157299; 3. 京都大学农学研究科, 日本 京都 6068502)

(1. *Engineering Research Center of Agricultural Microbiology Technology, Ministry of Education, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150500, China*; 2. *Technology Center of Dongning Customs District P R China, Dongning, Heilongjiang 157299, China*; 3. *Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 6068502, Japan*)

摘要:采用太赫兹衰减全反射光谱, 研究 20~450 cm^{-1} 范围内不同浓度甘氨酸水溶液的光谱信息, 将光谱进行二阶导数预处理后, 选择不同波数进行随机组合, 确定最适三波数组组合模型, 并建立最适拟合三元线性回归方程。结果表明, 分别在 65.56, 127.28, 173.56, 308.55 cm^{-1} 处出现清晰的吸收峰; 回归方程 R_{Adj}^2 为 0.990 3, 均方根误差为 0.005 7, 预测均方根误差为 1.658 9。

关键词:太赫兹衰减全反射; 甘氨酸水溶液; 定量分析; 二阶导数; 多元线性回归

Abstract: Terahertz attenuated total reflection spectroscopy was employed to investigate the terahertz absorption spectra of different concentration glycine solutions within 20~450 cm^{-1} at room temperature. There are four clear absorption peaks at 65.56, 127.28, 173.56, 308.55 cm^{-1} respectively. The 2nd derivative spectra and the multiple linear regressions were employed to perform the quantitative analysis of the glycine solution concentration. Randomly combine different wave numbers, the optimum ternary linear regression equation was gained. The R_{Adj}^2 was 0.990 3, the Root Mean Square Error (RMSE) was 0.005 7, the Root Mean Squares Error of Prediction (RMSEP) was 1.658 9.

Keywords: Terahertz attenuated total reflection; glycine solutions; quantitative analysis; 2nd derivative; multiple linear re-

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究(面上)项目(编号: 12511411)

作者简介:程丽(1978—), 女, 黑龙江大学副教授, 博士。

E-mail: chengli@hlju.edu.cn

收稿日期:2019-05-16

gressions

太赫兹(Terahertz, THz)频段是指频率从 0.1~10.0 THz, 波长 0.03~3.00 mm, 波数 3.3~330.0 cm^{-1} , 介于微波与红外之间的电磁辐射区域, 被称之为 T 射线^[1]。研究表明, 食品的主要成分如碳水化合物^[2]、脂肪^[3]、蛋白质^[4]、氨基酸^[5]、肽^[6]、维生素^[7]等在 THz 波段存在特征吸收峰。THz 波具有非破坏性、穿透性、低能性, 作为食品检测的理想光源, 在食品安全检测^[8]、储粮品质检测^[9]、食品添加剂^[10]、食品无损检测^[11]等方面具有巨大的应用潜能。但检测样品均为固体, 主要是水分在 THz 波段的吸收极强(水在 1 THz 处的吸收系数为 230 cm^{-1})^[12], 使得 THz 波无法穿透水溶液, 严重限制了 THz 光谱技术的应用, 而多数食品均为含水液态样品。研究发现, 将样品进行预处理(如冷冻切片^[13]、反胶束制备^[14])或使用特殊的检测单元(如可调光程液体池^[15]、微流控芯片^[16]等)可实现高含水量样品的检测, 但难以实现液体样品的检测。

衰减全反射(Attenuated Total Reflectance, ATR)光谱, 利用光波的一次或多次全反射形成消逝波, 当消逝波接触待测样品时, 样品中的某些成分会吸收消逝波, 造成全反射光能量的损失, 从而得到待测样品的 ATR 光谱。ATR 光谱被广泛用于红外、可见、紫外区域。由于 THz 波段波长较长, 消逝波渗透样品深度大, 得到的被测物光谱信息较多, 故 THz-ATR 光谱更适用于 THz 波段液体样品的检测^[17-18]。

甘氨酸是结构最简单的氨基酸,常用作食品添加剂和防腐剂。结晶是甘氨酸生产的关键环节,其影响因素众多,实时浓度测定为其影响因素之一,因此准确、快速、无损获得实时浓度对甘氨酸的生产至关重要^[19]。目前,常用的检测甘氨酸方法有激光拉曼光谱法^[20]、原子吸收分光光度法^[21]、荧光分光光度法^[22]、柱前衍生 HPLC 法^[23]等,但其预处理较繁琐。试验拟利用太赫兹-衰减全反射(THz-ATR)系统,以不同浓度甘氨酸水溶液为研究对象,以获得其 THz-ATR 光谱信息。并将其原始光谱进行二阶导数预处理,借助多元线性回归(MLR)进行定量分析,为 THz-ATR 光谱应用于水溶液定性定量分析提供有效方法。

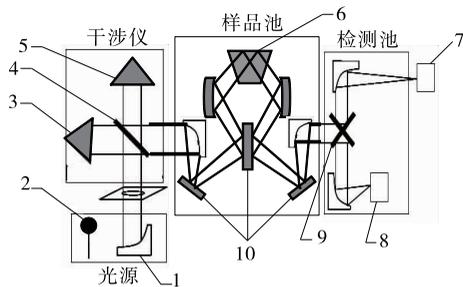
1 材料与方 法

1.1 样品制备

甘氨酸:纯度≥99.9%,美国 Sigma 公司。将样品溶于蒸馏水中配制成 28 个不同浓度(0%~20%)水溶液,随机选取 20 个样品作为建模样品集,其余 8 个样品为检验样品集。

1.2 试验装置

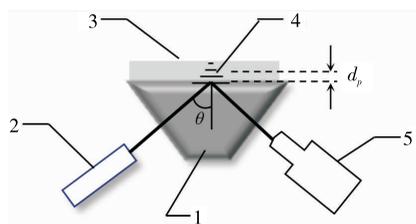
试验所采用的 THz-ATR 装置如图 1 所示。此 THz-ATR 装置为自行设计并由日本 JASCO 公司完成组装。装置由光源、干涉仪、样品池及检测池 4 部分组成。光源为高压水银灯,光谱范围 20~450 cm⁻¹;分光镜为高抗阻硅分光镜,硅在太赫兹频段具有高折光率、高机械强度、抗腐蚀及低色散,故内部全反射装置选用硅棱镜,如图 2 所示。接触面光束直径为 5 mm,即样品与消逝波接触面直径。检测器采用热电检测器,高灵敏度的氦代 L-丙氨酸硫酸三甘肽检测器。为减少由于水蒸气引起的太赫兹波衰减,采用真空度为 10² Pa。以水为参照测定样品的 THz-ATR 光谱,光谱分辨率 16 cm⁻¹,扫描次数 200 次,重复测定 3 次取平均值。消逝波穿透深度按式(1)进行计算。



1. 抛物面镜 2. 水银灯 3. 固定镜 4. 分光镜 5. 移动镜 6. 硅棱镜 7. 辐射热检测器 8. 热电检测器 9. 转换镜 10. 反光镜

图 1 THz-ATR 装置图

Figure 1 Schematic of the THz-ATR



1. ATR 棱镜 2. THz 波 3. 样品 4. 消逝波 5. 检测器

图 2 ATR 内部全反射装置图

Figure 2 Schematic of the internal reflection element of ATR

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi \sqrt{n_1^2 \sin^2 \theta - n_2^2}}, \quad (1)$$

式中:

λ ——入射波波长,mm;

θ ——入射角角度,(°);

n_1 ——ATR 棱镜折射率;

n_2 ——样品折射率。

1.3 THz-ATR 图谱处理方法

将不同浓度的样品溶液 THz-ATR 光谱叠加后平均,得出该浓度样品的 THz-ATR 原始光谱图,利用 Origin 8.0 软件对原始光谱进行二阶导数预处理。

1.4 数据处理

采用 Origin 8.0 软件将二阶导光谱数据进行多元线性回归,建立最佳多波数组合回归方程,并用检验样品集对回归方程进行评价,预测均方根误差按式(2)进行计算。

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (c_i - \hat{c}_i)^2}{n}}, \quad (2)$$

式中:

RMSEP——预测均方根误差;

c_i ——第 i 个样品的真值;

\hat{c}_i ——第 i 个样品的预测值;

n ——待测样品数。

2 结果与分析

2.1 甘氨酸溶液的 THz-ATR 光谱图

由图 3 可知,不同浓度甘氨酸水溶液的 THz-ATR 光谱在 20~450 cm⁻¹处有 4 个明显的吸收峰,其吸收峰位置分别为 65.56, 127.28, 173.56, 308.55 cm⁻¹。65.56, 173.56 cm⁻¹处吸收峰分别代表甘氨酸分子与水分子之间的 OH(Gly)—O(H₂O)及 C=O(Gly)—O(H₂O)的拉伸;127.28,308.55 cm⁻¹处吸收峰代表甘氨酸分子与水分子间的氢键作用力,与 Chaban 等^[24]利用密度泛函计算得到的理论值接近。且随着甘氨酸浓度的增加衰减全反射吸收明显增强,说明利用此光谱进行定量分析是可行的,

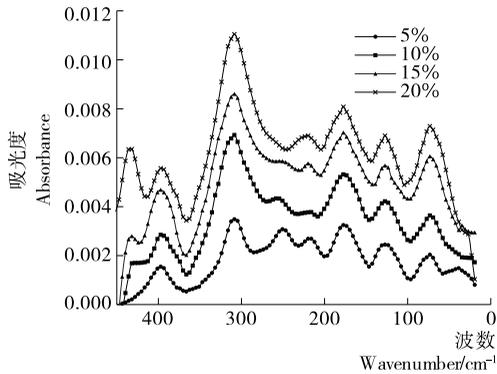


图3 不同浓度甘氨酸水溶液 THz-ATR 光谱图

Figure 3 THz-ATR spectra of the different concentration glycine solutions

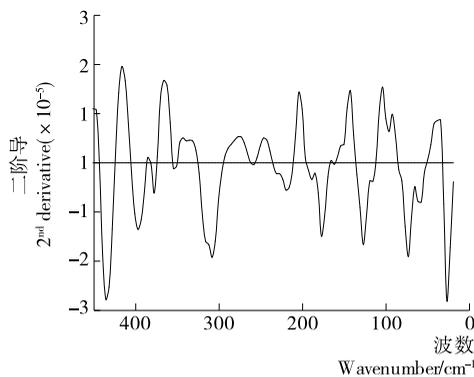


图4 20%甘氨酸水溶液 THz-ATR 二阶导数预处理光谱图

Figure 4 The 2nd derivative of the THz-ATR spectrum of 20% glycine solution

但由于水的强吸收作用光谱基线发生漂移。

2.2 甘氨酸溶液 THz-ATR 光谱的二阶导数预处理

由图4可知,甘氨酸溶液的二阶导数光谱图有效地改善了原始 THz-ATR 光谱的基线漂移问题。

2.3 定量模型的建立

根据多元线性回归建模原理,结合表1,选择 R_{Adj}^2 高, $RMSEP$ 最小的三波数组合,即 65.56, 127.28, 308.55 cm^{-1} 为最佳波数组合,建立拟合方程。

$$y = -0.16 - 9.880.89x_1 - 2.279.11x_2 - 7.106.65x_3, \quad (3)$$

式中:

y ——甘氨酸含量, %;

$x_1 \sim x_3$ ——分别为 65.56, 127.28, 308.55 cm^{-1} 处甘氨酸溶液二阶导数光谱图吸光度值。

模型的真实值与预测值间的关系如图5所示,甘氨酸浓度为 0%~20%。真实值与预测值间 R^2 为 0.928 8, 线性关系较好。

表1 甘氨酸水溶液二阶导数光谱及原始光谱多元线性回归分析

Table 1 Multiple linear regression analysis results based on 2nd derivative of the THz-ATR spectra and original spectra of glycine solutions

最佳波数/ cm^{-1}	R_{Adj}^2	RMSE	RMSEP
173.56	0.983 0	0.007 5	2.254 6
65.56, 308.58	0.989 0	0.006 0	2.200 1
65.56, 127.28, 308.58	0.990 3	0.005 7	1.658 9
65.56, 127.28, 173.56, 308.58	0.989 9	0.005 8	1.987 8
原始光谱	0.832 1	0.013 6	3.371 6

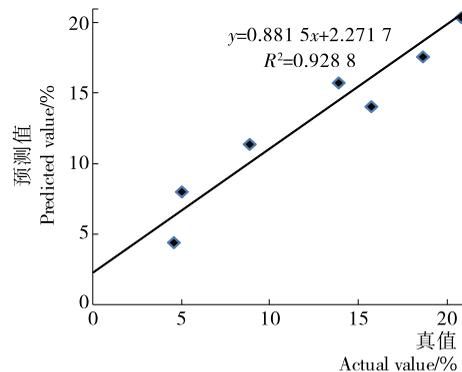


图5 预测值与实际值关系图

Figure 5 Scatter plot between actual and predicted glycine concentration

3 结论

利用 THz-ATR 光谱结合多元线性回归对甘氨酸水溶液进行定性、定量分析。结果表明, THz-ATR 光谱技术能用于 THz 波段液态样品的检测,且与其他方法相比,该方法无复杂的样品前处理过程,可直接上样,检测单元简单,为较理想的 THz 波段液态样品检测方法。为使定量检测更准确,后续应对建模方法进行研究。

参考文献

- [1] DMITTLEMAN D M, GUPTA M, NEELAMANI R, et al. Recent advances in terahertz imaging[J]. Applied Physics B, 1999, 68(4): 1 085-1 094.
- [2] SHIN H J, OH S J, KIM S I, et al. Conformational characteristics of beta-glucan in laminarin probed by terahertz spectroscopy[J]. Applied Physics Letters, 2009, 94 (11): 1 911-1 913.
- [3] LI Jun-sheng, LI Xiang-jun. Determination principal component content of seed oils by THz-TDS[J]. Chemical Physics Letters, 2009, 476(1/2/3): 92-96.

- [4] XIE Li-juan, YAO Yang, YING Yi-bin. The application of terahertz spectroscopy to protein detection: A review [J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2014, 4(6): 448-461.
- [5] KIKUCHI N, TANNO T, WATANABE M, et al. A membrane method for terahertz spectroscopy of amino acids [J]. Analytical Sciences, 2009, 25(3): 457-459.
- [6] KUTTERUF M R, BROWN C M, IWAKI L K, et al. Terahertz spectroscopy of short-chain polypeptides [J]. Chemical Physics Letters, 2003, 375(3/4): 337-343.
- [7] 于斌, 黄振, 王晓燕, 等. 烟酸和烟酰胺及烟碱的太赫兹光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 2 334-2 337.
- [8] 马微, 程丽, 单艺, 等. 太赫兹科学技术在食品质量安全领域的应用研究进展 [J]. 肉类研究, 2015, 29(11): 39-43.
- [9] 杨东, 苑江浩, 常青, 等. 太赫兹光谱技术在储粮品质检测中的应用 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 823-829.
- [10] 李天莹, 蒋玲, 章龙, 等. 太赫兹光谱技术在食品添加安全领域的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 359-363.
- [11] KAWASE K, OGAWA Y, WATANABE Y. Non-destructive terahertz imaging of illicit drugs using spectral fingerprints [J]. Optics Express, 2003, 11(20): 2 549-2 554.
- [12] QUERRY M R, WIELICZKA D M, SDGELATEIN D J, et al. Handbook of optical constants of solids II [M]. San Diego: Elsevier Science, 1991: 1 059-1 077.
- [13] HOSHINA H, HAYASHI A, MIYOSHIO N, et al. Terahertz pulsed imaging of frozen biological tissues [J]. Applied Physics Letters, 2009, 94(12): 123.
- [14] MURAKAMI H, TOYOTA Y, NISHII T, et al. Terahertz absorption spectroscopy of protein-containing reverse micellar solution [J]. Chemical Physics Letters, 2012, 519/520(1): 105-109.
- [15] NIEHUES G, HEYDEN M, SCHIMIDT D A, et al. Exploring hydrophobicity by THz absorption spectroscopy of solvated amino acids [J]. Faraday Discussions, 2011, 150(5): 193-207.
- [16] 韩雪, 苏波, 张存林. 一种太赫兹微流控芯片 [J]. 太赫兹科学与电子信息学报, 2015, 13(4): 536-539.
- [17] NAGAI M, YADA H, ARIKAWA T, et al. Terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy in water and biological solution [J]. International Journal of Infrared and Millimeter Waves, 2006, 27(4): 505-515.
- [18] SHIRAGA K, OGAWA Y, KONDO N, et al. Evaluation of the hydration state of saccharides using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2013, 140(1/2): 315-320.
- [19] 林少耕. 甘氨酸连续化生产工艺研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2003: 22-25.
- [20] 林玲, 朱占元, 王兰. 基于激光拉曼光谱的甘氨酸水溶液定量分析方法研究 [J]. 广东化工, 2019, 46(2): 92-93.
- [21] 王传岭, 于敏, 张雅倩. 原子吸收分光光度法间接测定甘氨酸的研究 [J]. 山东化工, 2019, 48(10): 95-96.
- [22] 李国强, 孟建新. 果汁饮料中甘氨酸添加剂的荧光分光光度分析 [J]. 化学研究与应用, 2005, 17(2): 780-782.
- [23] 母丹丹, 龚小见, 赵超, 等. 柱前衍生 HPLC 法测定滚山珠中 3 种氨基酸的含量 [J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2018, 36(3): 29-35.
- [24] CHABAN G M, CHABAN B G. Anharmonic vibrational spectroscopy of the glycine-water complex: Calculations for ab initio empirical, and hybrid quantum mechanics/molecular mechanics potentials [J]. The Journal of Chemical Physics, 2001, 115(3): 1 340.

(上接第 68 页)

参考文献

- [1] 魏志勇, 刘颖秋, 余志刚. 组甜的应用及研究进展 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(12): 252-255.
- [2] 张金峰, 沈寒晰, 张存社. 新型甜味剂组甜研究进展 [J]. 应用化工, 2010, 39(10): 1 574-1 577.
- [3] 郭跃平, 石梦迪, 徐广伟, 等. HPLC 法测定乳饮料中组甜含量的研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(5): 184-186.
- [4] 周玉, 董孝元, 余义, 等. LC-ESI-MS/MS 测定白酒中甜味剂组甜的方法研究 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(10): 143-146.
- [5] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS—GL006: 2019 化学分析中不确定度的评估指南 [S]. 北京: 中国计量出版社, 2019: 7-9.
- [6] 卫星华, 李卓, 张亚锋, 等. 高效液相色谱法测定黄酒中组甜的不确定度评定 [J]. 中国酿造, 2017, 36(10): 167-170.
- [7] 孙洁, 孙立臻, 秦凤姣, 等. 高效液相色谱法测定白酒中组甜含量的不确定度评定 [J]. 酿酒科技, 2017, 37(12): 78-82.
- [8] 祝海珍. HPLC 法测定动物肝脏中维生素 A 含量的不确定度评定 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(7): 160-165.
- [9] 闫顺华, 叶青, 韩瑄焯, 等. GC-MS/MS 法测定白酒中 3 种塑化剂含量的不确定度评定 [J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 43-48, 78.
- [10] 邵亮亮, 赵美凤, 宁晖, 等. 高效液相色谱法测定小麦中脱氧雪腐镰刀菌烯醇含量的不确定度评定 [J]. 食品科学, 2016, 37(12): 232-237.
- [11] 李涛, 周艳华, 杨滔, 等. UPLC-MS/MS 法测定虾肉中氯霉素残留量的不确定度分析 [J]. 食品与机械, 2017, 33(7): 61-64, 99.