

文章编号:1005-4642(2021)08-0043-04

学  
生  
园  
地



## 利用太赫兹时域光谱检测四环素类抗生素

王毅凡,张鹏鲲,张天丞,黄韞飞,  
唐浩洋,谈 澳,冯晋晖,李恒一

(中国科学技术大学 物理学院,安徽 合肥 230026)

**摘 要:**利用太赫兹时域光谱技术,探究 4 种常见的四环素类抗生素(四环素、金霉素、土霉素及强力霉素)在 0.2~2.5 THz 波段的分子特性. 用傅里叶变换进行时域光谱分析,结果表明这些四环素类抗生素在太赫兹波段具有不同的特征吸收峰,利用此特征设计出定性鉴别抗生素种类的方法.

**关键词:**太赫兹时域光谱;四环素类抗生素;吸收系数;特征吸收峰

**中图分类号:**O657.3

**文献标识码:**A

**DOI:**10.19655/j.cnki.1005-4642.2021.08.008

抗生素一般是指由微生物或高等动植物在生活过程中产生的次级代谢产物. 或根据抗生素的化学结构人工合成的类似物,其中四环素类抗生素是由放射菌产生的一类广谱抗生素. 四环素(TCs)对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌(包括 Spirochete,放线菌和支原体)具有广泛的抗菌谱. 在日常生活中,抗生素主要用于兽药添加剂来预防动物疾病,有时也作为动物饲料添加剂来促进动物生长. 在四环素类抗生素中,四环素(TC)、土霉素(OTC)、强力霉素(DTC)和金霉素(CTC)应用最广泛<sup>[1]</sup>. 带 TCs 残留的牛奶或肉制品的可能导致摄入者出现中毒或过敏反应,也可能使摄入者产生对抗生素的耐药性<sup>[2]</sup>.

为确保食品安全,一些检测食品中是否含有 TCs 的方法被提出,其中使用最广泛的方法是反相液相色谱,其优点是灵敏度较高,缺点是周期长、成本高,而且样品制备过程复杂<sup>[3]</sup>. 近年来,光谱方法也被应用于 TCs 残留检测领域,光谱方法的优点是无损性且样品预处理过程简单<sup>[4-5]</sup>. 但是传统的光谱方法都有其自身的局限性,例如,近红外光谱(NIR)通常适合定性分析而不适合定量分析.

太赫兹波频率一般是在 0.1~10 THz 范围

内的电磁波,波长在 0.03~3 mm 范围内,介于微波与红外波段之间. 与传统光源相比,太赫兹波具有瞬态性、低能性、宽带性以及相干性等优势<sup>[6-7]</sup>. 同时,太赫兹波谱也因具有极强的透射性、高分辨率及与生物大分子作用敏感等优点,被广泛应用到各种领域. 很多生物分子在太赫兹波段都有明显的特征吸收峰,因而太赫兹谱在食品、药品、生物医学等领域有重要的应用价值<sup>[8]</sup>.

本文利用太赫兹时域光谱技术(Terahertz time-domain spectroscopy, THz-TDS)研究不同种类的四环素类抗生素在太赫兹波段的光谱特征,为奶制品等食品中抗生素的检测提供快速、无损、低成本、准确性高的方法.

### 1 实验准备

#### 1.1 样品制备

本文研究 4 种四环素类抗生素,包括盐酸四环素(TCH)、盐酸金霉素(CTHC)、盐酸土霉素(OTCH)和盐酸强力霉素(DTCH),所有样品的纯度均大于 99%,且购买于同一批次. 实验前均放在恒温恒湿箱中保存,未经过其他预处理. 实验样品制备采用粉末压片法,首先将样品在玛瑙研钵中充分研磨,然后与高密度聚乙烯(HDPE)

**收稿日期:**2021-02-24;**修改日期:**2021-04-06

**基金项目:**中国科学技术大学校级教学研究项目(No. 2018xjyxm26)

**作者简介:**王毅凡(2000-),男,安徽安庆人,中国科学技术大学物理学院微电子专业 2018 级本科生.  
E-mail:fanmaksim@mail.ustc.edu.cn

**通讯作者:**李恒一(1985-),男,安徽亳州人,中国科学技术大学物理学院实验师,博士,主要从事微纳光子学设计及物理实验教学. E-mail:hengyili@ustc.edu.cn



粉末按照一定比例进行充分混合,最后在压片机下制成厚度约为 1.5 mm,直径约为 1.5 cm 的圆形薄片.在做分类鉴别研究时,每种四环素类抗生素制备 3 个样品,按照 1:2 比例将抗生素样品与高密度聚乙烯粉末混合,共有 12 个样品作为待测样品.为防止样品吸收空气中的水蒸气,每次样品制备前都要将研钵和药匙用乙醇洗涤并烘干,样品制备后立即放入密封袋中.

## 1.2 实验装置

实验装置使用透射式的 THz-TDS 系统,其原理图<sup>[9]</sup>如图 1 所示.飞秒激光器用于产生脉冲飞秒激光,分束器将光束分为探测光和泵浦光.其中,泵浦光经过延迟线,控制其相对于探测光的延迟时间,此后,经过太赫兹波产生单元产生太赫兹脉冲.产生的太赫兹光聚焦后透过样品,到达太赫兹探测单元.同时,探测飞秒光也入射至太赫兹探测单元,通过电光采样获得太赫兹时域脉冲信号.为了使样品被稳定地放置在光谱仪上,本文自主设计了样品夹持装置,由 2 片圆形钕磁铁和 1 片长方形不锈钢片中心挖除样品大小的圆圈组成.经过多次实践尝试,证实该装置可以有效地固定待测样品.

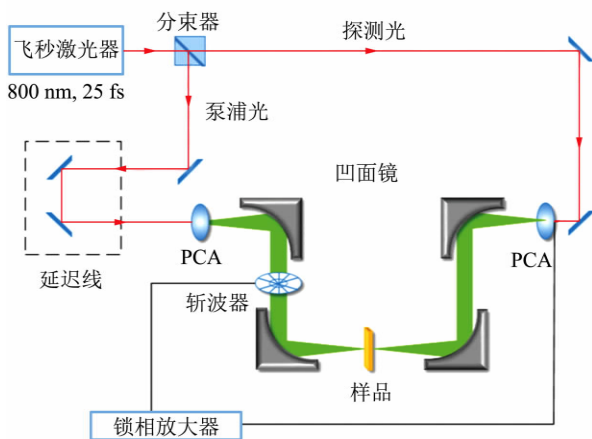


图 1 透射式时域光谱的光路图

## 2 实验方法

### 2.1 数据采集

数据采集通过 LabVIEW 软件实现.在实验中,设定延迟线的起始延时值 220 ps,终止延时值 280 ps,步长 0.1 ps.采集到的信息为不同延时对应的信号强度,也就是原始太赫兹时域光谱信号.对于每个样品,转动样品,取 3 个不同的点位测

量.每个点位测量 3 次,即每个样品测量 9 组原始光谱数据.

### 2.2 吸收系数计算

通过测量得到样品的太赫兹脉冲信号和空气参考信号的振幅和相位信息,利用样品信号  $E_s(\nu)$  和参考信号  $E_r(\nu)$  计算得到透射系数  $T(\nu)$ ,透射系数定义<sup>[9]</sup>为

$$T(\nu) = \frac{E_s(\nu)}{E_r(\nu)} = \frac{4n}{(n+1)^2} \exp \left[ -\frac{\alpha d}{2} + \frac{i2\pi\nu(n-1)d}{c} \right], \quad (1)$$

式中: $\nu$  为频率, $d$  为样品厚度, $c$  为真空中的光速, $\alpha$  为吸收系数, $n$  为折射率.定义幅值比  $\rho(\nu) = \left| \frac{E_s(\nu)}{E_r(\nu)} \right|$ ,相位差  $\varphi(\nu) = \arg \left[ \frac{E_s(\nu)}{E_r(\nu)} \right]$ .根据式(1)中的实部和虚部,可以计算出样品的折射率  $n$  和吸收系数  $\alpha$  为

$$n(\omega) = \varphi(\omega) \frac{c}{\omega d} + 1, \quad (2)$$

$$\alpha(\omega) = \frac{2k(\omega)\omega}{c} = \frac{2}{d} \ln \left\{ \frac{4n(\omega)}{\rho(\omega)[n(\omega)+1]^2} \right\}, \quad (3)$$

式中: $\omega = 2\pi\nu$  为角频率, $k(\omega)$  为消光系数.可以根据以上公式计算出折射率与吸收系数,并画出  $\alpha \sim \nu$  关系,得到待测样品的吸收谱.

## 3 结果与分析

### 3.1 光谱信号的原始时域数据

将采集到的原始数据画图,得到样品信号和参考信号的时域图像如图 2 所示.从时域图像上可以看出,含有抗生素的样品对太赫兹信号吸收明显.相对参考信号,待测样品的时域信号幅值从 0.6 下降到 0.35,峰的位置也有约 0.6 ps 的向后位移.太赫兹脉冲信号的幅值信号下降程度对应样品的吸收系数,而峰位置的时间后移量和样品的折射率相关.因此,利用太赫兹脉冲信号可以获取样品的折射率和光吸收系数信息.

### 3.2 不同种类四环素类抗生素的吸收谱

在室温下利用 THz-TDS 测量了所有待测样品,为了保证实验的准确性,每个样品测 3 次取平均值,得到样品的太赫兹时域信号.将原始时域信号经过 Savitsky-Golay 滤波预处理后,再通过傅里叶变换后得到每种抗生素的太赫兹频谱信号,由式(1)~(3)计算得到样品在 0.3~2.0 THz 范围内的吸收系数.

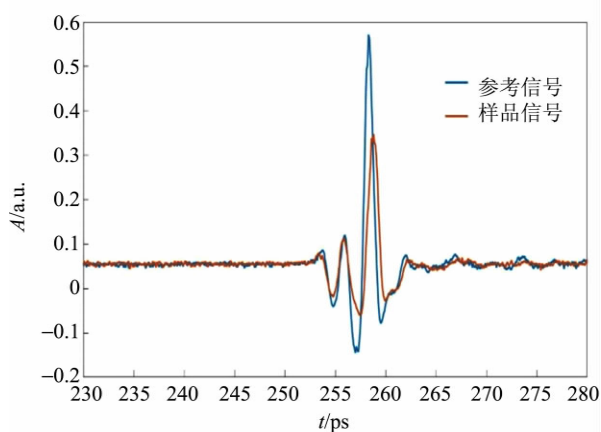
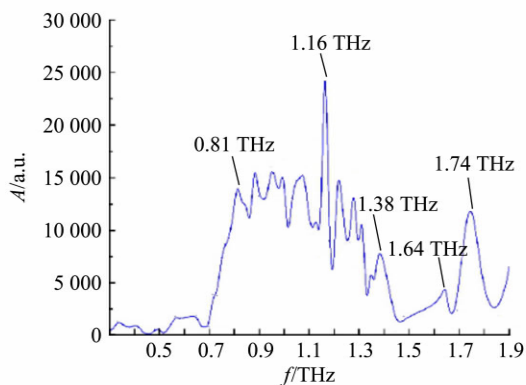
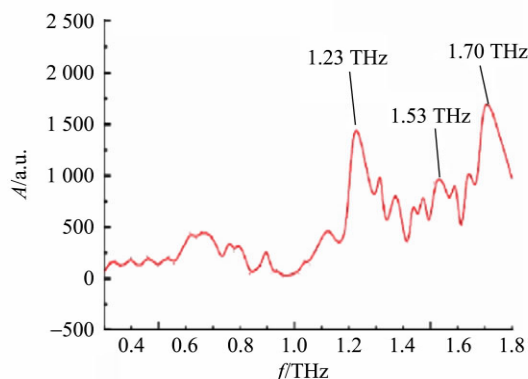


图 2 样品信号和参考信号的时域光谱图

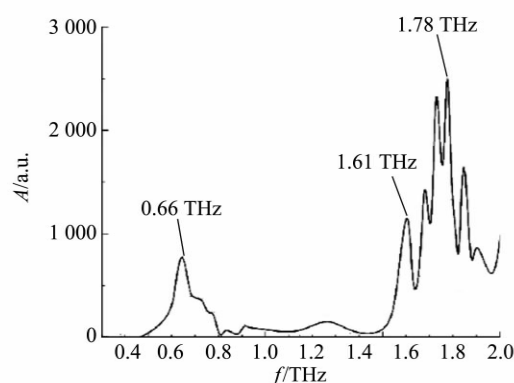
4 种四环素类抗生素物质的太赫兹吸收谱如图 3 所示,虽然这些四环素类抗生素物质具有相似的分子结构,但每种物质在太赫兹波段都有明显不同的特征吸收峰,体现了太赫兹对生物分子的指纹谱特性. 红外波段光谱表征的多为分子内化学键的转动/振动,而太赫兹光谱表征的是生物大分子的振动,不同的分子对应不同的振动频率,因而对生物分子表现出特征吸收峰. 针对实验中测量的 4 种抗生素,盐酸四环素的太赫兹吸收系数最大,盐酸土霉素的太赫兹吸收系数最小,但 4 种抗生素的吸收系数呈现随着频率增加而增大的趋势. 这表明,若利用更高更宽频谱的太赫兹谱去表征这些抗生素,可获取更多抗生素分子的振动频率信息. 此外,图 3 中这些吸收峰并不是尖锐的峰,说明分子之间的振动模式存在耦合,从而使得峰产生拓宽. 总体而言,不同种类抗生素的太赫兹吸收频谱存在很大差异,可通过太赫兹特征吸收谱对四环素类抗生素物质进行种类鉴别.



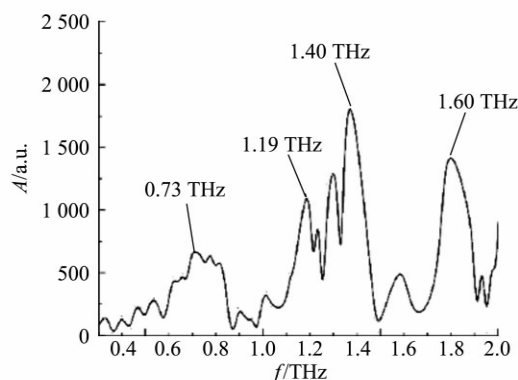
(a) 盐酸四环素



(b) 盐酸土霉素



(c) 盐酸金霉素



(d) 盐酸强力霉素

图 3 4 种四环素类抗生素的太赫兹吸收谱

### 3.3 分析讨论

实验中存在一些不足之处,如在制样过程中,需将样品与高密度聚乙烯粉末按照一定比例进行充分混合,并在压片机下制成薄片. 然而,薄片厚度并不均匀,且聚乙烯粉末浓度越大这种不均匀的情况越明显,制成的薄片也越容易损坏. 因此,在压片过程中需要探索合适的压强值以及改变聚乙烯粉末的颗粒尺寸. 在实验过程中,空气中的

水蒸气对太赫兹脉冲有一定的吸收作用,对实验测量存在干扰,导致信号存在波动.若彻底排除水蒸气的影响,信号信噪比将会进一步提升.

#### 4 结束语

太赫兹时域光谱技术利用太赫兹脉冲在样品表面发生反射或透射,测得通过样品后的空气参考信号和样品测量信号,然后通过快速傅里叶变换将时域光谱变换为频域光谱,经过频域光谱处理,提取出样品的折射率、吸收系数等参量.本文利用太赫兹时域光谱仪研究了4种常见的四环素类抗生素在0.3~2.0 THz波段的生物分子特性,结果显示这4种四环素类抗生素具有明显不同的特征吸收峰.利用该原理可定性研究及鉴别抗生素类别和定量检测抗生素含量.

#### 参考文献:

- [1] Zhou J H, Xue X F, Li Y, et al. Multiresidue determination of tetracycline antibiotics in propolis by using HPLC-UV detection with ultrasonic-assisted extraction and two-step solid phase extraction [J]. Food Chemistry, 2009,115(3):1074-1080.
- [2] Fritz J W, Zuo Y G. Simultaneous determination of tetracycline, oxytetracycline, and 4-epitetracycline in milk by high-performance liquid chromatography [J]. Food Chemistry, 2007,105(3):1297-1301.
- [3] Blasco C, Corcia A D, Pico Y. Determination of tetracyclines in multi-specie animal tissues by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2009,116(4):1005-1012.
- [4] Raz S R, Bremer M, Haasnoot W, et al. Label-free and multiplex detection of antibiotic residues in milk using imaging surface plasmon resonance-based immunosensor [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(18):7743-7749.
- [5] Conzuelo F, Campuzano S, Gamella M, et al. Integrated disposable electrochemical immunosensors for the simultaneous determination of sulfonamide and tetracycline antibiotics residues in milk [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2013,50(24):100-105.
- [6] Tonouchi M. Cutting edge terahertz technology [J]. Nature Photonics, 2007,1(12):97-105.
- [7] 李恒一,张权,赵伟,等. 石墨烯巴比涅互补结构的太赫兹波透射行为[J]. 物理实验,2017,37(12):6-9.
- [8] 张卓勇,张欣. 太赫兹时域光谱技术应用研究进展[J]. 光谱学与光谱分析,2016,36(S1):54-55.
- [9] 殷明,王建林,黄浩亮,等. 基于太赫兹时域光谱技术的黄酮类化合物研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2020,40(12):3919-3924.

## Detection of tetracycline antibiotics by terahertz time-domain spectrometer

WANG Yi-fan, ZHANG Peng-kun, ZHANG Tian-cheng,

HUANG Yun-fei, TANG Hao-yang, TAN Ao, FENG Jin-hui, LI Heng-yi

(College of Physics, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

**Abstract:** Using terahertz time-domain spectroscopy, the molecular characteristics of four kinds of common tetracycline antibiotics (tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline, doxycycline) were explored in the 0.2 ~ 2.5 THz wave band. Time-domain spectroscopy analysis by Fourier transform showed that the tetracycline antibiotics had different characteristic absorption peaks in the terahertz band. Therefore, a method for qualitative identification of antibiotics had been designed.

**Key words:** terahertz time-domain spectrometer; tetracyclines; antibiotic testing; qualitative analysis

[责任编辑:郭 伟]