

文章编号 1672-6634(2024)05-0144-11

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2024030003

氨基酸手性分子传感识别研究进展

杜莹莹, 亓丽梅, 赵桂英, 刘浩驰

(北京邮电大学 电子工程学院, 北京 100876)

摘要 氨基酸是生物系统中最重要的一类分子,在疾病诊断、药物合成、生命体特征监测等方面具有不可替代的作用。氨基酸手性分子对映体往往有类似的物理性质,但却具有完全不同的药理作用,因此高灵敏度氨基酸对映体的手性识别受到学术界的广泛关注。本论文对氨基酸手性识别领域进行了调研,归纳了近五年氨基酸手性分子的传感识别方法,重点总结了光谱学传感方法、石英晶体天平传感方法和电化学传感方法的现有成果及发展趋势,并对氨基酸手性识别的未来研究方向进行了展望,该工作将为手性分子的识别和发展提供重要参考和指导。

关键词 氨基酸;手性识别;光谱;传感方法

中图分类号 Q503;TP212

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Research Progress in Chiral Molecular Sensing Recognition of Amino Acids

DU Yingying, QI Limei, ZHAO Guiying, LIU Haochi

(School of Electronic Engineering, Beijing University of Posts and Telecommunications, Beijing 100876, China)

Abstract Amino acids are the most important molecules in biological systems, and they play an irreplaceable role in disease diagnosis, drug synthesis, and vital characteristics monitoring. Amino acid chiral molecular enantiomers often have similar physical properties but have completely different pharmacological effects, so the chiral recognition of high-sensitivity amino acid enantiomers has attracted extensive attention from the academic community. In this paper, we investigated the field of amino acid chiral recognition, summarized the sensing and identification methods of amino acid chiral molecules in the past five years, focused on the existing achievements and development trends of spectroscopic sensing methods, quartz crystal balance sensing methods and electrochemical sensing methods, and prospected the future research direction of amino acid chiral recognition, which will provide important reference and guidance for the identification and development of chiral molecules.

Key words amino acid; chiral recognition; spectrum; sensing methods

收稿日期:2024-03-07

基金项目:国家自然科学基金项目(62175016,61875017)资助

通信作者:亓丽梅,女,汉族,博士,教授,博士生导师,研究方向:手性分子识别及太赫兹传感器, E-mail: qilimei1204@163.com。

0 引言

手性是自然界的本质属性之一,蛋白质、核酸、多糖等作为生命活动重要基础的生物大分子具有手性。分子结构存在镜面对称性的分子称为手性分子,这样的分子互为对映体^[1]。互为对映体的手性分子具有类似的物理性质,但在生物体中往往存在完全不同的功能和性质。一个典型的例子就是 20 世纪 60 年代发生在欧洲的“反应停”事件^[2],孕妇服用胺胺哌啶酮而导致海豹畸形儿。研究表明胺胺哌啶酮的对映体中只有一种手性分子具有镇静作用,另一种对映体则有强烈的致畸作用。氨基酸是生物功能大分子蛋白质的基本组成单位,是构成生命体所需蛋白质的基本物质,同时也是许多药物分子的重要组成片段。氨基酸的手性识别在生命体构建、食品工业、天然产物和医药等领域都发挥着至关重要的作用^[3]。但是,手性氨基酸的种类繁多,结构相似,对应的特征谱难以直接区分,在手性识别方面存在巨大挑战。常规方法已应用于氨基酸的对映选择性分析,例如液相色谱法^[4]、质谱法^[5]和核磁共振波谱法^[6]。但是这些方法仍然存在不少弱点,例如检测设备昂贵、实验操作复杂,所以,往往需要借助高灵敏度的传感器。2021 年,于等^[7]详细介绍了在电化学和石英晶体微天平方面识别氨基酸对映体的传感技术路线,虽然提到了光学测量方法,但只是简单从需要和不需要精密仪器的光学方法分类,对于传感技术的介绍不够全面。因此详细梳理近几年使用光谱学、电化学、石英晶体天平传感方法识别氨基酸手性分子的技术和发展具有重要的现实意义和参考价值。

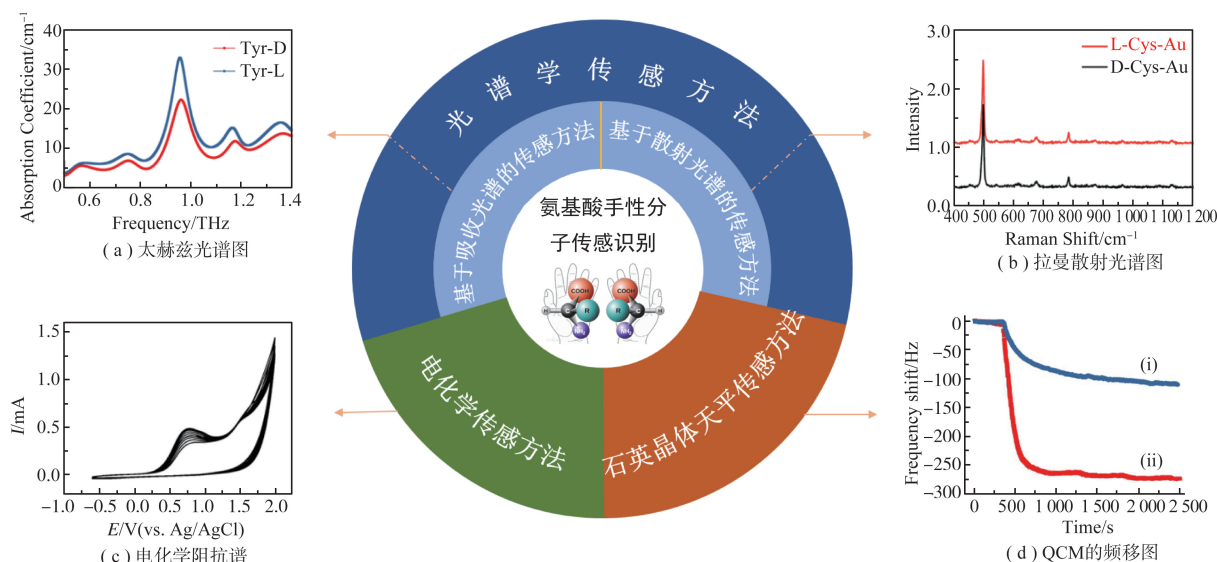


图 1 氨基酸手性分子传感识别示意图^[8-11]

Fig. 1 Schematic diagram of amino acid chiral molecule sensing recognition

表 1 近五年氨基酸手性分子传感识别研究进展

Table 1 Research progress in sensing and recognition of chiral amino acid molecules in the past five years

方法	原理	优缺点	代表性传感材料
光谱学传感方法	可分为吸收光谱、散射光谱,见图 1(a,b)	响应快,但传感设备成本高,推广性差	等离子体结构 ^[12] 、超构表面 ^[13]
石英晶体天平传感方法	手性不同会引起石英晶体的频偏,见图 1(d)	灵敏度高,但实验环境要求高,设备昂贵	有机和无机传感层 ^[14]
电化学传感方法	手性不同引起电信号差异性变化,见图 1(c)	方便小型化,但破坏样本,特异性差	生物分子 ^[15] 、纳米粒子 ^[16] 、金属有机框架 ^[17]

本文首先从光谱学传感方法、石英晶体天平传感方法和电化学传感方法三个方面分析,图 1 展示了该传感方法用来分析氨基酸手性的结果图。其中光谱学传感方法最为普遍,基于光谱信号的不同,又可进一步分为基于吸收光谱的传感方法^[8]和基于散射光谱的传感方法^[9],代表性的传感材料有等离子体结构^[12]和超构表

面^[13]。石英晶体天平传感方法是利用手性分子包覆在石英晶体上引起的振荡频率的偏移区分^[11],代表性的传感材料有有机和无机传感层^[14]。电化学传感方法是借助手性界面与电极之间产生特异性的电流信号进行区分^[10],代表性的传感材料有生物分子^[15]、纳米粒子^[16]、金属有机框架^[17]。表1给出了传感方法的类型、原理、优缺点及其代表性的传感材料。最后,基于本课题组的研究工作,论文对氨基酸手性分子识别的未来发展方向进行了展望。

1 光谱学传感方法

1.1 基于吸收光谱的传感方法

基于紫外-可见光谱(Ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis)的传感方法是利用分子对紫外线和可见光的吸收来提供有关其电子结构的信息。近几年,氨基酸手性识别在紫外-可见波段大多通过观察表面等离子体共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)信号实现。由于其高灵敏度、低样品需求和无损无标记检测,表面等离子体共振技术引起了极大的关注^[18]。手性选择器可以固定在等离子体材料表面,并允许手性对映体的高选择性捕获,这可以增加表面折射率,从而改变共振吸收峰的位置。因此,需要为SPR传感器寻找一种具有高立体特异性和高稳定性的手性选择器来实现吸收光谱的手性定性与定量分析。2022年,Zhou等^[19]创建了一种直接分析型光纤SPR的D-氨基酸(Amino Acid, AA)生物传感器,如图2(a)所示,当浓度高于 5×10^{-4} mmol/L时,D-缬氨酸(Valine, Val)的波长偏移随着浓度的增加而增加,而L-Val的波长偏移保持在不超过7 nm。该传感器可以检测超低浓度的D-AAs,检测限(Limit of Detection, LOD)为 1.09×10^{-9} mmol/L。同年,Leite等^[12]证明了具有远紫外手性响应的铝等离子体纳米结构可以实现超薄氨基酸膜的对映体鉴别,如图2(b)所示,增强的手性生物传感是通过手性生物分子和手性等离子体近场之间的共振相互作用实现的。通过在纳米结构上蒸发酪氨酸的超薄薄膜,表明微量的生物分子可以干扰等离子体手性信号,并能够区分对映体。2024年,Maniappan等^[20]使用生物分子半胱氨酸作为手性前体和封端剂合成手性铜纳米颗粒(Copper Nanoparticles, CuNPs),与组氨酸(Histidine, His)相互作用会导致纳米颗粒向金属配

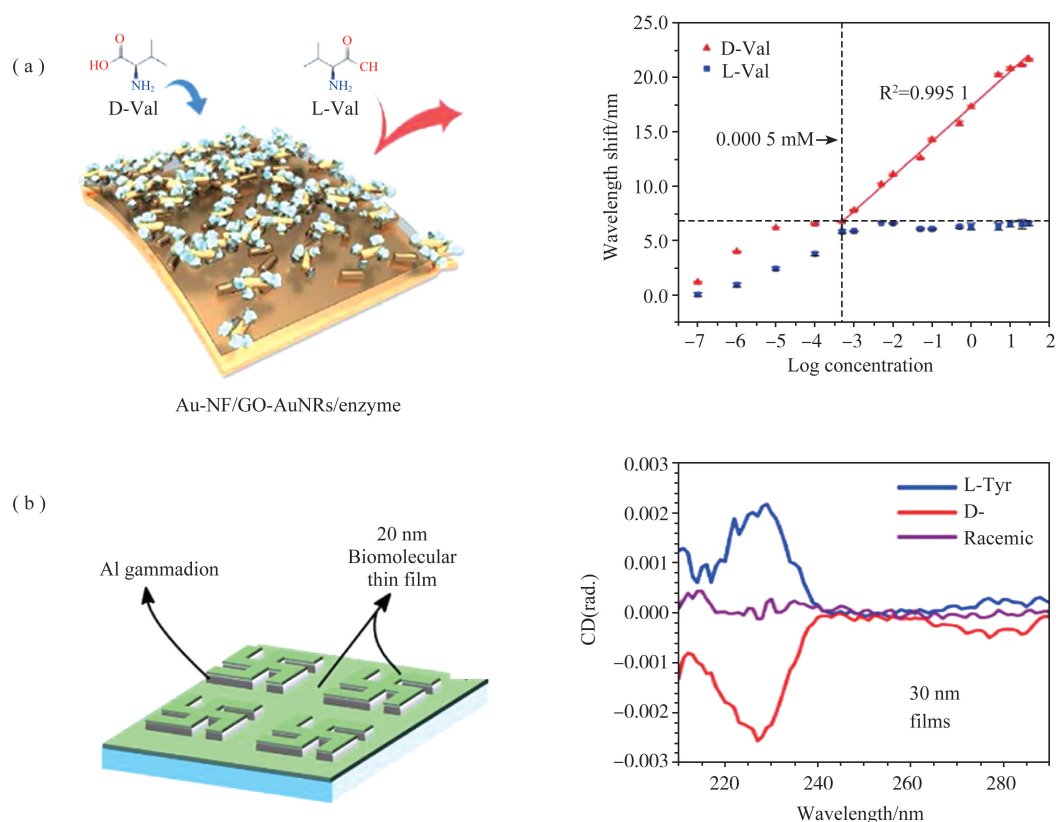


图2 (a) SPR生物传感器实现Val的手性识别^[19]; (b) 铝等离子体纳米结构实现Tyr的对映体鉴别^[12]

Fig. 2 (a) The chiral recognition of Val achieved by SPR biosensor; (b) enantiomer identification of Tyr by aluminum plasma nanostructures

合物转化。实验证明,L CuNPs 与 L-His 相互作用后,配合物的圆二色性(Circular Dichroism,CD)信号发生翻转;而与 D-His 相互作用后,配合物的 CD 信号只会增强,表明 CuNPs 可以识别氨基酸对映体。

荧光光谱是样品分子中的电子被激发进入高能态,然后发生荧光辐射的过程。在荧光光谱法中,底物分子与手性选择剂相结合,然后在吸收和发射荧光时会发生旋光现象,从而实现手性识别和分离。金属有机骨架(Metal-organic Frameworks,MOFs)具有高度有序的晶体结构、高孔隙率、丰富的活性位点以及可调节的结构和功能,作为传感材料受到越来越多的关注^[21]。2023年,Zhang等^[22]通过基于刚性联萘酚骨架的高手性吡啶官能化前体的配位定向组装,制备了一种具有良好水稳定性的新型发光MOF。MOF-1可以被开发成具有中等对映选择性的手性感测脯氨酸和精氨酸的荧光探针。荧光分子探针是手性氨基酸进行荧光识别的常用工具,近几年,使用双响应荧光探针同时获得氨基酸浓度和对映体组成是分子探针的研究热点^[23]。作为碳纳米材料的后起之秀,碳点(CDs)具有独特的荧光、易于合成、优异的生物相容性和高光稳定性的特性。2021年,Hou等^[24]以L-半胱氨酸(Cystine,Cys)为手性源,采用一步水热法合成了手性碳量子点(Chiral Carbon Quantum Dots,CCQDs)。在L-异亮氨酸(Isoleucine,Ile)存在下,CCQDs的荧光强度明显增强,而在D-Ile存在下,CCQDs的荧光强度没有明显变化。该手性传感系统响应速度快,CCQDs可在5min内识别出Ile对映体,对映选择性(IL/ID)可达2.2。

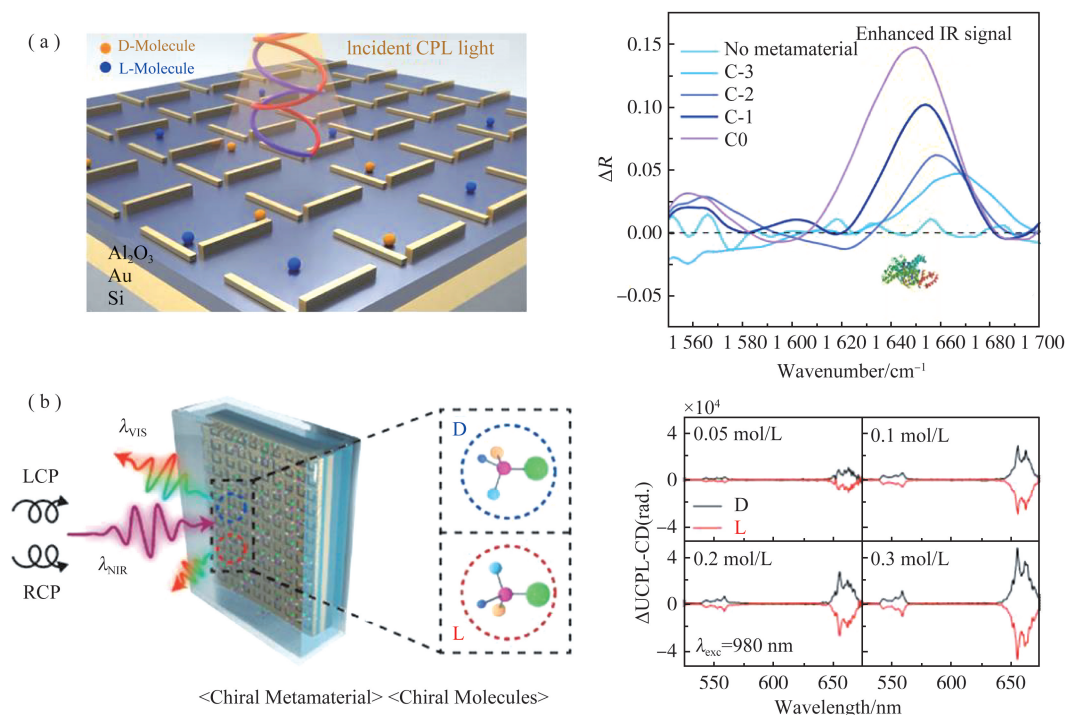


图3 (a) 反射手性超材料检测表面增强振动圆二色性手性分子^[25]; (b) 利用手性超材料得到的上转换信号区分分子手性^[13]

Fig. 3 (a) Surface enhanced vibratory circular dichroic chiral molecules detected by reflective chiral metamaterials;

(b) Molecular chirality is distinguished by upconversion signals obtained from chiral metamaterials

红外光谱(Infrared,IR)是利用分子对红外光的吸收来提供分子振动模式和结构的信息,通过比较L-构型和R-构型的振动模式来确定分子的手性。这种振动圆二色性(Vibrational Circular Dichroism,VCD)光谱利用了对圆偏振光和红外指纹的不对称响应,能够识别分子的多维结构信息。2023年,Xu等^[25]在实验中展示了利用反射手性超材料检测表面增强的振动圆二色性信号来识别手性分子,如图3(a)所示。在手性超材料设计中,通过扩大面内和面外不对称性来优化红外手性等等离子体超材料纳米结构,这种设计分别影响了近场耦合和损耗,可以获得12.5 ng/ μ L的低浓度和1 μ L的小样品体积的手征信号,与传统的VCD传感性能相比,性能提高了6个数量级。在近红外区域当评估CD的差异时,使用等等离子体结构的手性传感方法的性能还是受到小幅度变化的严重限制。几项研究表明,使用基于镧系元素的上转换纳米粒子检测两种对映体之间的微小CD差异是具有可行性的^[26]。2022年,Lee等^[13]设计并制造了一种手性超材料,其在RCP光

激发下在近红外区域具有巨大的电场和手性场增强,如图 3(b)所示。此外合成上转换纳米粒子并嵌入手性超材料的介电层中,通过吸收近红外光发射可见光范围内的上转换信号。由于上转换信号差异较大,对映体选择性检测的分辨率显著提高。

太赫兹(Terahertz, THz)是 0.1~10 THz 的频率范围的电磁波,位于微波和红外频带之间。太赫兹吸收光谱提供了关于分子之间的弱相互作用和对构象和构型变化敏感的集体振动的丰富信息^[27]。Zhou 等^[28]提出了组氨酸对映体(L)及其外消旋化合物(DL)的太赫兹吸收光谱,用太赫兹时域光谱测量了多晶 L-和 DL-组氨酸的吸收光谱差异。高检测灵敏度的一种方法是使用微结构太赫兹传感器芯片,如超表面。超表面可以在设计的 THz 频段产生高度局域化的多极环形共振、不对称 Fano 共振、anapole 诱导共振和电磁感应透明(Electromagnetic Induction Transparency, EIT)。2023 年,Shi 等^[29]将 THz 相移传感方法用于基于偏振相关电磁感应透明超表面的氨基酸检测,如图 4(a)所示。基于等电点理论开发了一种将特异性氨基酸结合到超表面修饰的功能蛋白上的方法, L-精氨酸的检测精度为 2.5×10^{-5} g/mL。由于功能化超表面对 L-精氨酸的特异性静电吸附,其检测灵敏度和精密度比其他氨基酸高 22 倍。此外,通过比较非官能化和官能化的超表面,精氨酸的 D-和 L-手性对映体因其与官能化超表面的不同结合能力而被区分。2021 年, Zhang 等^[30]提出了一种新的太赫兹传感方法,基于太赫兹反射时域偏振光谱系统和手征超表面传感器,如图 4(b)所示。具有相同浓度的 D-和 L-对映体可以通过特征频率下 THz 极化参数的显著差异来定性区分。与传统的 THz 透射光谱系统相比,反射系统可以增加检测信号的强度,提高信噪比。2023 年, Shi 等^[31]又设计了一种构建在 anapole 超表面传感器上的手性选择性生物分子膜,实现了氨基酸对映体的手性识别,如图 4(c)所示。所提出的传感器即使在水环境中也能提供具有强 THz 反射信号的超高局域场。利用它来检测不同浓度的 L-蛋氨酸(Methionine, Met)和 L-苯丙氨酸(Phenylalanine, Phe),最高检测灵敏度为 0.516 GHz · mL/μmol,检测限可达纳摩尔级。

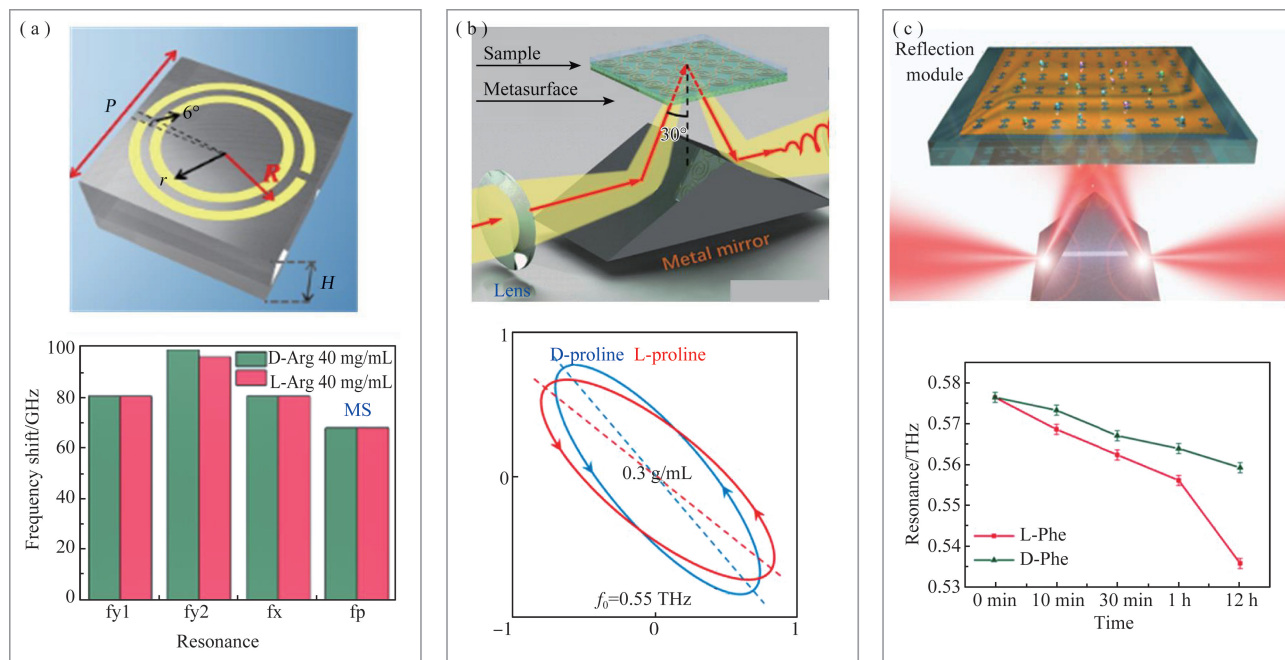


图 4 (a) EIT 超表面实现对精氨酸的对映体识别^[29]; (b) 太赫兹时域反射系统中利用手征超表面实现对脯氨酸的对映体鉴别^[30]; (c) anapole 超表面实现苯丙氨酸的对映体识别^[31]

Fig. 4 (a) EIT metasurface achieves Arginine enantiomer recognition; (b) enantiomer identification of Proline using chiral metasurface in terahertz time-domain reflectometry system; (c) enantiomer recognition of Phenylalanine by anapole metasurface

1.2 基于散射光谱的传感方法

拉曼散射是光学领域中一种非常特殊的非弹性光散射效应。由于分子振动的独一性,会产生与入射光具有特定频率差值的散射光,从而获得分子的结构信息和化学成分,其散射谱也被称为分子指纹谱^[32]。具有表面增强拉曼散射(Surface-enhanced Raman Scattering, SERS)效应的金纳米结构总是用作拉曼检测的

基底。金纳米结构的修饰允许手性检测的各种物理或化学相互作用^[9]。2021年, Sun等^[33]构建半胱氨酸修饰的金纳米粒子(Gold Nanoparticles, Au NPs)手性选择器, 由于 Cys 和 Au NPs 之间的对映选择性相互作用, 具有相同性的酪氨酸(Tyrosine, Tyr)对映体的特征拉曼散射强度比 Tyr 的反对映体的对映体选择性地提高了四倍以上。2021年, Leong等^[34]设计不对称纳米多孔金碗(Nanoporous Gold Bowls, NPGBs), NPG 上的表面原子缺陷作为局部不对称位点, 将色氨酸(Tryptophan, Trp)表面增强拉曼散射谱与 NPG 相结合, 外部电位可以进一步调节分析物与表面相互作用, 以实现最大相互作用和 SERS 信号放大, 如图 5(a)所示。对映体特异性 Trp-NPGb 的相互作用表现为对映体特异性 SERS 峰的位置和峰强度比的明显变化, 再利用化学计量学快速分析法进行分类。

分子印迹聚合物(Molecularly Imprinted Polymers, MIPs)作为高度靶特异性的聚合物分子识别材料越来越受到重视, 在分离科学、催化、分子传感和药物输送方面具有广泛的潜在应用^[35]。手性分子印迹技术可以获得对给定手性靶标具有预定对映选择性结合特性的 MIPs。与此同时, 手性印迹系统(CISs)已被广泛开发, 各种各样的手性结合位点已被印迹到不同的材料中, 用作拉曼增强散射谱的基底会大大提高信号强度。2022年, Arabi等^[36]提出了一种基于 SERS 的检查器识别机制(IRM), 如图 5(b)所示, 在手性识别后, 检查器分子仔细检查手性印迹空腔的状态, 并精确识别多种良好对映体的特异性结合, 打破了分子印迹聚合物手性配体的特异性结合。

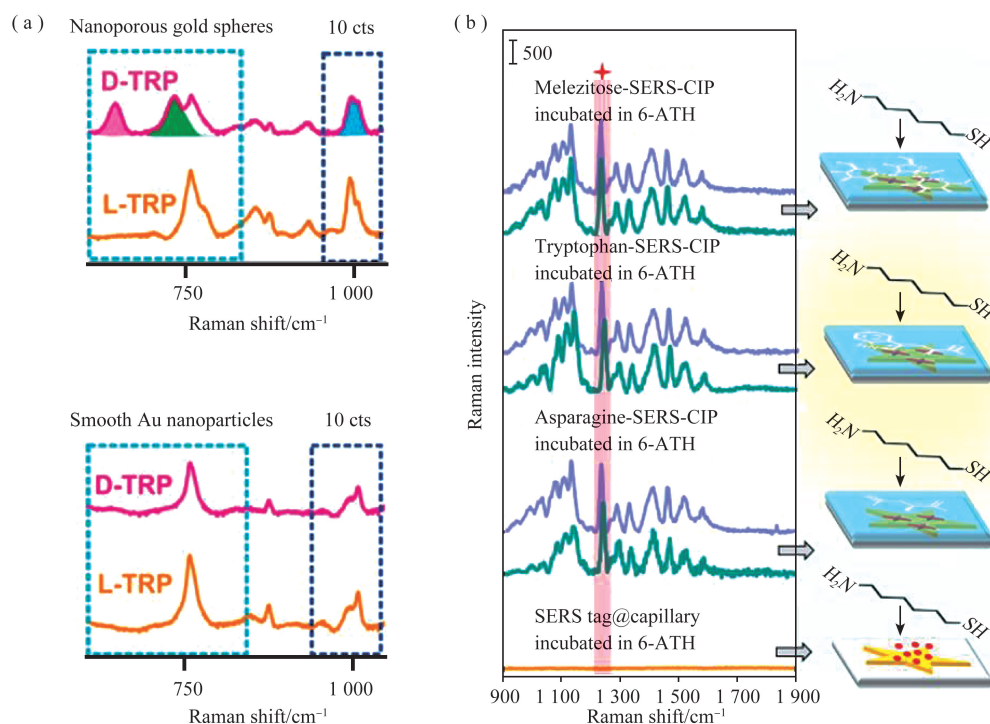


图5 (a) 不对称纳米多孔金碗对 Trp 对映体的特异性拉曼散射信号的增强^[34]; (b) 使用 IRM 系统识别天冬氨酸^[36]

Fig. 5 (a) Enhancement of the specific Raman scattering signal of the Trp enantiomeric by the asymmetric nanoporous gold bowl; (b) Use the IRM system to identify Asparticacid

2 石英晶体天平传感方法

石英晶体微量天平(Quartz Crystal Microbalances, QCM)因为可以轻松、快速、廉价地检测干燥和含水条件下的低浓度分析物, 所以有许多关于 QCM 在生物分析物传感中的应用研究, 如碳水化合物、抗生素、细菌和 DNA。在 QCM 系统中, 被吸附物的质量与石英振荡的频移之间的关系可以用 Sauerbrey 方程表示, 该方程定义为^[37]

$$\Delta f = -c_f \Delta m, \quad (1)$$

式中 Δf 是观察到的频率变化(以赫兹为单位), Δm 是石英上单位面积的质量变化(以 $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 为单位), c_f

是晶体的灵敏度因子。QCM 的检测效率主要依赖于电极表面的识别层,环状大分子,分子印迹聚合物,金属有机框架和氨基酸衍生物等可以用作识别层。在大分子中,杯 $[n]$ 芳烃(n 尤其是 4、6 或 8)是环状多酚,是带电和中性分子有吸引力的优秀受体,因为它们具有独特的三维结构,具有许多衍生化可能性,可以在碱性条件下通过对叔丁基苯酚与甲醛缩合大规模合成获得。由于其出色的传感性能,它们已被用作传感器应用的有前途的材料^[38]。Temel 等^[11]将氨基酸基团连接到杯芳烃骨架上以促进手性识别,合成了新的手性杯 $[4]$ 芳烃结构单元,其上边缘带有手性胺和氨基醇部分,下边缘带有二硫化物部分,用它们包覆 QCM 石英晶体,实验表明,具有手性杯 $[4]$ 芳烃的 QCM 传感器对丙氨酸对映体表现出良好的选择性手性识别,而它们对其他氨基酸对映体没有表现出良好的选择性手性识别。手性杯 $[4]$ 芳烃包覆的 QCM 传感器的结果如图 6 (a)所示,对于 L-丙氨酸溶液,灵敏度为 $0.028 \text{ Hz}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L})$,LOD 为 $60.9 \mu\text{mol/L}$,时间常数为 36.2 s 。实验证明,在分子识别过程中,有机传感层很容易引起振荡或分离的耗散,削弱信号转移。在长期储存或重复使用后,有机传感层也可能与表面分离或失去活性。

研究发现,金属在高米勒指数表面可以产生手性^[39]。例如,当具有面心立方(Face Center Cube, FCC)结构的非手性铜(Cu)或铂(Pt)产生一个不沿对称方向的平面时,具有不对称位点的金属表面可能成为手性。这些表面会与对映异构体产生不同构象的种族,从而表现出不同的吸附能力。基于扫描隧道显微镜的原位观察也证明了氨基酸和金属之间的相互作用会诱导金属表面的手性堆积,手性金属表面可能为构建具有手性检测和手性分离能力的新型手性传感器提供新的潜在平台。2021 年, Xiao 等^[14]揭示了没有有机选择层的裸露金属表面在 QCM 系统中具有手性识别的能力。在各种手性氨基酸的吸附过程中, QCM 检测表明 D-对映体在金表面具有相对较高的选择性,如图 6(b)所示。这些结果为 QCM 系统的手性检测提供新的视角。

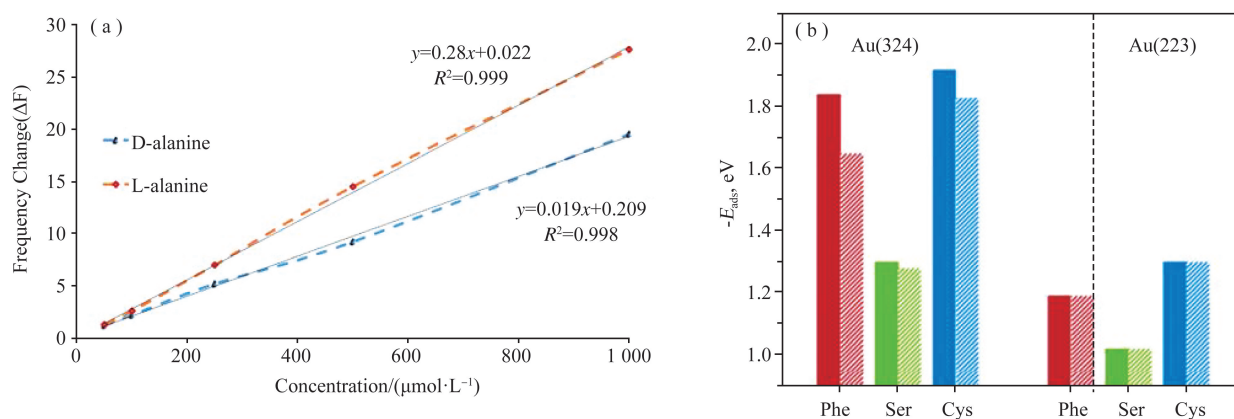


图 6 (a) 石英晶体微天平传感器对不同浓度丙氨酸对映体响应的校准曲线^[11]; (b) 苯丙氨酸、丝氨酸和半胱氨酸的 Au(324) 和 Au(223) 的计算吸附能^[14]

Fig. 6 (a) Calibration curves for the response of the quartz crystal microbalance sensor toward alanine enantiomers in different concentrations; (b) The calculated adsorption energies on Au(324) and Au(223) for Phenylalanine, Serine, and Cysteine.

在无机手性纳米材料中,具有可调结构和多种物理化学特征的手性过渡金属氧化物越来越多地被应用于手性传感和检测。多重光散射和吸收增强了多级手性结构的光吸收,赋予手性 ZnO 在圆二向色光谱、圆偏振光和拉曼散射中的高度不对称性。2023 年,手性氧化锌(ZnO)被用作构建用于氨基酸对映选择性鉴别的 QCM 传感器的选择器^[40]。使用蛋氨酸诱导的自组装策略合成手性 ZnO,通过 CD 光谱可以观察到产生了高拓扑手性,再将 L-ZnO 通过多巴胺衍生物固定在 QCM 表面。测量 L-ZnO 表面上对不同氨基酸的响应频率偏移来评估传感器的手性鉴别性能。结果表明,该传感器对天冬氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸和精氨酸的手性鉴别因子分别为 1.89 ± 0.04 、 1.76 ± 0.11 、 1.66 ± 0.07 和 1.54 ± 0.09 。与 D-对映异构体相比, L-对映异构体在 L-ZnO 表面的吸附性增强。此外,采用分子对接技术揭示了识别机制,反映了手性鉴别受到对映异构体与手性 ZnO 表面之间不同空间相互作用的影响。

3 电化学传感方法

电化学分析方法是一种非常重要的手性分析方法。电化学手性识别的一个关键过程是在玻碳电极上构建手性表面,该表面可以识别两种对映异构体之间的微小差异。有两类手性电极,第一类是电极本身是手性的,如 Au(321)、Ag(643)、Pt(531),第二类是用手性分子修饰非手性电极。针对第二类,将手性分子与手性选择剂反应,可以获得手性选择性电极(Chiral Selective Electrode, CSE)。CSE 可以用来测定混合物中的对映体含量,这对于手性药物研究和生产等具有重要的意义。蛋白质型或者氨基酸分子是一种常见的表面修饰材料。2021 年,Wei 等^[15]成功制备了牛血清蛋白(BSA)/TiO₂ 电化学界面,可以支持丰富的手性识别位点。D/L-Asp 的对映选择性鉴别是在界面上实现的,在 1 至 1 000 nmol/L 的浓度范围内与阻抗差具有良好的线性关系,L-Asp 的检测限为 0.37 nmol/L,D-Asp 的检测限为 0.94 nmol/L,达到 1.85 的识别系数($I_c = K_L/K_D$)。导电聚合物也可以作为构建电化学手性传感界面的修饰材料。聚苯胺是最有前途的导电聚合物之一,由于引入了过硫酸铵,掺杂聚苯胺不仅具有极高的电子传输性能和稳定性,而且比本征态聚苯胺更有利于 BSA 的吸附。2023 年,Yao 等^[41]通过硫酸铵掺杂聚苯胺(APS-DPANI)与牛血清白蛋白(BSA)的吸附功能化构建了手性传感平台,图 7(a)所示。APS-DPANI 的导电性和 BSA 的结合能力使该传感平台在差分脉冲伏安法(DPV)测试中对色氨酸(Trp)对映体具有识别效果,L-和 D-异构体的检测限分别为 0.071 和 0.047 8 mmol/L。

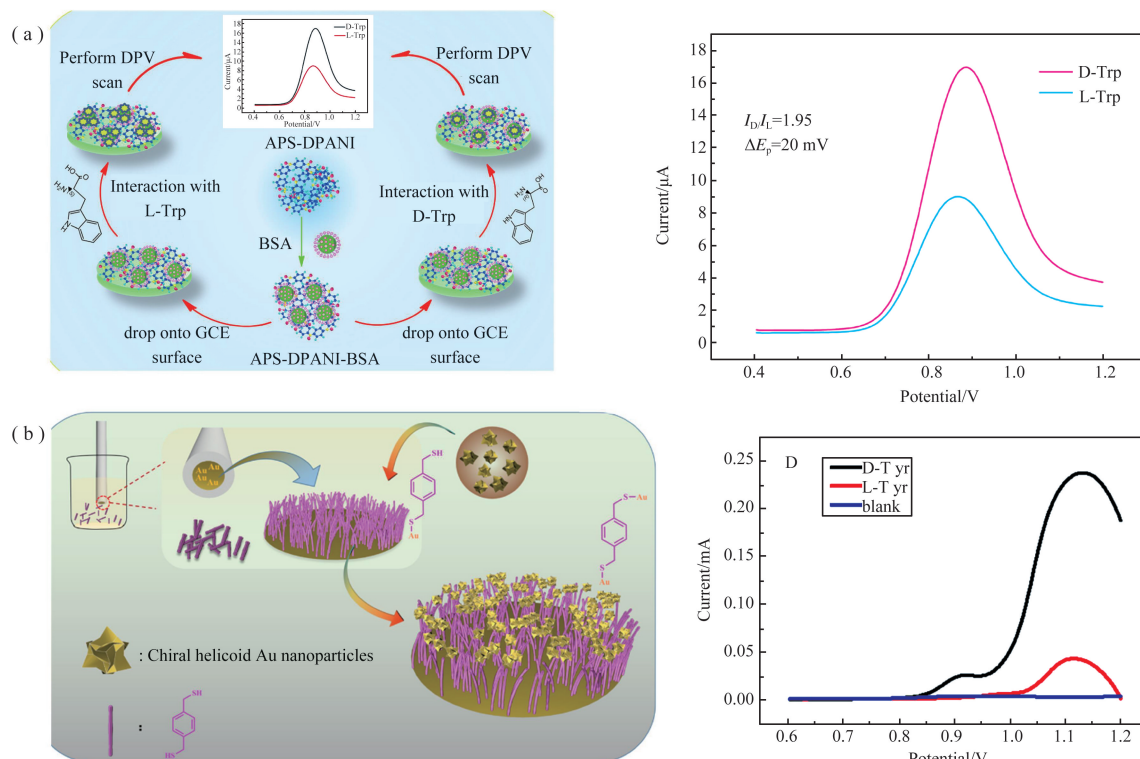


图 7 (a) APS-DPANI 与 BSA 结合的手性传感平台使用 DPV 实现对映体鉴别^[41];

(b) 螺旋状金纳米粒子修饰的电极可以识别酪氨酸的对映体^[16]

Fig. 7 (a) The chiral sensing platform combined with APS-DPANI and BSA uses DPV to realize enantiomer identification;

(b) The enantiomers of Tyr can be recognized by the electrode modified by spiral gold nanoparticles

具有固有手性的金纳米粒子是最稳定的手性纳米材料之一,除了可以增强光学手性响应,也可构建手性电极用于电化学传感。2022 年,Li 等^[16]将具有内手性的螺旋状金纳米粒子用于制备电化学手性传感器。采用自组装方法在金电极上构建了对映选择性界面,图 7(b)所示。通过微分脉冲伏安法(Differential Pulse Voltammetry, DPV)方法观察到 Tyr 对映体的峰电流相差约 6 倍。此外,DPV 峰值电流与 L-Tyr 浓度之间存在良好的线性关系。石墨烯(RGO)是一种典型的二维碳纳米材料,由于其优异的性能,如高机械强度、良

好的导电性、快速的电子转移和大的比表面积,被认为是一种理想的传感材料,同样适合电化学应用。2022年,Pei等^[42]设计了两种RGO-Au/L-Glu和RGO-Au/D-Glu复合材料来构建手性传感界面。金纳米粒子与石墨烯(RGO-Au)结合后,一方面提高了石墨烯的团聚效果,增加了比表面积,另一方面可以提高石墨烯的导电性,使其具有优异的电化学活性。结果表明,RGO-Au/L-Glu/GCE对色氨酸对映体的手性识别效率最高。手性MOFs作为电化学传感器的工作原理一般基于手性识别和电化学检测,当样品溶液中的手性分子进入手性MOFs孔洞时,只有手性对映匹配的底物才能与手性MOFs结合,在电极表面发生电化学反应,从而产生电流信号。2021年,Tong等^[17]在壳聚糖膜中形成固定的MOF纳米纤维来演示和表征同手性膜传感器。建立的手性传感器实现了对映体的灵敏度和D/L-Tyr的定量检测,从而为MOF纳米纤维/壳聚糖(MOF/CS)复合电化学传感器识别Tyr提供了潜在的应用前景。2024年,Yuan等^[43]将钌(II)与共价有机框架(Coalent-organic Framework, COF)的二吡啶基单元配位,并利用对映纯环己烷-1,2-二胺作为电化学发光(Electrochemiluminescence, ECL)活性单元,在辅致动试剂($K_2S_2O_8$)存在下会发射很强的ECL。使用制备的COF用作手性ECL活性平台时,观察到ECL强度对氨基酸(包括色氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸和组氨酸)的L-和D-对映异构体的响应有明显的区别,其中ECL强度的最大比值高达1.75,显著提高了氨基酸手性的识别率。

4 总结与展望

综上所述,近几年,在手性氨基酸对映体鉴别的研究方向上,从光谱学传感方法到电化学传感方法,在解决手性氨基酸本身特异性信号不明显的问题上都取得了很大进展,检测精度有大幅度提升,检测极限值是越来越低。在石英晶体天平传感方法中,有机传感层容易失去活性不利于长期保存使用,偏向于使用手性金属表面或者金属氧化物等无机传感层。这种识别方法可以实时获得识别结果,但检测仪器价格昂贵,对实验环境和实验样本的要求非常高。在电化学传感方法中,各种手性传感界面和传感技术层出不穷,譬如生物分子与聚合物结合的新型传感平台,多种金属纳米材料和碳纳米材料的强势加入,还有ECL传感技术推进了使用电化学传感识别氨基酸手性的研究进展。电化学传感器在便携式实时检测样本上具有一定的优势,但这种方式对样本的改变是不可逆的,不利于样本的再次利用。在光谱学传感方法中,利用生物分子和金属纳米结合的等离子体结构或超构表面来增强光谱中的共振信号,在识别结果虽有显著提高,但研发成本高。目前来看,石英晶体天平传感方法和电化学传感方法的相关研究比较成熟,利用太赫兹光谱实现生物分子识别的科研成果较少,但是发展潜力大,应用前景广阔。为此,结合文献调研结果和本课题组的研究工作,预期未来氨基酸手性分子的识别可从下面两方面展开。

4.1 基于太赫兹超表面传感器的氨基酸手性识别

与光波段相比,太赫兹辐射光子能量低,在进行生物检测时不会造成生物电离。太赫兹频段的电磁响应与分子整体结构的关联度更高。因此,研究太赫兹波和手性物质的互作用机理,有望成为鉴别手性生物分子、了解手性生物分子活性以及分子之间相互作用的有效手段。但是,很多手性物质无法直接通过太赫兹时域光谱技术进行鉴别,并且对手性样品吸收谱的理论分析大都通过量子化学计算软件,但模拟和测试结果往往不对应。太赫兹超表面传感器具有灵敏度高、响应速度快、无标记检测等优点,为手性生物分子的鉴别提供了重要的技术途径。因此基于太赫兹超表面传感器的氨基酸手性识别具有重要的研究价值,但是现有研究仍有以下问题亟待解决:(1)与各向同性媒质不同,氨基酸手性物质为双各向异性,其电磁本构关系存在电磁耦合效应,为进一步探索超表面结构中太赫兹波和手性生物分子的互作用机理,需要在太赫兹波段建立正确的电磁模型,进行物理表征,从而进一步将实验结果和理论模型进行融合,为手性分子的鉴别提供更加深入的理论指导。(2)以前研究的手性氨基酸往往是氨基酸单一手性分子或其对映体的混合物,如何通过超表面传感器进行混合氨基酸手性分子的分类识别及氨基酸手性分子对映体比例的鉴别具有更大的实用价值和挑战性。当然,基于混合性手性氨基酸的识别也有待在其它波段展开研究。

4.2 基于人工智能的氨基酸手性光谱识别

随着人工智能技术的快速发展,采用光谱技术与机器学习算法结合在物质分类、组成成分鉴别和疾病诊

断等方面都取得了重要成果。利用光谱技术结合机器学习算法预期将为实时、无损氨基酸的手性分子鉴别提供新思路。本课题组在太赫兹波段进行了氨基酸手性分子的智能识别研究^[44]。采用多模态的三种人工智能算法对待测氨基酸分子进行了手性鉴别。基于人工智能的氨基酸手性光谱识别在太赫兹波段已经进行了一些验证,未来将会从以下几点着手进一步探索:(1)无论是紫外-可见光谱,还是红外光谱,它们同太赫兹光谱一样都蕴含着丰富的物质信息,可以借用分析太赫兹波段的方法,融合在光波段、红外波段氨基酸手性分子的传输光谱或是吸收谱,研究这些光谱对手性氨基酸识别方法的有效性和普适性。(2)可视化智能鉴别系统的开发。人工智能算法通过程序调入数据和输出结果,其实现往往需要专业人员进行操作。因此,可以开发可视化智能鉴别系统,通过可视化界面,让用户根据需求点击按钮来选取不同算法,选择待测数据的波段及待测数据的输入参量(例如传输、吸收、相位、幅度以及任意组合的多模态参量),计算结果给出可视化界面,提供检测物质的名称、特性,以及根据需求提供对应的曲线。最后把鉴别算法完善成可以进行可视化界面调用和输出的小程序,降低操作人员的专业门槛,提高手性分子鉴别算法的实际应用。

参 考 文 献

- [1] 陈季,朱听. 镜像生物分子[J]. 空间科学学报,2021,41(1):141-144.
- [2] 章伟光,张仕林,郭栋,等. 关注手性药物:从“反应停事件”说起[J]. 大学化学,2019,34(9):12-16.
- [3] 李周敏,曾韬,姚开安,等. 手性药物的检测方法研究进展[J]. 分析仪器,2019(3):1-7.
- [4] CHEN X, ZHANG S, SHAN X, et al. Derivative chiral copper (II) complexes as template of an electrochemical molecular imprinting sol-gel sensor for enantiorecognition of aspartic acid[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1072: 54-60.
- [5] TIAN T, LIU M, CHEN L, et al. D-amino acid electrochemical biosensor based on D-amino acid oxidase: Mechanism and high performance against enantiomer interference[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 151: 111971.
- [6] CHEN Y T, LI B, CHEN J L, et al. Simultaneous discrimination and quantification of enantiomeric amino acids under physiological conditions by chiral 19F NMR tag[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(22): 7853-7860.
- [7] 于鑫垚,张慢乐,肖国强,等. 氨基酸对映体的传感识别研究[J]. 化学传感器,2021,41(3):1-12.
- [8] LIU J, ZHANG T, TAN Z, et al. Chiral enantiomer recognition of amino acids enhanced by terahertz spin beam separation based on a Pancharatnam-Berry metasurface[J]. *Optics Letters*, 2023, 48(2): 440-443.
- [9] SUN X, WANG N, HE Y, et al. Molecule-specific vibration-based chiral differentiation of Raman spectra using cysteine modified gold nanoparticles: the cases of tyrosine and phenylalanine[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021, 9(35): 7167-7171.
- [10] NIE R, BO X, WANG H, et al. Chiral electrochemical sensing for tyrosine enantiomers on glassy carbon electrode modified with cysteic acid[J]. *Electrochemistry Communications*, 2013, 27: 112-115.
- [11] XIAO X, CHEN C, ZHANG Y, et al. Chiral recognition on bare gold surfaces by quartz crystal microbalance[J]. *Angewandte Chemie*, 2021, 133(47): 25232-25237.
- [12] LEITE T R, ZSCHIEDRICH L, KIZILKAYA O, et al. Resonant Plasmonic-Biomolecular Chiral Interactions in the Far-Ultraviolet: Enantiomeric Discrimination of sub-10 nm Amino Acid Films[J]. *Nano Letters*, 2022, 22(18): 7343-7350.
- [13] LEE K T, KIM B, RAJU L, et al. Enantiomer-Selective Molecular Sensing in the Nonlinear Optical Regime via Upconverting Chiral Metamaterials[J]. *Advanced Functional Materials*, 2022, 32(43): 2208641.
- [14] XIAO X, CHEN C, ZHANG Y, et al. Chiral recognition on bare gold surfaces by quartz crystal microbalance[J]. *Angewandte Chemie*, 2021, 133(47): 25232-25237.
- [15] WEI X, CHEN Y, HE S, et al. Bovine serum albumin-coated titanium dioxide modified electrochemical interface for enantioselective discrimination of D/L-aspartic acid[J]. *Chirality*, 2021, 33(10): 731-744.
- [16] LI F, WU F, LUAN X, et al. Highly enantioselective electrochemical sensing based on helicoid Au nanoparticles with intrinsic chirality[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2022, 362: 131757.
- [17] TONG L, KUANG X, DUAN Q, et al. Nanofiber Membrane for Chiral Detection of Tyrosine Enantiomer[J]. *StarchStärke*, 2021, 73(9/10): 2100112.
- [18] LAO J, SUN P, LIU F, et al. In situ plasmonic optical fiber detection of the state of charge of supercapacitors for renewable energy storage[J]. *Light: Science & Applications*, 2018,7(1): 34.
- [19] ZHOU Z, YANG Z, XIA L, et al. Construction of an enzyme-based all-fiber SPR biosensor for detection of enantiomers[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 198: 113836.
- [20] MANIAPPAN S, DUTTA C, CHERAN A, et al. Engineering copper plasmonic chirality via ligand-induced dissolution for enantioselective

- tive recognition of amino acids[J]. *Chemical Science*, 2024.
- [21] CAI H, WU Y X, LU Z, et al. Mimicking DNA Periodic Docking Grooves for Adaptive Identification of L-/d-Tryptophan in a Biological Metal-Organic Framework[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, 144(22): 9559-9563.
- [22] ZHANG X M, BAI Y M, AI L L, et al. A Chiral Metal-Organic Framework Prepared on Large-Scale for Sensitive and Enantioselective Fluorescence Recognition[J]. *Molecules*, 2023, 28(12): 4593.
- [23] 韩苗, 曹明磊, 段文增, 等. 一石二鸟: 单分子双波长荧光定量和手性识别氨基酸[J]. *聊城大学学报(自然科学版)*, 2023, 36(3): 96-110.
- [24] HOU X, SONG J, WU Q, et al. Chiral carbon quantum dots as fluorescent probe for rapid chiral recognition of isoleucine enantiomers[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1184: 339012.
- [25] XU C, REN Z, ZHOU H, et al. Expanding chiral metamaterials for retrieving fingerprints via vibrational circular dichroism[J]. *Light: Science & Applications*, 2023, 12(1): 154.
- [26] WU X, XU L, MA W, et al. Propeller-like nanorod-upconversion nanoparticle assemblies with intense chiroptical activity and luminescence enhancement in aqueous phase[J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(28): 5907-5915.
- [27] FISCHER B M, WALTHER M, JEPSEN P U. Far-infrared vibrational modes of DNA components studied by terahertz time-domain spectroscopy[J]. *Physics in Medicine & Biology*, 2002, 47(21): 3807.
- [28] ZHOU T, WU Y, CAO J, et al. Research on the terahertz absorption spectra of histidine enantiomer (L) and its racemic compound (DL)[J]. *Applied Spectroscopy*, 2017, 71(2): 194-202.
- [29] SHI W N, FAN F, ZHANG T R, et al. Terahertz phase shift sensing and identification of a chiral amino acid based on a protein-modified metasurface through the isoelectric point and peptide bonding[J]. *Biomedical Optics Express*, 2023, 14(3): 1096-1106.
- [30] ZHANG Z, ZHONG C, FAN F, et al. Terahertz polarization and chirality sensing for amino acid solution based on chiral metasurface sensor[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 330: 129315.
- [31] SHI W, FAN F, MA L, et al. Terahertz chiral enantiomers recognition via chiral selective bio-molecular film on anapole metasurface sensor in water environment[J]. *Optics & Laser Technology*, 2023, 162: 109274.
- [32] LANGER J, JIMENEZ DE ABERASTURI D, AIZPURUA J, et al. Present and future of surface-enhanced Raman scattering[J]. *ACS Nano*, 2019, 14(1): 28-117.
- [33] SUN X, WANG N, HE Y, et al. Molecule-specific vibration-based chiral differentiation of Raman spectra using cysteine modified gold nanoparticles: the cases of tyrosine and phenylalanine[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021, 9(35): 7167-7171.
- [34] LEONG S X, KOH C S L, SIM H Y F, et al. Enantiospecific molecular fingerprinting using potential-modulated surface-enhanced Raman scattering to achieve label-free chiral differentiation[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(1): 1817-1825.
- [35] ALEXANDER C, ANDERSSON H S, ANDERSSON L I, et al. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003[J]. *Journal of Molecular Recognition: an Interdisciplinary Journal*, 2006, 19(2): 106-180.
- [36] ARABI M, OSTOVAN A, WANG Y, et al. Chiral molecular imprinting-based SERS detection strategy for absolute enantiomeric discrimination[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 5757.
- [37] SAUERBREY G. Verwendung von schwingquarzen zur wägung dünner schichten und zur mikrowägung[J]. *Zeitschrift Für Physik*, 1959, 155: 206-222.
- [38] GUTSCHE C D, DHAWAN B, NO K H, et al. Calixarenes. 4. The synthesis, characterization, and properties of the calixarenes from p-tert-butylphenol[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1981, 103(13): 3782-3792.
- [39] YUN Y, GELLMAN A J. Enantioselective separation on naturally chiral metal surfaces: D/L-aspartic acid on Cu (3, 1, 17) R&S surfaces[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2013, 52(12): 3394-3397.
- [40] DU J, XIE F, LIU C, et al. Chiral zinc oxide functionalized quartz crystal microbalance sensor for enantioselective recognition of amino acids[J]. *Talanta*, 2023, 259: 124496.
- [41] YAO W, LI S, XIE L, et al. Chiral recognition of tryptophan enantiomer based on the electrode modified by polyaniline adsorption bovine serum albumin complex[J]. *Chirality*, 2023, 35(2): 129-144.
- [42] PEI H, WANG J, JIN X, et al. An electrochemical chiral sensor based on glutamic acid functionalized graphene-gold nanocomposites for chiral recognition of tryptophan enantiomers[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2022, 913: 116283.
- [43] YUAN S, TAN L, ZHAO L, et al. Chiral ru-based covalent organic frameworks as an electrochemiluminescence -active platform for the enantioselective sensing of amino acids[J/OL]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2024.
- [44] 杨君. 太赫兹手性生物分子识别研究[D]. 北京: 北京邮电大学, 2023.

(责任编辑: 刘庆松)