

# DWUWYMIAROWA ANALIZA KORELACYJNA

## TWO-DIMENSIONAL CORRELATION ANALYSIS

**Mirosław Antoni Czarnecki**

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,  
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław, Polska  
e-mail: miroslaw.czarnecki@uwr.edu.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Otrzymywanie dwuwymiarowych widm korelacyjnych
2. Właściwości dwuwymiarowych widm korelacyjnych
3. Problemy z interpretacją dwuwymiarowych widm korelacyjnych
4. Przygotowanie danych do analizy
5. Otrzymywanie informacji o dynamice zmian spektralnych z dwuwymiarowych widm korelacyjnych
6. Metoda ruchomego okna
7. Widma mocy

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Prof. dr hab. Mirosław Czarnecki** całą swoją karierę naukową związał z Wydziałem Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Obecnie jest zatrudniony na stanowisku profesora i kieruje "Zespołem chemometrii i spektroskopii stosowanej". Promotorem pracy magisterskiej (1981) pt. „*Kształt pasm w podczerwieni układów ze słabymi oddziaływaniami*”, oraz pracy doktorskiej (1989) pt. „*Dyspersja w podczerwieni cząsteczek o symetrii  $C_{3v}$  w fazie ciekłej*” był prof. dr hab. J. P. Hawranek. W latach 1992-1993 przebywał na stażu podoktorskim w Kwansai Gakuin University (Japonia) w zespole prof. Yukihiro Ozaki a w 1995 odbył staż na University of Essen (Niemcy) w zespole prof. Heinza Sieslera. Staże te zaowocowały całkowitą zmianą tematyki badawczej. Zainteresowania naukowe prof. Czarneckiego skupiły się na teoretycznych i praktycznych aspektach zastosowania dwuwymiarowej analizy korelacyjnej do badania różnorodnych układów chemicznych. W tym czasie opublikował szereg fundamentalnych prac dotyczących tej metody. Prace te do dziś są wielokrotnie cytowane i stanowiły zasadniczą część rozprawy habilitacyjnej (2001) zatytułowanej „*Dwuwymiarowa analiza korelacyjna dynamicznych widm oscylacyjnych*”. W 2010 roku otrzymał tytuł profesora nauk chemicznych. Oprócz dwuwymiarowej analizy korelacyjnej, tematyka badawcza prof. Czarneckiego obejmuje również układy z wiązaniem wodorowym a w szczególności stan i oddziaływanie wody w różnych środowiskach, mikroheterogeniczność mieszanin binarnych, układy ciekłokrystaliczne, układy o znaczeniu biologicznym, komputerowo-wspomagana spektroskopia, chemometria oraz spektroskopia w bliskiej podczerwieni. Od 1997 roku jest członkiem Society for Applied Spectroscopy (USA).



<https://orcid.org/0000-0003-4166-1334>

---

## ABSTRACT

This review provides fundamental information on theoretical and practical aspects of two-dimensional correlation spectroscopy (2DCOS). At first, is shown a brief development of this method since its introduction by Isao Noda in 1986. In the next part is explained the general idea of 2DCOS, and details of determination of the synchronous and asynchronous spectra from the experimental data. Next section includes comprehensive description of the properties and the rules for interpretation of the 2D correlation spectra. The most common problems with interpretation of 2DCOS spectra, and the ways of improving results of correlation analysis by a proper data pre-treatment are widely discussed. In addition, some of the most important modifications of this method like moving-window analysis and PCMW2D are described. Finally, the usefulness of the power spectra is presented. It has been shown that 2D correlation analysis is a versatile and powerful tool for data analysis and provides information not readily accessible from the original data set.

Keywords: two-dimensional correlation analysis, interpretation of 2DCOS spectra, data pretreatment, moving-window analysis, power spectra, spectral analysis, vibrational spectroscopy.

Słowa kluczowe: dwuwymiarowa analiza korelacyjna, interpretacja widm 2DCOS, przygotowanie danych do analizy, metoda ruchomego okna, widma mocy, analiza danych spektralnych, spektroskopia oscylacyjna.

---

**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

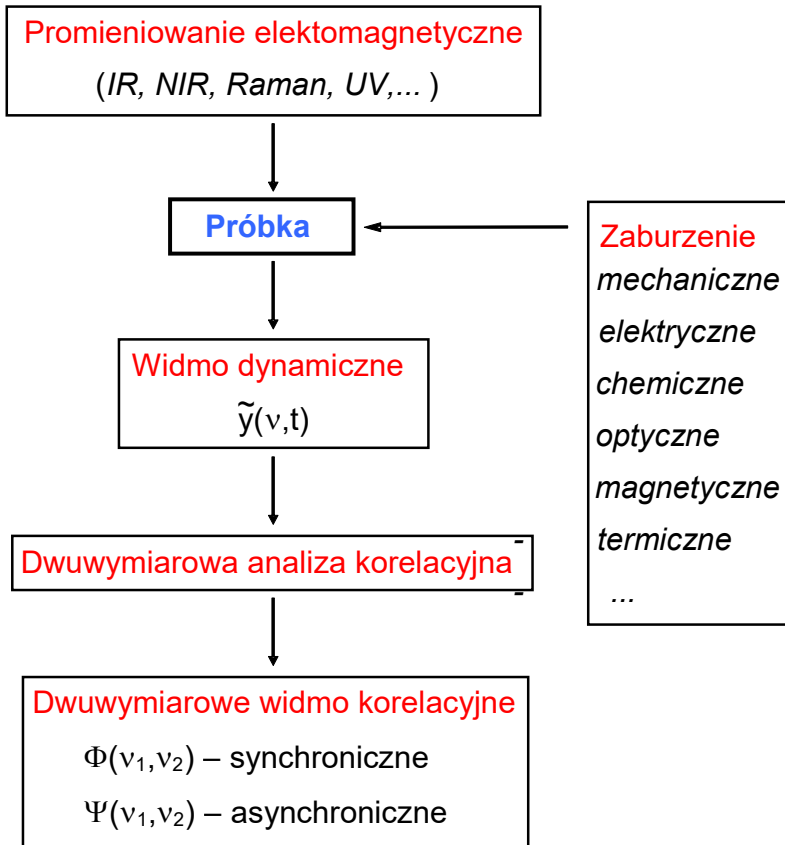
|        |   |
|--------|---|
| 2D     | dwuwymiarowa (two-dimensional)  |
| 2DCOS  | dwuwymiarowa spektroskopia korelacyjna (two-dimensional correlation spectroscopy)                                 |
| IR     | podczerwień (infrared)  |
| MIR    | średnia podczerwień (mid-infrared)  |
| NIR    | bliska podczerwień (near-infrared)  |
| UV     | promieniowanie ultrafioletowe (ultraviolet radiation)   |
| ATR    | całkowite osłabione odbicie (attenuated total reflection)   |
| FT     | transformata Fouriera (Fourier transform)   |
| PCA    | analiza głównych składowych (principal component analysis)  |
| PCMW2D | dwuwymiarowa metoda ruchomego okna zależna od zaburzenia (perturbation-correlation moving-window two-dimensional) |

## WPROWADZENIE

W 1986 roku Isao Noda zaprezentował po raz pierwszy ideę dwuwymiarowej analizy korelacyjnej [1]. Początkowo metoda ta mogła być używana jedynie do pomiarów, w których stosowano periodyczne zaburzenia o niewielkiej amplitudzie. W związku z czym obszar jej zastosowań był mocno ograniczony - głównie do reologicznych badań polimerów oraz do badania molekularnego mechanizmu reorientacji ciekłych kryształów w polu elektrycznym [2-4]. W 1993 roku Noda opublikował uogólniony algorytm, który umożliwił stosowanie dwuwymiarowej analizy korelacyjnej do dowolnego typu zaburzeń [5]. Co więcej, nowy algorytm pozwalał również na korelacje danych pochodzących z różnego rodzaju eksperymentów (hetero-korelacje). Tym sposobem, dwuwymiarowa analiza korelacyjna stała się uniwersalnym narzędziem do analizy danych, nie tylko spektralnych. Od tego czasu obserwuje się szybki rozwój tej metody oraz lawinowy wzrost liczby prac, w których autorzy prezentują potencjał tej metody oraz jej zastosowania do nowych obszarów badawczych. Pojawiły się również modyfikacje oryginalnego algorytmu zaproponowanego przez Nodę w 1993 roku. Jedną z pierwszych modyfikacji była ilościowa dwuwymiarowa analiza korelacyjna opracowana przez Egkasisa i Ishidę [6]. Oryginalne widma zostały znormalizowane względem amplitudy zmian intensywności przy poszczególnych liczbach falowych. Jednak taki sposób normalizacji powoduje znaczną redukcję stosunku sygnału do szumu, wskutek czego użyteczność zaproponowanej metody jest mocno ograniczona. Inne modyfikacje dwuwymiarowej analizy korelacyjnej również wykazywały szereg ograniczeń i nie zyskały szerszej popularności. Wyjątkiem była metoda ruchomego okna (moving window) zaproponowana przez Thomasa and Richardsona w 2000 roku [7], a następnie rozwinięta przez Moritę i współpracowników [8]. Metoda ta została dokładniej omówiona w dalszej części pracy.

Do popularyzacji dwuwymiarowej analizy korelacyjnej przyczyniły się organizowane cyklicznie (zazwyczaj co 2 lata) sympozja poświęcone teoretycznym i praktycznym aspektom tej metody. Pierwsze sympozjum zorganizował prof. Ozaki w 1999 roku w miejscowości Sanda (Japonia). Natomiast piąte sympozjum (2009 rok) zostało zorganizowane przez prof. Czarnik-Matuszewicz (†) i prof. Czarneckiego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Jak do tej pory, najważniejszym i najbardziej kompletnym kompendium wiedzy o dwuwymiarowej analizie korelacyjnej jest monografia Nody i Ozakiego pt. "Two Dimensional Correlation Spectroscopy Applications in Vibrational and Optical Spectroscopy", która ukazała się w 2004 roku nakładem wydawnictwa John Wiley & Sons [9]. Co dwa lata ukazuje się przeglądowa praca Nody (ostatnio w *J. Mol. Struct.* 1217 (2020) 128405), w której opisuje on najważniejsze dokonania w tej dziedzinie w minionym okresie czasu. Oprogramowanie do dwuwymiarowej analizy korelacyjnej jest powszechnie dostępne, gdyż zostało zaimplementowane w większości programów służących do analizy danych spektralnych oraz obliczeń chemometrycznych. Poza tym, dostępne są darmowe wersje oprogramowania na stronach internetowych wielu zespołów badawczych (np. <https://www.dropbox.com/s/5fgvt5k4e7u7wiw/shige.zip>). Dwuwymiarowe widma korelacyjne można również obliczyć samodzielnie. Najlepszym i najczęściej używanym środowiskiem do tych obliczeń jest Matlab. Odpowiednie informacje i instrukcje można znaleźć w pracy przeglądowej [10].

## 1. OTRZYMYWANIE DWUWYMIAROWYCH WIDM KORELACYJNYCH



Rysunek 1. Idea dwuwymiarowej analizy korelacyjnej  
Figure 1. Idea of two-dimensional correlation analysis

Idea dwuwymiarowej analizy korelacyjnej, którą zilustrowano na Rysunku 1, jest stosunkowo prosta. Badaną próbkę poddajemy zaburzeniu a następnie zmiany wywołane danym zaburzeniem rejestrujemy za pomocą odpowiedniej metody, najczęściej spektroskopii oscylacyjnej (MIR, NIR, Raman). Informacja jaką otrzymujemy w wyniku analizy korelacyjnej zależy zarówno od rodzaju użytego zaburzenia (reprezentowanego przez zmienną  $t$ ) jak i od rodzaju sondy (reprezentowanej przez zmienną  $\nu$ ), która rejestruje zmiany spektralne wywołane działaniem tego zaburzenia. Wynikiem pomiarów eksperymentalnych jest seria widm, z której tworzymy macierz  $A(\nu, t)$  uporządkowaną względem zaburzenia. Po odjęciu widma odniesienia  $A^{\text{ref}}(\nu)$  (reference spectrum) od każdego z widm otrzymujemy tzw. widmo dynamiczne  $A^{\text{d}}(\nu, t)$  (dynamic spectrum), które zawiera informację o zmianach spektralnych przy poszczególnych wartościach  $\nu$  względem widma odniesienia:

$$A^d(v, t) = \begin{cases} A(v, t) - A^{ref.}(v) & \text{dla } t_{\min} \leq t \leq t_{\max} \\ 0 & \text{w przeciwnym przypadku} \end{cases} \quad (1)$$

gdzie  $t_{\min}$  i  $t_{\max}$  są minimalnymi i maksymalnymi wartościami zaburzenia ( $t$ ). Wybór widma odniesienia ma duży wpływ na wygląd widm korelacyjnych i został przedyskutowany w kilku wcześniejszych pracach [11-13]. Jako widmo odniesienia najczęściej stosuje się widmo uśrednione względem zaburzenia. Można również zastosować pierwsze lub ostatnie widmo w serii a nawet całkowicie arbitralne widmo odniesienia. Jednak użycie odpowiedniego widma odniesienia pozwala wyeliminować pasma, które nie zmieniają swojej intensywności na wskutek działania zaburzenia. Tym sposobem widma korelacyjne stają się znacznie prostsze niż widma oryginalne, gdyż zawierają jedynie te pasma, które zmieniają swoją intensywność.

Oryginalny algorytm, opublikowany przez Nodę w 1993 roku, wymagał zastosowania transformaty Fouriera (FT) do obliczenia dwuwymiarowych widm korelacyjnych [5]. W 2000 roku Noda opublikował modyfikację tego algorytmu, która umożliwiła obliczenie widm korelacyjnych bez konieczności użycia transformaty Fouriera. Została ona zastąpiona transformacją z wykorzystaniem macierzy Hilberta-Nody [14]. Obecnie ten sposób obliczania dwuwymiarowych widm korelacyjnych dominuje ze względu na swoją prostotę i łatwość implementacji [10]. Stosując zmodyfikowany algorytm, przekształcamy widmo dynamiczne na parę dwuwymiarowych widm korelacyjnych: widmo synchroniczne  $\Phi(v_i, v_j)$  (synchronous spectrum) i widmo asynchroniczne  $\Psi(v_i, v_j)$  (asynchronous spectrum):

$$\Phi(v_i, v_j) = \frac{1}{N-1} A_d(v_i, t) \cdot A_d(v_j, t)^T \quad (2)$$

$$\Psi(v_i, v_j) = \frac{1}{N-1} A_d(v_i, t) \cdot M \cdot A_d(v_j, t)^T \quad (3)$$

gdzie  $N$  jest liczbą widm w macierzy danych, górny indeks  $T$  oznacza operację transponowania a  $M$  jest macierzą Hilberta-Nody następującej postaci:

$$M_{k,l} = \begin{cases} 0 & \text{dla } k=l \\ 1/(\pi \cdot (k-l)) & \text{w przeciwnym przypadku} \end{cases} \quad (4)$$

gdzie  $k, l=1, 2, \dots, N$ . W postaci rozwiniętej macierz ta wygląda następująco:

$$M = \frac{1}{\pi} \begin{bmatrix} 0 & 1 & \frac{1}{2} & \frac{1}{3} & \dots \\ -1 & 0 & 1 & \frac{1}{2} & \dots \\ -\frac{1}{2} & -1 & 0 & 1 & \dots \\ -\frac{1}{3} & -\frac{1}{2} & -1 & 0 & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \end{bmatrix} \quad (5)$$

Jak łatwo zauważyć, macierz Hilberta-Nody jest antysymetryczna względem głównej przekątnej, na której wszystkie wartości są równe zero. Taką samą symetrię będą również posiadały widma asynchroniczne. Jeżeli korelujemy dwie identyczne serie danych ze sobą ( $A_d$  z  $A_d$ ), wówczas mówimy o homo-korelacji lub w skrócie o korelacji. Jeżeli natomiast wykonujemy korelację dwóch macierzy  $A_d$  i  $B_d$ , które zawierają wyniki pochodzące z różnych eksperymentów, wówczas mamy do czynienia z hetero-korelacją. Odpowiednie wzory na hetero-korelacyjne widma synchroniczne i asynchroniczne mają następującą postać:

$$\Phi(v_i, \mu_j) = \frac{1}{N-1} A_d(v_i, t) \cdot B_d(\mu_j, t)^T \quad (6)$$

$$\Psi(v_i, \mu_j) = \frac{1}{N-1} A_d(v_i, t) \cdot M \cdot B_d(\mu_j, t)^T \quad (7)$$

gdzie  $\mu$  jest zmienną związaną z macierzą  $B$ . Oczywiście, widma hetero-korelacyjne nie wykazują symetrii względem głównej przekątnej. Aby można było wykonać analizę hetero-korelacyjną, obie serie pomiarowe ( $A_d$  i  $B_d$ ) muszą być zmierzone dla tych samych wartości zaburzenia ( $t$ ), gdyż w przeciwnym wypadku otrzymane wyniki nie mają sensu fizycznego. Hetero-korelacja jest bardzo przydatnym narzędziem do określania pochodzenia nieznanymi pasm. Wykorzystując selektywne korelacje pomiędzy widmami, gdzie dokładnie znane są przypisania pasm a widmami zawierającymi pasma nieznanego pochodzenia, można dokonać wiarygodnego przypisania pasm o nieznanym pochodzeniu. Znakomitą ilustracją tego faktu jest hetero-korelacja pomiędzy widmami MIR i NIR, NIR i Ramana lub MIR i Ramana [15, 16]. Jednak na tym nie kończą się możliwości analizy hetero-korelacyjnej, umożliwia ona również korelację danych otrzymanych za pomocą całkowicie odmiennych technik eksperymentalnych jak np. pomiędzy SAXS (small angle X-ray scattering) i IR [17]. Taka korelacja pozwala uzyskać jakościowo nowe wyniki, których otrzymanie nie jest możliwe w inny sposób.

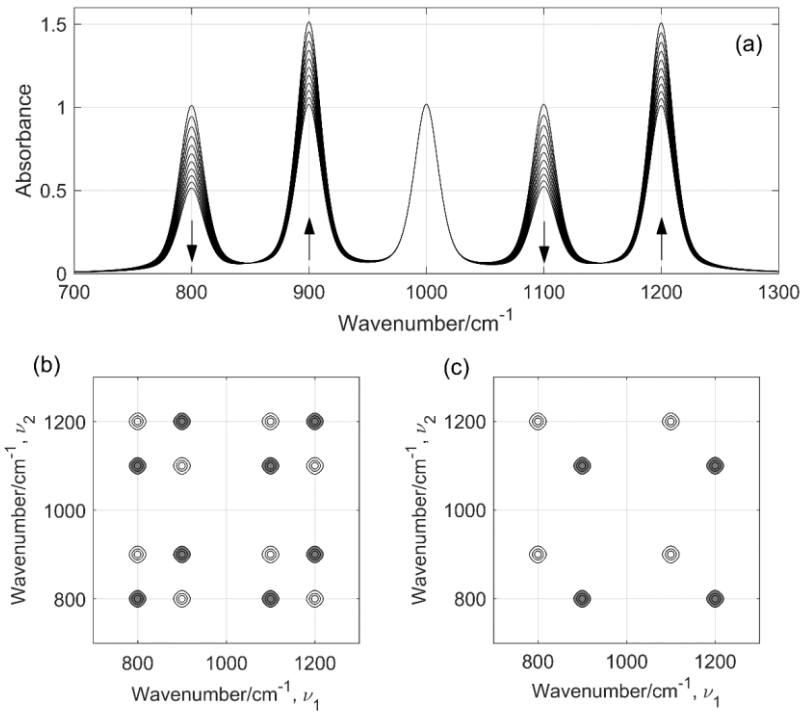
Zazwyczaj pomiary widm eksperymentalnych wykonywane są dla równoodległych wartości zaburzenia (ze stałym krokiem). Jeżeli nie jest spełniony ten warunek, wówczas do obliczenia dwuwymiarowych widm korelacyjnych stosujemy zmodyfikowany algorytm [18].



## 2. WŁAŚCIWOŚCI DWUWYMIAROWYCH WIDM KORELACYJNYCH

Na Rysunku 2a pokazano serię symulowanych (syntetycznych) widm, z których każde zawiera 5 pasm. Kształty wszystkich pasm były przybliżone za pomocą sumy funkcji Gaussa i Lorentza o takim samym udziale (0.5), natomiast zmiany intensywności opisywała funkcja eksponencjalna. Pasma przy 850 i 1050  $\text{cm}^{-1}$  zmniejszają swoją intensywność z tą samą szybkością, natomiast pasma przy 950, 1150  $\text{cm}^{-1}$  zwiększają swoją intensywność w tym samym tempie. Pasma przy 1000  $\text{cm}^{-1}$  posiada stałą intensywność w całym zakresie zaburzeń. Rysunki 2b i 2c zawierają widma synchroniczne i asynchroniczne obliczone z widm pokazanych na Rysunku 2a. W pracy przyjęto następującą konwencję: dodatnie piki synchroniczne i asynchroniczne mają kontury cieniowane, natomiast kontury pików ujemnych nie są cieniowane. Widmem odniesienia było widmo średnie, o ile nie stwierdzono inaczej.

Dwuwymiarowe widma synchroniczne zawierają informacje o podobieństwie zmian spektralnych przy różnych liczbach falowych. Są one symetryczne względem głównej przekątnej i zawierają piki zarówno na przekątnej (auto-peaks) jak i poza przekątną (cross-peaks). Piki na przekątnej są zawsze dodatnie, podczas gdy piki poza przekątną mogą być dodatnie lub ujemne (Rysunek 2b). Pojawienie się pików poza przekątną oznacza, że zmiany spektralne dla danej pary liczb falowych ( $\nu_1, \nu_2$ ) w pewnym (lub całym) zakresie zaburzeń zachodzą jednocześnie. A zatem, można wnioskować, że zmiany przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  pochodzą od tego samego fragmentu cząsteczki lub też od różnych fragmentów, które ze sobą oddziałują. Należy jednak nadmienić, że takie jednoczesne zmiany spektralne mogą mieć charakter przypadkowy, co można zweryfikować dopiero na widmie asynchronicznym. Jeżeli pik synchroniczny przy ( $\nu_1, \nu_2$ ) ma znak dodatni to zmiany spektralne przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  zachodzą w tym samym kierunku (jednocześnie rosną lub jednocześnie maleją). Ujemny pik synchroniczny przy ( $\nu_1, \nu_2$ ) oznacza, że zmiany spektralne przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  zachodzą w przeciwnych kierunkach. Na widmie synchronicznym, przedstawionym na Rysunku 2b, piki przy współrzędnych (800, 1100) i (900, 1200)  $\text{cm}^{-1}$  są dodatnie. Natomiast wszystkie pozostałe piki poza przekątną są ujemne, co zgadza się z kierunkami zmian przedstawionymi na Rysunku 2a. Co ciekawe, przy liczbie falowej 1000  $\text{cm}^{-1}$  nie występują żadne piki korelacyjne gdyż pasmo to ma stałą intensywność w całym zakresie zaburzeń. Intensywność pozadiagonalnych pików synchronicznych zależy od dwóch czynników: (a) amplitudy zmian spektralnych przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  oraz (b) stopnia korelacji tych zmian. Stwarza to możliwość obserwacji niewielkich zmian spektralnych, które widoczne są na widmie synchronicznym dzięki korelacji z pikiem o dużej amplitudzie zmian. Przekątna widma synchronicznego nazywana jest widmem mocy (power spectrum) i zawiera piki autokorelacyjne. Intensywność tych pików zależy wyłącznie od amplitudy zmian spektralnych przy danej liczbie falowej. Widmo mocy może być cennym źródłem informacji o mechanizmach zmian indukowanych przez dane zaburzenie [19], co przedyskutowano w dalszej części pracy.



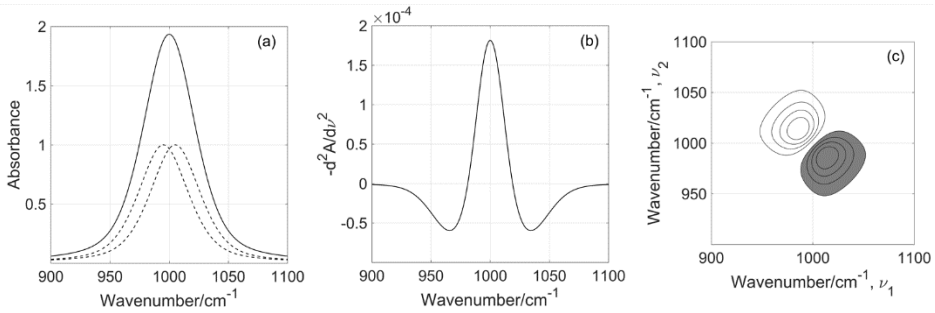
Rysunek 2. Seria symulowanych widm (a) oraz odpowiadające im dwuwymiarowe widmo synchroniczne (b) i asynchroniczne (c)  
 Figure 2. Series of simulated spectra (a) and corresponding synchronous (b) and asynchronous (c) spectra

Dwuwymiarowe widma asynchroniczne ujawniają różnice w charakterze zmian spektralnych przy różnych liczbach falowych. Piki asynchroniczne są generowane wówczas, jeżeli zmiany przy  $(\nu_1, \nu_2)$  zachodzą z różnymi prędkościami, są przesunięte w fazie lub opisują je inne funkcje. Widma te są antysymetryczne względem głównej przekątnej i zawierają jedynie piki pozadiagonalne, które mogą być dodatnie lub ujemne. Główna przekątna widma asynchronicznego nie zawiera żadnych pików. Dodatni pik asynchroniczny przy  $(\nu_1, \nu_2)$  wskazuje, że zmiany spektralne przy  $\nu_1$  zachodzą szybciej lub wcześniej niż zmiany przy  $\nu_2$ . Pik ujemny oznacza sytuację odwrotną. Powyższe reguły obowiązują jeżeli na widmie synchronicznym pik przy  $(\nu_1, \nu_2)$  ma znak dodatni. Jeżeli natomiast na widmie synchronicznym przy  $(\nu_1, \nu_2)$  jest pik ujemny, wówczas reguły dotyczące interpretacji widma asynchronicznego zostają odwrócone. Aby ułatwić interpretację widm asynchronicznych, intensywności na widmach asynchronicznych można pomnożyć (tablicowo) przez znak odpowiadających im intensywności na widmach synchronicznych [20].

$$\Psi'(\nu_i, \nu_j) = \text{sign}(\Phi(\nu_i, \nu_j)) \cdot \Psi(\nu_i, \nu_j) \quad (8)$$

Tym sposobem, interpretując znak pików na zmodyfikowanych widmach asynchronicznych nie musimy uwzględniać znaku odpowiednich pików synchronicznych. Zatem, dodatni pik asynchroniczny przy ( $\nu_1$ ,  $\nu_2$ ) oznacza, że zmiany spektralne przy  $\nu_1$  są szybsze lub wcześniejsze niż zmiany przy  $\nu_2$  a pik ujemny oznacza sytuację odwrotną. Piki asynchroniczne są generowane jeżeli dla pewnego zakresu zaburzeń, zmiany przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  zachodzą w sposób niezależny, czyli z różnymi prędkościami, są przesunięte w fazie lub opisują je różne funkcje. Pojawienie się pików na widmie asynchronicznym sugeruje, że zmiany spektralne przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  pochodzą od różnych składników badanego układu lub od różnych fragmentów tego samego składnika, które w odmienny sposób reagują na dane zaburzenie. Piki asynchroniczne pojawiają się tylko wówczas, jeżeli zastosowane zaburzenie wywołuje selektywne zmiany spektralne przy różnych liczbach falowych. Jeżeli natomiast zmiany spektralne są nieselektywne, czyli przy wszystkich liczbach falowych mają identyczny charakter i zakres, wówczas na widmach asynchronicznych nie pojawiają się żadne piki. Należy dodać, że zmiany liniowe również nie generują pików asynchronicznych, nawet jeżeli zachodzą z różnymi prędkościami. Zatem dwuwymiarowa analiza korelacyjna jest doskonałym narzędziem do badania nawet niewielkich odchyień zmian spektralnych od liniowości. Z drugiej strony, korelacja zmian liniowych i nieliniowych prowadzi do powstania pików asynchronicznych [21]. Na Rysunku 2c piki asynchroniczne pojawiają się jedynie pomiędzy pasmami przy współrzędnych 800 i 1100  $\text{cm}^{-1}$  a pasmami przy 900 i 1200  $\text{cm}^{-1}$ . Zatem można wnioskować, że zmiany przy tych współrzędnych mają inny charakter i/lub zachodzą z różnymi prędkościami. Podobnie jak na widmie synchronicznym, również na widmie asynchronicznym nie występują żadne piki przy liczbie falowej 1000  $\text{cm}^{-1}$ .

Istnieje szereg doniesień literaturowych, że nawet niewielkie różnice w charakterze zmian spektralnych przy  $\nu_1$  i  $\nu_2$  mogą generować niezależne piki na widmie asynchronicznym [5, 9-11, 22, 23]. Jest to najważniejsza cecha widm korelacyjnych i prowadzi ona do podwyższenia spektralnej rozdzielczości (resolution enhancement). Bez względu na to jak bardzo nakładają się pasma pochodzące od różnych oscylatorów molekularnych, jeżeli tylko odpowiednie zmiany spektralne posiadają odmienny charakter, wówczas zostaną one rozdzielone na widmie asynchronicznym jako osobne indywiduala. Zatem efekt podwyższenia rozdzielczości spektralnej na widmach asynchronicznych ma przyczynę fizyczną a nie stanowi jedynie numerycznej manipulacji na danych, jak ma to miejsce np. w widmach drugiej pochodnej. Efekt podwyższenia spektralnej rozdzielczości zilustrowano na Rysunku 3. Pasma przy 995 i 1005  $\text{cm}^{-1}$  tak bardzo nakładają się na siebie, że tworzą jedną obwiednię spektralną (Rysunek 3a), której nie udało się rozdzielić na widmie drugiej pochodnej (Rysunek 3b). Ponieważ tempo zmian spektralnych dla obu tych pasm było nieco różne, zostały one rozdzielone na widmie asynchronicznym (Rysunek 3c).



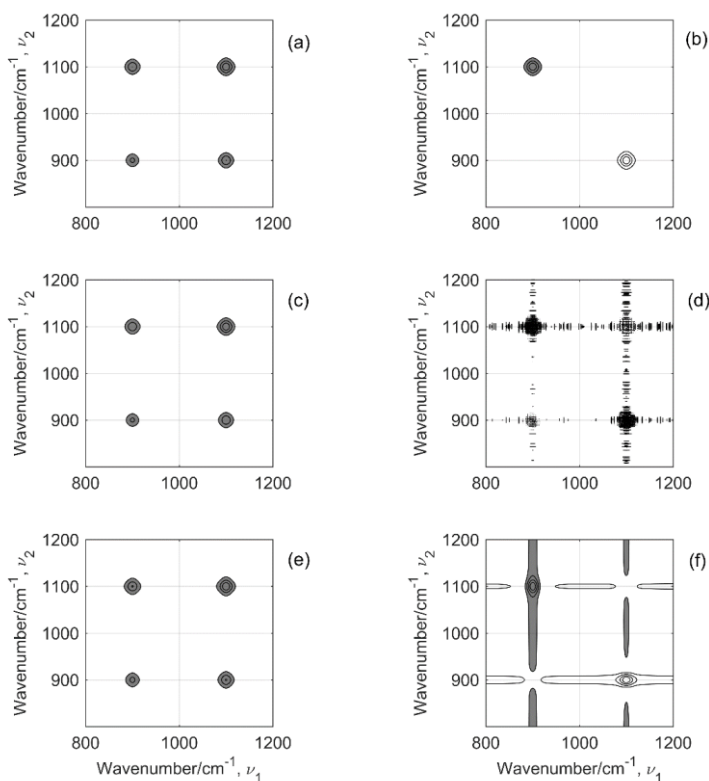
Rysunek 3. Obwiednia spektralna (linia ciągła) składająca się z dwóch pasm przy 995 i 1005  $\text{cm}^{-1}$  (linia przerywana) (a), druga pochodna (pomnożona przez -1) widma z Rysunku 3a (b) oraz odpowiednie widmo asynchroniczne (c)

Figure 3. Spectral envelope (solid line) with two component bands at 995 and 1005  $\text{cm}^{-1}$  (dashed line) (a), second derivative (multiplied by -1) of the spectrum shown in Figure 3a (b) and the corresponding asynchronous spectrum (c)

### 3. PROBLEMY Z INTERPRETACJĄ DWUWYMIAROWYCH WIDM KORELACYJNYCH

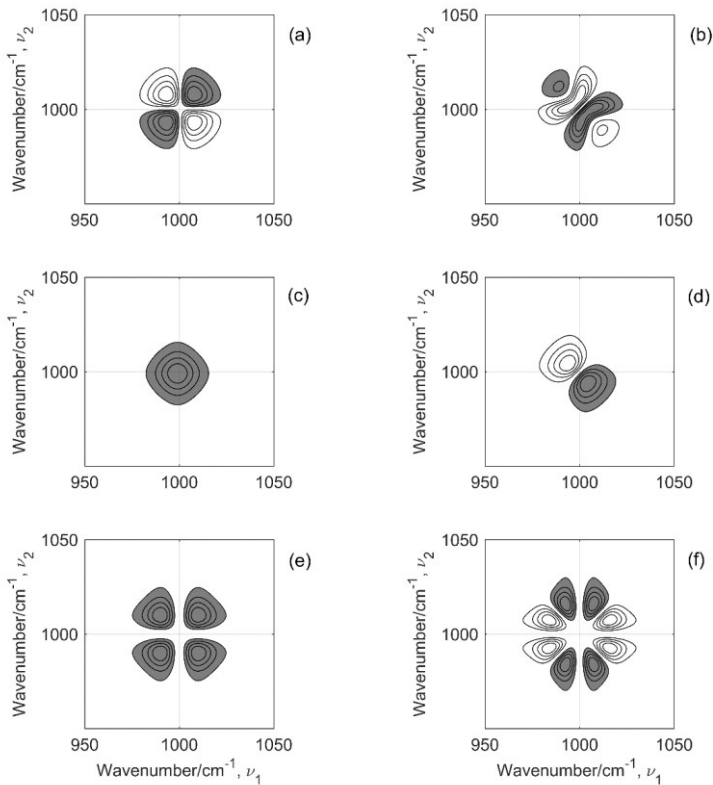
Pomimo, że dwuwymiarowe widma korelacyjne można stosunkowo łatwo obliczyć, jednak ich interpretacja może stanowić spore wyzwanie. Jak pokazały komputerowe symulacje, czasami różne przyczyny fizyczne mogą generować podobne (lub identyczne) wzory pików na widmach korelacyjnych [10, 11, 22-24]. Ponadto, interpretację widm korelacyjnych znacznie utrudniają takie zaburzenia i niepożądane efekty jak szum, fluktuacje linii podstawowej, zmiana położenia czy szerokości połówkowej pasma. Na Rysunku 4 zilustrowano wpływ szumu i fluktuacji linii podstawowej na widma synchroniczne i asynchroniczne. Jak łatwo zauważyć, wpływ szumu przejawia się bardzo nieregularnymi kształtami konturów (Rysunek 4d), natomiast fluktuacje linii podstawowej powodują powstawanie wydłużonych obwiedni wokół pików (Rysunek 4f). Szczególnie wrażliwe na wszelkiego rodzaju zaburzenia są widma asynchroniczne. Z jednej strony tak duża zależność wyglądu widma od niewielkich nawet fluktuacji w danych wejściowych może stanowić spore utrudnienie. Jednak z drugiej strony ta cecha widm asynchronicznych umożliwia obserwację nawet niewielkich różnic w charakterze zmian spektralnych przy różnych liczbach faliowych, co pozwala zaobserwować znacznie nakładające się pasma jako osobne indywidua. Z kolei zmiana położenia (Rysunki 5a-5d) lub szerokości pasma (Rysunki 5e, 5f) prowadzi do powstania szeregu pików, zwłaszcza na widmach asynchronicznych. Rysunki 5a i 5b przedstawiają widma synchroniczne i asynchroniczne otrzymane z widm, które zawierają pojedyncze pasmo zmieniające swoje położenie od 1000  $\text{cm}^{-1}$  do 1001  $\text{cm}^{-1}$  bez zmiany intensywności. Na widmie synchronicznym i asynchronicznym obserwujemy charakterystyczne wzory zwane koniczyną (clover-leaf pattern) i motylem (butterfly pattern) [10, 11, 22-24]. Jeżeli zmianie położenia towarzyszy zmiana intensywności, wówczas widma synchroniczne i asynchroniczne mogą ulec uproszczeniu. Końcowy efekt zależy od wielkości zmian wszystkich parametrów pasma. Jak pokazuje Rysunek 5c, na widmie synchronicznym efekt zmiany położenia został całkowicie wyeliminowany wskutek znacznej zmiany intensywności, natomiast widmo asynchroniczne (Rysunek 5d)

wciąż zawiera dwa piki, podczas gdy widmo oryginalne zawierało tylko jedno pasmo. Co więcej, wzór pików na tym widmie jest bardzo podobny do tego jaki generują dwa pasma zmieniające swoją intensywność z różnymi prędkościami (Rysunek 3c). Zatem jak już wcześniej wspomniano, dwie różne przyczyny fizyczne mogą generować podobny układ pików na widmie korelacyjnym [10, 11, 22-24].



Rysunek 4. Widmo synchroniczne (a) i asynchroniczne (b) otrzymane z serii niezaburzonych widm zawierających pasma przy 900 i 1100  $\text{cm}^{-1}$ , które zmieniają intensywność z różnymi prędkościami. Widmo synchroniczne (c) i asynchroniczne (d) otrzymane z danych z dodanym przypadkowym szumem. Widmo synchroniczne (e) i asynchroniczne (f) otrzymane z danymi z dodanymi fluktuacjami linii podstawowej

Figure 4. Synchronous (a) and asynchronous (b) spectra constructed from unperturbed spectra with peaks at 900 and 1100  $\text{cm}^{-1}$  changing intensity at different rate. Synchronous (c) and asynchronous (d) spectrum obtained from noisy data. Synchronous (e) and asynchronous (f) spectrum obtained from data with baseline fluctuations



Rysunek 5. Widma synchroniczne (a) i asynchroniczne (b) otrzymane z widm zawierających pasmo zmieniające swoje położenie od  $1000\text{ cm}^{-1}$  do  $1001\text{ cm}^{-1}$  bez zmiany intensywności. Widma synchroniczne (c) i asynchroniczne (d) otrzymane z widm zawierających pasmo zmieniające swoje położenie od  $1000\text{ cm}^{-1}$  do  $1001\text{ cm}^{-1}$  oraz intensywność z 1 na 0.5. Widma synchroniczne (e) i asynchroniczne (f) otrzymane z widm zawierających pasmo przy  $1000\text{ cm}^{-1}$  zmieniające swoją szerokość połówkową z 20 na  $15\text{ cm}^{-1}$ .

Figure 5. Synchronous (a) and asynchronous (b) spectra constructed from spectra with a band changing its position from  $1000\text{ cm}^{-1}$  to  $1001\text{ cm}^{-1}$  without intensity changes. Synchronous (c) and asynchronous (d) spectra constructed from spectra with a band changing its position from  $1000$  to  $1001\text{ cm}^{-1}$  and intensity from 1 to 0.5. Synchronous (e) and asynchronous (f) spectra constructed from spectra with a band at  $1000\text{ cm}^{-1}$  reducing its half-width from 20 to  $15\text{ cm}^{-1}$ .

Aby rozstrzygnąć jakie jest prawdziwe źródło pochodzenia obserwowanych pików korelacyjnych, pomocne mogą okazać się komputerowe symulacje lub też dokładna analiza widm eksperymentalnych. Należy również wspomnieć, że położenia pików asynchronicznych mogą znacznie odbiegać od prawdziwych położenia pasm [22, 23]. Różnica położenia jest tym większa, im bliżej siebie znajdują się pasma na widmie oryginalnym i im mają większe szerokości połówkowe. Położenia pików synchronicznych są znacznie mniej zaburzone niż położenia pików asynchronicznych. Warto jednak pamiętać, że nie zawsze największe zmiany spektralne mają miejsce

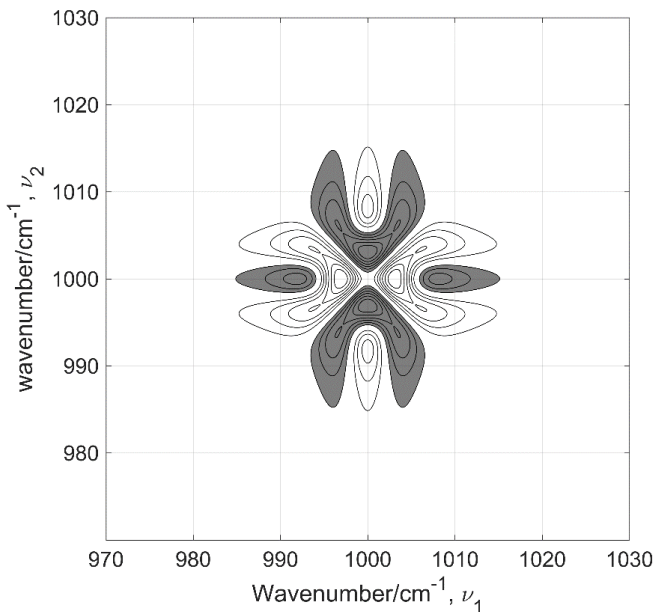
w maksimum pasma oryginalnego, zwłaszcza gdy mamy do czynienia z obwiednią spektralną składającą się z kilku nakładających się pasm.

Inny poważny problem związany z interpretacją dwuwymiarowych widm korelacyjnych stanowi poprawne określenie kolejności (sekwencji) zmian spektralnych [10, 25-27]. Bezkrytyczne stosowanie reguł interpretacji widm korelacyjnych w wielu przypadkach może prowadzić do błędnych wniosków. Reguły te zostały pierwotnie wyprowadzone dla periodycznych zmian zaburzenia i określały relację pomiędzy częstością zaburzenia i częstością zmian spektralnych przy poszczególnych liczbach falowych [1-3]. Jednak w przypadku stosowania ogólnego algorytmu [5], sprawa nie jest już tak prosta, gdyż częstość zaburzeń nieperiodycznych pozostaje nieokreślona. Zatem możemy porównywać jedynie ewolucję względnych zmian intensywności różnych sygnałów w funkcji zaburzenia. Otrzymana informacja nie budzi wątpliwości, jeżeli wszystkie zmiany spektralne opisuje taka sama funkcja a asynchroniczność wynika jedynie z przesunięcia w fazie zmian przy różnych liczbach falowych. W takim przypadku analiza korelacyjna dostarcza wiarygodną sekwencję zmian spektralnych. Jednak dla większości danych eksperymentalnych obserwujemy zmiany spektralne przy wszystkich liczbach falowych, począwszy od samego początku pomiarów. Aby otrzymać informacje o przesunięciu w fazie konieczne byłoby wykonanie pomiarów czasowo-rozdzielczych w skali czasowej nieosiągalnej na zwykłych spektrometrach. Ewentualne przesunięcie w fazie zmian spektralnych jest zazwyczaj na tyle małe, że z pomiarów otrzymujemy jedynie informację o względnej prędkości zmian przy różnych liczbach falowych. Zatem widma korelacyjne dostarczają informację typu "szybciej-wolniej" a nie "wcześniej-później". Należy jednak podkreślić, że wyznaczona sekwencja szybkości zmian jest wiarygodna tylko wówczas, gdy zmiany te opisuje identyczna funkcja. Jeżeli natomiast zmiany spektralne przy różnych liczbach falowych opisują różne funkcje, wówczas wyznaczona sekwencja zmian traci sens fizyczny.

#### 4. PRZYGOTOWANIE DANYCH DO DWUWYMIAROWEJ ANALIZY KORELACYJNEJ

Rzadko się zdarza aby dwuwymiarową analizę korelacyjną można było wykonać na oryginalnych, niepoprawionych widmach. Każde dane spektralne zawierają mniejszy lub większy poziom szumu oraz fluktuacje linii podstawowej. Ponadto, niektóre zaburzenia, takie jak temperatura, mogą generować zmianę położenia i/lub szerokości pasm. Część z tych niepożądanych efektów można wyeliminować lub ograniczyć w trakcie pomiarów lub też za pomocą odpowiednich metod numerycznych. Np. redukcję szumu można osiągnąć poprzez zwiększenie liczby akumulacji widm. Jednak metoda ta powoduje wydłużenie czasu pomiaru i nie zawsze można ją zastosować (np. w czasie pomiarów widm indywiduów krótko-żyjących). Istnieje szereg metod numerycznych, które pozwalają na tzw. 'wygładzenie widm' czyli redukcję szumu. Najczęściej stosowaną techniką wygładzania widm jest metoda Savitzkiego-Golaya, która polega na aproksymacji kolejnych fragmentów widma za pomocą wielomianu niskiego stopnia [28]. Czasami stosowane są bardziej zaawansowane metody eliminacji szumu jak np. wygładzanie fourierowskie czy chemometryczne (za pomocą PCA). Sposób eliminacji fluktuacji linii podstawowej zależy od amplitudy i charakteru tych zaburzeń. W wielu

przypadkach nawet prosty offset znacznie poprawia jakość widm synchronicznych i asynchronicznych. Offset polega na sprowadzeniu absorbancji wszystkich widm do wartości zero w punkcie odniesienia, który wybieramy w rejonie wolnym od pasm. Kiedy zaburzenia linii podstawowej mają złożony charakter, wówczas można zastosować bardziej zaawansowane metody korekcji jak np. MSC (multiplicative scatter/signal correction) [29]. Jeżeli zawiodą wszelkie znane metody korekcji linii podstawowej, wówczas do dwuwymiarowej analizy korelacyjnej można zastosować widma drugich pochodnych [11]. Druga pochodna skutecznie eliminuje fluktuacje linii podstawowej, jednak na widmach korelacyjnych mogą pojawić się dodatkowe piki (side lobes), które są artefaktami związanymi z charakterem widm drugiej pochodnej. Inne niepożądane efekty, jak zmiana położenia lub szerokości pasma mogą być specyficznym skutkiem działania danego zaburzenia na badany układ i nie można ich wyeliminować z widm korelacyjnych. Oba te efekty często występują jednocześnie dając złożony wzór pików korelacyjnych, co znakomicie ilustruje Rysunek 6. Źródłem wszystkich zmian spektralnych widocznych na tym rysunku są dwa pasma, które zmieniają swoje położenia od 995 do 999  $\text{cm}^{-1}$  i od 1005 do 1001  $\text{cm}^{-1}$  oraz szerokości połówkowe z 10 na 5  $\text{cm}^{-1}$ . Bezpośrednia interpretacja takich widm jest trudna i może prowadzić do błędnych wniosków. Bardzo pomocnym narzędziem do poprawnej interpretacji złożonych widm korelacyjnych są komputerowe symulacje. Porównanie syntetycznych widm korelacyjnych z widmami otrzymanymi z danych eksperymentalnych pozwala na ustalenie rzeczywistej przyczyny obserwowanych zmian spektralnych [10, 11, 22-24].

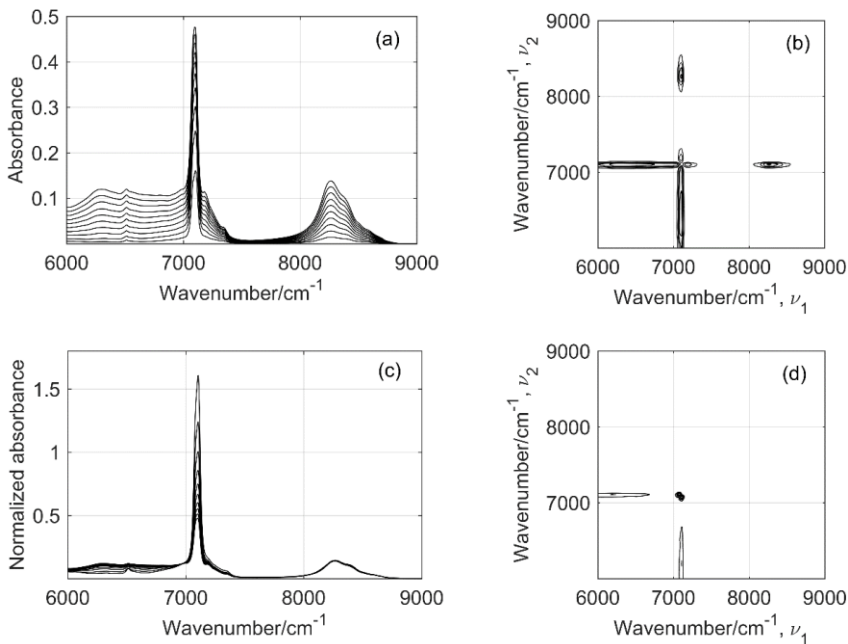


Rysunek 6. Dwuwymiarowe widmo asynchroniczne otrzymane z widma symulowanego, w którym dwa pasma zmieniają swoje położenie i szerokość połówkową (szczegóły w tekście)

Figure 6. Two-dimensional correlation asynchronous spectrum obtained from the simulated spectrum consisting of two bands changing position and half-width (details in the text)



Kolejny problem utrudniający interpretację dwuwymiarowych widm korelacyjnych wynika z faktu, że stosowane zaburzenie, oprócz badanego efektu, jednocześnie może wywoływać szereg efektów niepożądanych (side effects). Np. zmiana temperatury wpływa nie tylko na wszelkiego rodzaju równowagi kwasowo-zasadowe, asocjacyjne, konformacyjne, itp. ale powoduje również zmianę gęstości a co za tym idzie, generuje nieselektywne zmiany intensywności [21]. Wzrost temperatury o 50 °C dla typowej cieczy powoduje zmianę gęstości o ok. 3-5%, co jest wyraźnie zauważalne na widmach asynchronicznych w postaci dodatkowych pików. Jeszcze większe efekty występują, kiedy zaburzeniem jest zmiana stężenia badanej substancji. W takim przypadku nieselektywne zmiany spektralne wywołane zmianą stężenia mogą być porównywalne lub znacznie większe niż odpowiednie zmiany selektywne, które stanowią przedmiot badań. Dwuwymiarowe widma korelacyjne, a zwłaszcza widma asynchroniczne, otrzymane z takich danych mają bardzo ograniczoną przydatność gdyż zawierają informację o wszystkich efektach jednocześnie [11, 21]. Aby wyeliminować niepożądane efekty z widm korelacyjnych należy znormalizować widma eksperymentalne. Najlepszą metodą normalizacji jest wykorzystanie znanej relacji pomiędzy zaburzeniem a niepożądanym efektem (np. zmiana gęstości w funkcji temperatury) [21]. Jeżeli taka zależność nie jest znana, wówczas do normalizacji można wykorzystać tzw. wzorec wewnętrzny, czyli intensywność pasma, którego zmiany spektralne mają jedynie charakter nieselektywny. Jak pokazano na Rysunku 7, w zakresie NIR znakomitym wzorcem do normalizacji może być drugi nadton drgania rozciągającego C-H zlokalizowany w zakresie 8200-8400  $\text{cm}^{-1}$  [21]. Intensywność integralna tego pasma wykazuje bardzo wysoki stopień korelacji ( $R=0.9999$ ) ze zmianą gęstości. Jak można zauważyć, normalizacja spowodowała znaczne uproszczenie widm korelacyjnych, gdyż zostały wyeliminowane nieselektywne zmiany gęstości (np. pasma powyżej 8000  $\text{cm}^{-1}$ ). Dzięki temu badane efekty stały się lepiej widoczne i ujawniły swój rzeczywisty charakter.



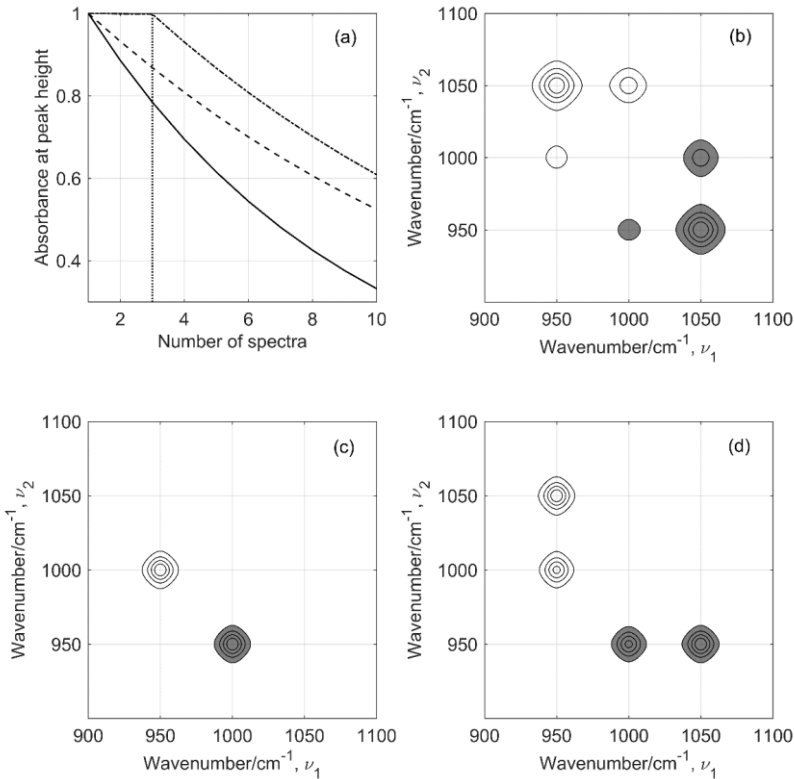
Rysunek 7. Widma NIR 1-oktanolu w zakresie stężeń [0.1:0.1:1]. M przed normalizacją (a) i po normalizacji (c) oraz odpowiednie widma asynchroniczne (b/d)

Figure 7. NIR spectra of 1-octanol in the concentration range of [0.1:0.1:1]. M before normalization (a), after normalization (c) and the corresponding asynchronous spectra (b/d)

## 5. OTRZYMYWANIE INFORMACJI O DYNAMICE ZMIAN SPEKTRALNYCH Z DWUWYMIAROWYCH WIDM KORELACYJNYCH

Jeżeli do analizy korelacyjnej użyjemy całą serię widm, wówczas otrzymane wyniki będą zawierały sumaryczną informację o wszystkich procesach zachodzących w badanym układzie, bez względu na dynamiczny zakres ich występowania. Kiedy badany proces ma złożoną dynamikę, wówczas interpretacja takich widm może dostarczyć niejednoznaczne wyniki. Aby rozwiązać ten problem, należy wykonać analizę korelacyjną na mniejszych porcjach danych, dzieląc cały zakres zaburzeń na mniejsze podzakresy (okna). Tym sposobem otrzymamy informację jedynie o zmianach zachodzących w danym przedziale zaburzeń. Następnie, porównując informacje otrzymane z różnych zakresów zaburzenia możemy prześledzić dynamikę zmian przy poszczególnych liczbach falowych. Powyższą ideę zilustrowano na Rysunku 8 w oparciu o widma syntetyczne, z których każde zawierało trzy pasma. Pasma przy  $950\text{ cm}^{-1}$  zmienia swoją intensywność z inną prędkością niż dwa pozostałe pasma, natomiast pasma przy  $1050$  i  $1150\text{ cm}^{-1}$  mają identyczną prędkość zmian ale zmiany te są przesunięte w fazie (Rysunek 8a). Jak łatwo można zauważyć, wzór pików na widmie asynchronicznym zależy od tego, jaki zakres zmian (ile widm) zostanie użyty do obliczeń. Zgodnie z oczekiwaniami, największa liczba pików znajduje się na widmie asynchronicznym obliczonym z całej serii widm (Rysunek 8b). Natomiast Rysunki 8c

i 8d, które wygenerowano dla ograniczonych zakresów zaburzenia (1-3 i 3-10) zawierają już informację bardziej selektywną. Oczywiście, metoda ta będzie efektywna wówczas, jeżeli dysponujemy odpowiednio dużą liczbą widm a badane zmiany spektralne nie są monotoniczne w całym zakresie zaburzeń. Analiza Rysunku 8 pokazuje jeszcze jeden istotny problem. Niezależnie od faktu, czy dwa pasma zmieniają swoje intensywności z różnymi prędkościami, czy też zmiany te zachodzą z tymi samymi prędkościami ale są przesunięte w fazie, na widmie asynchronicznym jest generowany pik. Analizując całą serię danych nie można rozróżnić tych dwóch odmiennych sytuacji, tzn. czy pasma zmieniają swoje intensywności z różnymi prędkościami czy też zmiany są jedynie przesunięte w fazie. W takim przypadku podział całej serii widm na mniejsze podzakresy pozwala na jednoznaczne ustalenie źródła pochodzenia pików asynchronicznych. Widmo asynchroniczne otrzymane z całej serii danych (Rysunek 8b) zawiera pik przy współrzędnych 1000 i 1050  $\text{cm}^{-1}$ . Z kolei na widmie otrzymanym z zakresu 3-10 (Rysunek 8d) pik ten nie występuje, co sugeruje identyczne tempo zmian spektralnych w danym przedziale. Jeżeli do analizy użyjemy tylko widma z początkowego zakresu (1-3), wówczas przy liczbie falowej 1050  $\text{cm}^{-1}$  nie występują żadne piki, co świadczy o braku zmian spektralnych w tym zakresie (Rysunek 8c). Zatem na podstawie powyższej analizy możemy jednoznacznie stwierdzić, że zmiany spektralne przy 1000 i 1050  $\text{cm}^{-1}$  zachodzą z tą samą prędkością ale są przesunięte w fazie (zmiany przy 1050  $\text{cm}^{-1}$  zaczynają się z opóźnieniem), natomiast zmiany spektralne przy 950  $\text{cm}^{-1}$  przebiegają z inną prędkością (zachodzą szybciej) niż zmiany dla pozostałych pasm.



Rysunek 8. Zmiany intensywności w maksimum dla trzech pasm: 950 cm<sup>-1</sup> (linia ciągła), 1000 cm<sup>-1</sup> (linia przerywana) i 1050 (linia kreska-kropka) (a) oraz widm asynchroniczne obliczone z widm 1-10 (b), 1-3 (c) oraz 3-10 (d)

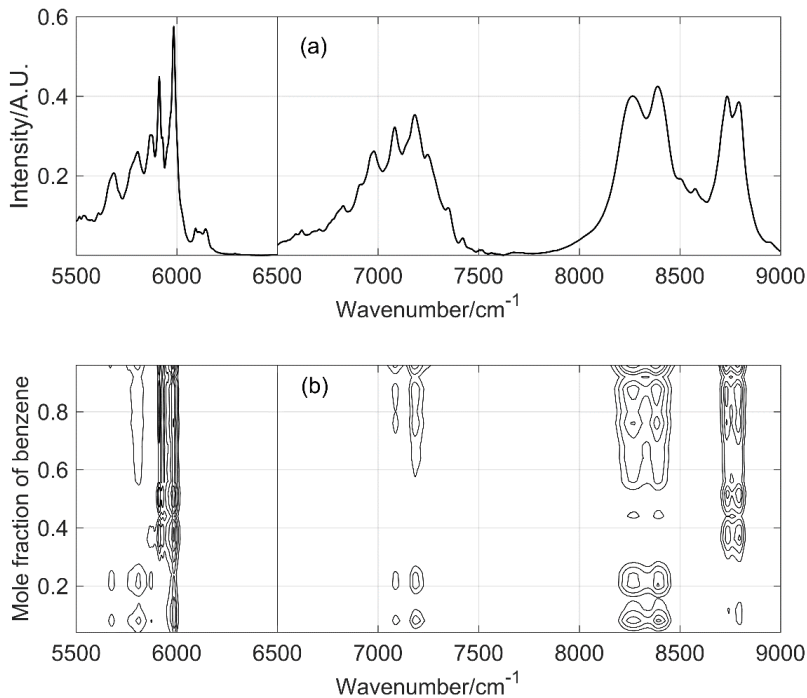
Figure 8. Peak height variations for three bands: 950 cm<sup>-1</sup> (solid line), 1000 cm<sup>-1</sup> (dashed line) and 1050 (dash-dot line) (a) and the asynchronous spectra constructed from spectra 1-10 (b), 1-3 (c) and 3-10 (d)

## 6. METODA RUCHOMEGO OKNA (MOVING WINDOW ANALYSIS)

Metoda ruchomego okna jest innym, bardzo użytecznym narzędziem do badania dynamiki zmian spektralnych. Po raz pierwszy została zastosowana przez Thomasa i Richardsona do analizy przejść fazowych w ciekłym kryształach 4'-n-octylo-4-cyjanobifenylu (8CB) [7]. Metoda ta polega na sukcesywnym obliczaniu widm mocy na mniejszych podzbiórach danych, które nazywamy oknami. Długość okna jest stała i powinna być liczbą nieparzystą, ponieważ obliczone widmo mocy przypisujemy środkowej wartości zaburzenia w danym przedziale. Obliczenia rozpoczynamy od okna zawierającego pierwsze widmo w serii danych. Następnie przesuwamy okno o jedno widmo w kierunku końca serii danych i obliczamy kolejne widmo mocy. Obliczenia kontynuujemy do momentu, kiedy bieżące okno będzie zawierało ostatnie widmo w serii.

Wynikiem tej analizy jest macierz widm mocy uporządkowanych względem zaburzenia. Wykres konturowy tej macierzy pozwala na bezpośrednie porównanie na jednym dwuwymiarowym widmie dynamiki zmian przy różnych liczbach falowych. Im mniejszy jest rozmiar okna (mniejsza liczba widm), tym większa rozdzielczość otrzymanego widma, dlatego też najczęściej stosujemy okno zawierające 3 widma. Na Rysunku 9 pokazano wyniki otrzymane metodą ruchomego okna dla binarnej mieszaniny n-heksanu z benzenem w całym zakresie ułamków molowych [30]. W tym przypadku zaburzeniem był skład mieszaniny. Jak można zauważyć, zmiany spektralne dla obu składników mieszaniny mają odmienny charakter i występują w innych zakresach ułamków molowych, dzięki czemu łatwo można ustalić źródło pochodzenia poszczególnych pasm i ich ewolucję w funkcji zaburzenia. Szczegółowa analiza tych wyników znajduje się we wcześniejszej pracy [30].

W 2006 roku Morita zaproponował rozszerzoną modyfikację tej metody (PCMW2D -perturbation-correlation moving-window two-dimensional), która polegała na bezpośredniej korelacji zmian spektralnych ze zmianami wartości zaburzenia [8]. Tym sposobem można otrzymać odpowiednik zarówno widma synchronicznego jak i asynchronicznego, co umożliwia badanie mechanizmu skomplikowanych zmian spektralnych w funkcji zaburzenia. Jednak obliczanie i interpretacja tych widm nie jest tak prosta i bezpośrednia jak w przypadku klasycznej metody ruchomego okna.



Rysunek 9. Widmo NIR mieszaniny n-heksan/benzen uśrednione po składzie (a) i wyniki otrzymane metodą ruchomego okna (b). Intensywności w zakresie 6500–9000  $\text{cm}^{-1}$  zostały powiększone (100x) aby pojawiły się w tej skali. Wszystkie piki są dodatnie

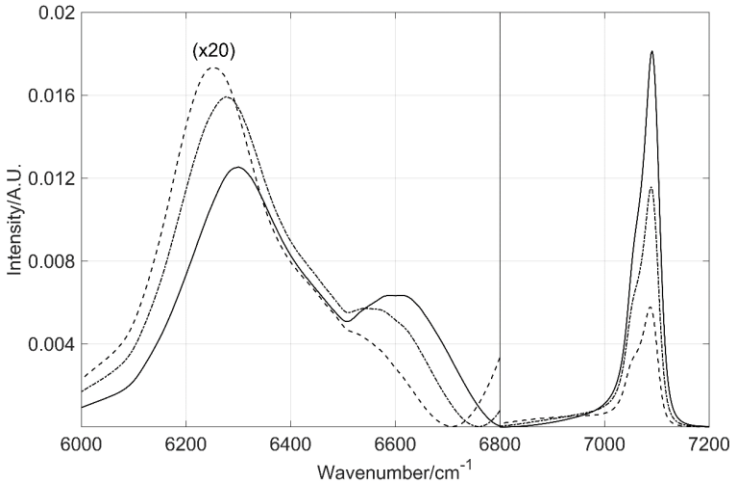
Figure 9. A composition-average NIR spectrum of n-hexane/benzene mixture (a) and results of moving window analysis (b). Intensities in the 6500–9000  $\text{cm}^{-1}$  range were enlarged (100x) to appear in this scale. All peaks are positive

## 7. WIDMA MOCY (POWER SPECTRA)

Główna przekątna widma synchronicznego, tzw. widmo mocy, reprezentuje zakres zmian spektralnych przy poszczególnych liczbach falowych, względem widma odniesienia. Innymi słowy, widma mocy pokazują czułość poszczególnych fragmentów cząsteczki lub różnych składników mieszaniny na dane zaburzenie. Pomimo, że mogą one stanowić cenne źródło informacji o badanym układzie, w praktyce nie są wykorzystywane zbyt często [19]. Częściowo może to być spowodowane brakiem odpowiedniego oprogramowania, które umożliwiłoby niestandardową analizę korelacyjną a częściowo nieznanymi potencjalnymi możliwościami jakie posiadają widma mocy. Widma te można wykorzystać na wiele sposobów. Jeden ze sposobów polega na podziale całego zakresu zaburzenia na mniejsze przedziały, co pozwala na otrzymanie informacji o wpływie różnych wartości zaburzenia na zakres zmian spektralnych w danym przedziale zaburzeń. Powyższe informacje można powiązać ze zmianami populacji poszczególnych indywiduów obecnych w badanym układzie, zmianami strukturalnymi lub też ze zmianami w oddziaływaniach między- lub wewnątrzcząsteczkowych. Ten sposób wykorzystania widm mocy został zilustrowany na Rysunku

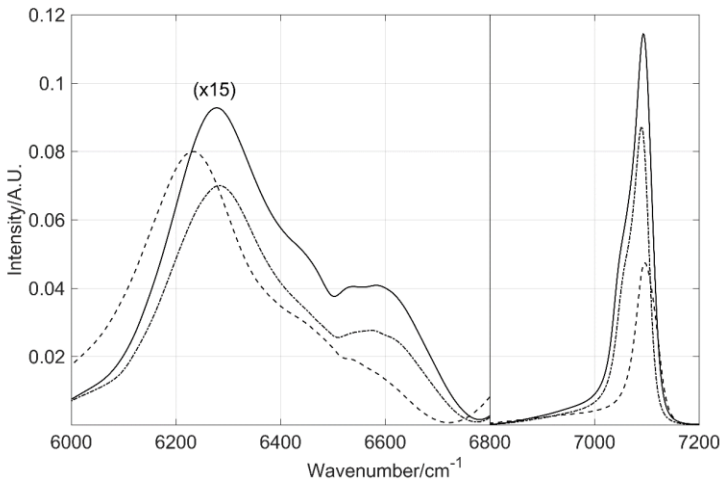
10 [19]. Widma mocy ciekłego 2-oktanolu zostały obliczone dla trzech przedziałów temperatury: 20-40, 40-60 i 60-80 °C. Wraz ze wzrostem temperatury obserwujemy wzrost intensywności pasma wysoko częstotściowego, które odpowiada drganiom rozciągającym pierwszego nadtonu wolnej grupy OH. Jednocześnie, maleje intensywność nisko częstotściowych pasm, które są przypisane do grupy OH zaangażowanej w wiązanie wodorowe. Widać również, że położenie pasma wolnej grupy OH nie zmienia się, natomiast pasmo związanej grupy OH przesuwają się w kierunku wyższych liczb falowych wraz ze wzrostem temperatury. Więcej informacji na ten temat można znaleźć w pracach [19, 31]. Ten sposób analizy różni się od metody ruchomego okna, również opartej na widmach mocy, gdzie końcowym rezultatem analizy jest dwuwymiarowy wykres ukazujący zmiany spektralne przy poszczególnych liczbach falowych w funkcji zaburzenia. Natomiast omawiana metoda umożliwia bezpośrednie porównanie na jednym wykresie zmian spektralnych dla kilku dokładnie określonych przedziałów zaburzenia.

Inny sposób wykorzystania widm mocy polega na analizie serii widm różnych próbek dla tych samych wartości zaburzenia. Otrzymane w ten sposób widma mocy pozwalają na porównanie czułości różnych próbek oraz ich poszczególnych fragmentów na identyczne zaburzenie. Rysunek 11 przedstawia widma mocy dla trzech alkoholi oktylowych (1-oktanol, 2-oktanol i 3-oktanol) zmierzonych w tym samym zakresie temperatur (20-80 °C). Analiza intensywności oraz położenia pików na widmach mocy dostarcza wielu cennych informacji o procesach asocjacji mających miejsce w tych alkoholach. Wzrost temperatury powoduje największe zmiany intensywności dla pasma wolnej grupy OH w drugorzędowym 3-oktanolu a najmniejsze w pierwszorzędowym 1-oktanolu. Widać również systematyczne zmiany położenia zasocjowanej (ok. 6250  $\text{cm}^{-1}$ ) i wolnej (ok. 7100  $\text{cm}^{-1}$ ) grupy OH przy przejściu od 1-oktanolu do 3-oktanolu. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że termiczny rozpad asocjacji alkoholi oktylowych jest procesem złożonym i jego przebieg zależy od molekularnej struktury alkoholi. Szczegółowa analiza tych wyników znajduje się we wcześniejszych pracach [19, 31].



Rysunek 10. Widma mocy otrzymane z widm NIR 2-oktanolu zarejestrowanych w przedziale temperatur 20-40 °C (linia przerywana), 40-60 °C (linia kreska-kropka) i 60-80 °C (linia ciągła). Widma w zakresie 6000-6800  $\text{cm}^{-1}$  zostały powiększone 20-krotnie aby były dobrze widoczne w tej skali

Figure 10. Power spectra determined from temperature-dependent NIR spectra of 2-octanol in 20-40 °C (dashed line), 40-60 °C (dash-dot line), and 60-80 °C (solid line) range. The spectra from 6000 to 6800  $\text{cm}^{-1}$  were enlarged 20 times to properly appear in this scale



Rysunek 11. Widma mocy otrzymane z widm NIR 1-oktanolu (linia przerywana), 2-oktanolu (linia kreska-kropka) oraz 3-oktanolu (linia ciągła) zarejestrowanych w przedziale temperatur 20-80 °C. Widma w zakresie 6000-6800  $\text{cm}^{-1}$  zostały powiększone 15-krotnie aby były dobrze widoczne w tej skali

Figure 11. Power spectra determined from NIR spectra of 1-octanol (dashed line), 2-octanol (dash-dot line), and 3-octanol (solid line) recorded from 20 to 80 °C. The spectra from 6000 to 6800  $\text{cm}^{-1}$  were enlarged 15 times to properly appear in this scale



## UWAGI KOŃCOWE

W ciągu niespełna trzydziestu lat dwuwymiarowa analiza korelacyjna stała się jednym z rutynowych narzędzi do analizy i interpretacji danych spektroskopowych. Jednak metoda ta jest na tyle uniwersalna, że można ją stosować do dowolnego typu danych, nie tylko widm oscylacyjnych. Pierwszy algorytm otrzymywania dwuwymiarowych widm korelacyjnych wymagał stosowania periodycznych zaburzeń o niewielkiej amplitudzie i użycia transformaty Fouriera do obliczeń. Obecnie, uogólniony algorytm w połączeniu z wykorzystaniem macierzy Hilberta-Nody pozwala na bardzo łatwe obliczanie widm synchronicznych (iloczyn dwóch macierzy) i asynchronicznych (iloczyn trzech macierzy). Jednocześnie, algorytm ten umożliwia zastosowanie tak ważnych nieperiodycznych zaburzeń jak temperatura, ciśnienie, pH czy skład próbki. O ile otrzymywanie dwuwymiarowych widm korelacyjnych jest stosunkowo proste, to interpretacja tych widm może stanowić poważne wyzwanie. W szczególności bardzo ostrożnie należy podchodzić do wyznaczonej sekwencji zmian oraz nadmiernej liczby pików, zwłaszcza na widmie asynchronicznym. W razie wątpliwości, najlepszym sposobem weryfikacji wyników eksperymentalnych pozostają komputerowe symulacje. Aby otrzymać jak najlepsze i najbardziej wiarygodne wyniki, należy odpowiednio zaplanować eksperyment oraz przygotować dane eksperymentalne do analizy. Często niezbędna może okazać się normalizacja widm, która całkowicie lub częściowo eliminuje wpływ niepożądanych efektów na widmo korelacyjne.

Pomimo tych trudności, w literaturze można znaleźć wiele interesujących zastosowań dwuwymiarowej analizy korelacyjnej do badania różnorodnych układów, poczynając od prostych cząsteczek a kończąc na złożonych układach biologicznych. Niewątpliwym atutem tej metody jest podwyższenie spektralnej rozdzielczości i możliwość obserwowania selektywnych korelacji pomiędzy różnymi pikami. Dodatkową zaletą dwuwymiarowej analizy korelacyjnej jest możliwość korelowania danych z całkowicie odmiennych typów eksperymentów, tzw. hetero-korelacja. Analiza hetero-korelacyjna może dostarczyć nowych jakościowo informacji, niedostępnych z homo-korelacji każdej z serii danych z osobna. Dużo interesujących informacji mogą dostarczyć również widma mocy a zwłaszcza oparta o widma mocy, metoda ruchomego okna. Aby zwiększyć zasób i wiarygodność informacji pozyskiwanej z dwuwymiarowych widm korelacyjnych, opracowywane są nowe warianty tej metody. Między innymi, pojawiają się próby połączenia dwuwymiarowej analizy korelacyjnej z metodami chemometrycznymi [32]. Jednak nawet zastosowanie uogólnionego algorytmu zaproponowanego przez Nodę w 1993 roku, może dostarczyć wiele cennych informacji o strukturze, oddziaływaniach, przemianach fazowych czy procesach równowagowych w badanym układzie. Co ważne, niejednokrotnie otrzymanie tych informacji nie wymaga użycia specjalistycznej aparatury, dużego nakładu pracy i środków, natomiast potencjalne korzyści wynikające z zastosowania dwuwymiarowej analizy korelacyjnej z pewnością będą znacznie większe niż wysiłek włożony w opanowanie tej metody.

## PODZIĘKOWANIE

Praca ta jest dedykowana prof. dr hab. Jerzemu Hawrankowi z okazji osiemdziesiątych urodzin.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] I. Noda, *Bull. Am. Phys. Soc.*, 1986, **31**, 520.
- [2] I. Noda, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 8116.
- [3] I. Noda, *Appl. Spectrosc.*, 1990, **44**, 550.
- [4] V. G. Gregoriou, J. L. Chao, H. Toriumi, R. A. Palmer, *Chem. Phys. Lett.*, 1991, **179**, 491.
- [5] I. Noda, *Appl. Spectrosc.*, 1993, **47**, 1329.
- [6] S. Ekgasit, H. Ishida, *Appl. Spectrosc.*, 1995, **49**, 1243.
- [7] M. Thomas, H. H. Richardson, *Vib. Spectrosc.*, 2000, **24**, 137.
- [8] S. Morita, H. Shinzawa, I. Noda, Y. Ozaki, *Appl. Spectrosc.*, 2006, **60**, 398.
- [9] I. Noda, Y. Ozaki, *Two Dimensional Correlation Spectroscopy Applications in Vibrational and Optical Spectroscopy*; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 2004.
- [10] M. A. Czarnecki, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2011, **46**, 67.
- [11] M. A. Czarnecki, *Appl. Spectrosc.*, 1998, **52**, 1583.
- [12] P. J. Tandler, P. B. Harrington, H. Richardson, *Anal. Chim. Acta.*, 1998, **368**, 45.
- [13] M. A. Czarnecki, *Appl. Spectrosc.*, 2003, **57**, 989.
- [14] I. Noda, *Appl. Spectrosc.*, 2000, **54**, 994.
- [15] I. Noda, Y. Liu, Y. Ozaki, *J. Phys. Chem.*, 1996, **100**, 8674.
- [16] M. A. Czarnecki, P. Wu, H. Siesler, *Chem. Phys. Lett.*, 1998, **282**, 326.
- [17] I. Noda, *Chemtract: Macromol. Chem.*, 1990, **1**, 89.
- [18] I. Noda, *Appl. Spectrosc.*, 2003, **57**, 1049.
- [19] M. A. Czarnecki, *Appl. Spectrosc.*, 2020, **74**, 894.
- [20] M. A. Czarnecki, H. Maeda, Y. Ozaki, M. Suzuki, M. Iwahashi, *Appl. Spectrosc.*, 1998, **52**, 994.
- [21] M. A. Czarnecki, *Appl. Spectrosc.*, 1999, **53**, 1392.
- [22] A. Gericke, S. J. Gadaleta, J. W. Brauner, R. Mendelsohn, *Biospectroscopy*, 1996, **2**, 341.
- [23] M. A. Czarnecki, *Appl. Spectrosc.*, 2000, **54**, 986.
- [24] M. A. Czarnecki, *Vib. Spectrosc.*, 2012, **58**, 193.
- [25] I. Noda, *J. Mol. Struct.*, 2010, **974**, 3.
- [26] L. M. V. Sikirzhyski, Z. Hong, I. K. Lednev, S. A. Asher, *Appl. Spectrosc.*, 2013, **67**, 283.
- [27] I. Noda, *J. Mol. Struct.*, 2016, **1124**, 197.
- [28] A. Savitzky, M. J. E. Golay, *Anal. Chem.*, 1964, **36**, 1627.
- [29] *PLS-Toolbox, Chemometrics Tutorial (Eigenvector Research, Inc.)*.
- [30] P. Tomza, W. Wrzeszcz, M. A. Czarnecki, *J. Mol. Liq.*, 2019, **276**, 947.
- [31] M. A. Czarnecki, *Vib. Spectrosc.*, 2004, **36**, 237.
- [32] J. Hniopek, M. Schmitt, J. Popp, T. Bocklitz, *Appl. Spectrosc.*, 2020, **74**, 460.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 stycznia 2023 r.