正交在二维相关光谱中的机会

徐怡庄^{1,2*}, 郭然^{1,2}, 贺安琪¹, 李晓佩³

1. 稀土材料化学及应用国家重点实验室, 北京大学化学与分子工程学院, 北京分子科学国家实验室, 北京 100871

2. 江苏集萃分子工程研究院有限公司, 苏州 215500

3. 大连工业大学实验仪器中心, 大连 116034

*通讯作者, E-mail: xyz@pku.edu.cn

收稿日期: 2020-07-15; 接受日期: 2020-08-17; 网络版发表日期: 2020-10-23

摘要 本文总结了我们将正交的概念运用到二维相关光谱方法学的一些尝试. 主要工作包括: 研究溶于同一组溶液中两种溶质间的相互作用. 通过设计特殊的浓度序列, 在构建二维相关光谱时形成正交向量, 正交向量的点乘可消除与分子间相互作用无关的二维相关光谱信号, 进而交叉峰可显示出分子间相互作用的真相. 解析混合物的色谱-光谱联用或类似实验产生的双线性数据. 利用Hilbert-Noda矩阵的自正交性, 可将隐藏在原始数据中的不变量转化为二维/高维异步谱中的系统缺峰, 从而有可能在不同组分的洗脱曲线高度重叠的情况下提取纯组分光谱.

关键词 二维相关光谱, 正交, 分子间相互作用, 双线性数据, 系统缺峰

1 引言

由于实现了二维化及多维化, 核磁共振(NMR)对波谱信号的解析能力大幅度增强, 使得应用NMR解析生物大分子在溶液中的结构成为可能, 这对于深入认识生物大分子的结构与功能关系起到了非常重要的作用^[1~3]. 多维NMR波谱学的巨大成功鼓舞了分子光谱学研究者发展二维/多维光谱方法.

但在20世纪80年代, 把构建二维核磁共振谱的方法简单移植到其他光谱领域是困难的. 二维NMR谱是通过对自旋核进行多脉冲激发, 并对所得到的时域数据进行双傅里叶变换得到的, 由于自旋核的弛豫时间较长(微秒量级或更长), 对弛豫中的自旋核加以操控或进行观测是可行的. 但红外光谱振动弛豫时间要短

得多(皮秒飞秒量级), 当时的实验技术难以对如此短暂的瞬态过程加以观测或进行操控. 为了克服这一障碍, 野田勇夫(Isao Noda)提出了一种全新的构建二维红外相关光谱的方法^[4,5], 基本思路如下: 对样品施加一个外部扰动, 观测样品在扰动影响下的红外光谱, 然后对得到的系列红外光谱进行数学处理, 构建二维红外相关光谱.

二维相关谱包括二维同步相关谱(简称同步谱, 用 $\Phi(x, y)$ 表示)和二维异步相关谱(简称异步谱, 用 $\Psi(x, y)$ 表示). 同步谱与二维核磁中的COSY谱相似, 在二维光谱平面上有两类峰, 一类在对角线上, 称为对角线峰, 其强度正比于相应的一维光谱中各峰对外部扰动的敏感程度, 且永远是正峰. 另一类峰不在对角线上, 称为交叉峰, 交叉峰成对出现且关于对角线对称分布. 同步

引用格式: Xu Y, Guo R, He A, Li X. Orthogonality in two-dimensional correlation spectroscopy. *Sci Sin Chim*, 2020, 50: 1697–1719, doi: 10.1360/SSC-2020-0139

谱的交叉峰可正可负, (x_0, y_0) 处的交叉峰的强度和正负反映一维光谱中位于 x_0 和 y_0 处谱峰强度在外部扰动下响应的同步性. 异步谱上的谱峰关于对角线反对称. 根据这一性质, 可以推出异步谱中不存在对角线峰(即 $\Psi(x, x) = 0$), 只存在交叉峰. 交叉峰也是成对出现的, 如在 (x_0, y_0) 处有一个交叉峰, 则在 (y_0, x_0) 处一定存在一个交叉峰, 且强度相同, 符号相反.

构建二维相关光谱的处理方法有三种: (1) 相关分析方法: Noda在二维相关光谱的开篇之作中就是用相关分析方法构建二维相关光谱的^[4,5]. 这种方法仅适用于小振幅简谐扰动产生的动态光谱. (2) 傅里叶变换法: 由于相关分析法仅能把小振幅简谐扰动产生的动态光谱数据构建成二维相关光谱, 这使得二维相关光谱的应用领域受到很大的局限. Noda^[6]在1993年提出一种通过傅里叶变换构建二维相关光谱的新方法, 这种方法适用于任意波形扰动产生的动态光谱. (3) 矩阵法: 2000年, Noda^[7]提出利用矩阵法构建二维相关光谱的新方法, 该方法通过将外部扰动下获得的每一张一维光谱扣除一个参比光谱(通常是这系列一维光谱的平均光谱), 得到系列一维动态光谱, 将系列一维动态光谱组织成矩阵 $\mathbf{A}$, 再通过式(1)构建二维相关谱. 相比于傅里叶变换法, 矩阵法更方便通过数学分析深化认识二维相关光谱的行为, 为开发二维相关光谱新方法创造了条件. 本课题组在二维相关光谱领域的工作建立在矩阵法的基础上.

$$\Phi = \mathbf{A}^T \mathbf{A} \quad (1a)$$

$$\Psi = \mathbf{A}^T \mathbf{N} \mathbf{A} \quad (1b)$$

其中 $\mathbf{T}$ 表示矩阵转置, $\mathbf{N}$ 是Hilbert-Noda矩阵^[7].

二维相关光谱有以下三个功能^[4,5]: (1) 同步谱的交叉峰可用于反映不同物质分子间相互作用; (2) 异步谱的交叉峰可用于解析来源于不同物质但高度重叠的谱带; (3) 交叉峰的正负号可用于推断不同事件的先后顺序.

二维相关光谱方法受到了国内外光谱学学者的重视^[8-20], 并广泛应用于众多领域. 通过30年的发展, 二维相关光谱已成为光谱学的一个重要分支, 国内清华大学的尉志武^[13,14]、孙素琴和周群^[15,16]、吉林大学的吴玉清^[17,18]、东华大学的武培怡^[19,20]等一大批学者在二维相关谱领域做了非常出色的工作. 本课题组在发展二维相关光谱方法学及拓展二维相关光谱应用等方

面进行了一些探索, 主要工作内容如图1所示, 下面对各方面工作进行了简要介绍.

2 基于正交样品设计的二维相关谱方法的开发及在表征分子间相互作用方面的应用

随着超分子化学研究的进展, 人们日益清楚地认识到, 通过分子间相互作用, 可形成组成复杂、存在分子以上层次有序结构的超分子体系^[21]. 分子间相互作用赋予超分子复合体特殊的物理化学性质, 是分子识别和分子催化的物理基础. 深化认识不同分子间相互作用有助于理解生物分子体系的结构与性能关系, 并为设计开发新型智能材料提供思路. 虽然分子间相互作用的重要性早为人们认识, 但研究表征分子间相互作用的手段仍相当有限. 因此发展表征分子间相互作用的新方法仍是一个具有重要科学意义的课题.

分子光谱方法具有巨大的潜力. 例如, 在红外、拉曼光谱中, OH/NH伸缩振动谱带的峰位和峰宽变化可用来反映氢键的形成和变化^[22,23]. 自然界存在许多不同形式的分子间相互作用, 如偶极-偶极相互作用、 π - π 相互作用、 π -阳离子相互作用^[24]、 π -阴离子相互作用^[25]、卤键^[26,27]等. 虽然某些形式的分子间相互作用强度很大, 如 π -阳离子相互作用的强度与氢键相当^[24], 但这些分子间相互作用只能引起非常微弱的光谱变化. 这些细微的光谱变化, 在复杂的分子体系中往往被体系中不同物质的背景光谱信号所遮盖而难以被观察到. 因此, 如何运用分子光谱方法表征不同物质间的分子间相互作用是一个巨大的挑战.

二维同步相关光谱为研究表征分子间相互作用创造了一个机会. 如前文所述, 同步谱的交叉峰可反映不同物质间的相互作用^[4,5], 人们在运用同步谱表征分子间相互作用做了很多工作. 但在某些不存在分子间相互作用的体系中仍存在干扰性交叉峰, 使二维相关光谱难以可靠地判断相应的分子间是否真的存在相互作用. 尉志武等^[28]提出, 不同物质间相互作用可通过光谱信号对Beer-Lambert定律的偏离加以反映, 这为应用二维相关光谱的交叉峰反映分子间相互作用奠定了坚实的物理基础. 受其工作启发, 本课题组发展出基于正交样品设计(orthogonal sample design, OSD法)及相关技术的系列二维相关光谱方法, 用于表征分子间相互作用. 这些方法的研究对象为溶于同一组溶液的两

图 1 正交在二维相关光谱中的应用逻辑简图

Figure 1 Schematic diagram that shows the logical linkage among different parts under the orthogonality in 2D-COS.

种溶质间分子间相互作用及相关的行为与物理化学性质。在实验中,以两种溶质的浓度(两种溶质的浓度根据实验的要求进行特殊设计)作为外界扰动构建二维相关光谱,这样做的好处是体系的数学物理模型直观清楚,光谱行为可操控。

2.1 正交样品设计

为阐明OSD方法^[29],首先建立一个模型体系:配制一系列含溶质P和Q的溶液(共有 n 个溶液),并观测这些溶液的一维光谱(假设溶剂在所研究的光谱波段无吸收,P和Q分别在 X_P 和 X_Q 处有特征吸收峰,P和Q的吸收峰在光谱上不重叠),进一步利用此系列一维光谱构建同步谱。期望建立同步谱(X_P , X_Q)处交叉峰与分子间相互作用的对应关系,即分子间存在相互作用时, (X_P , X_Q)处存在交叉峰,分子间不存在相互作用时, (X_P , X_Q)处不存在交叉峰。

当溶液中P、Q单独存在时,根据Beer-Lambert定律,P和Q在第 i 个溶液的光谱在 X_P 、 X_Q 处的吸光度分别为

$$A^i(X_P) = f_P(X_P)LC_P^i = f_P(X_P)c_P^i \quad (2a)$$

$$A^i(X_Q) = f_Q(X_Q)LC_Q^i = f_Q(X_Q)c_Q^i \quad (2b)$$

其中 $i \in \{1, 2, \dots, n\}$, $f_P(x)$ 、 $f_Q(x)$ 分别为P、Q在单位浓度下的纯物质光谱; c_P^i 、 c_Q^i 为第 i 个溶液中P、Q的浓度; L 为液池厚度,我们假设 L 为1,在下面的公式中 L 不再出现。

当P和Q共存于同一溶液中,P、Q间的分子间相互作用将导致光谱信号相对于Beer-Lambert定律发生偏离,此时在 X_P 、 X_Q 处的吸光度可表示为

$$A^i(X_P) = f_P(X_P)c_P^i - \delta_P^i(X_P) \quad (3a)$$

$$A^i(X_Q) = f_Q(X_Q)c_Q^i - \delta_Q^i(X_Q) \quad (3b)$$

其中 $\delta_P^i(X_P)$ 、 $\delta_Q^i(X_Q)$ 分别为第 i 个溶液对应的一维光谱中, X_P 、 X_Q 处因P、Q间相互作用导致的光谱信号相对Beer-Lambert定律的偏离。

在此基础上,把得到的 n 张一维光谱转变为动态光谱,第 i 个溶液的动态光谱在 X_P 、 X_Q 处的值为

$$\tilde{A}^i(X_P) = A^i(X_P) - \bar{A}^i(X_P) = f_P(X_P)\bar{c}_P^i - \bar{\delta}_P^i(X_P) \quad (4a)$$

$$\tilde{A}^i(X_Q) = A^i(X_Q) - \bar{A}^i(X_Q) = f_Q(X_Q)\bar{c}_Q^i - \bar{\delta}_Q^i(X_Q) \quad (4b)$$

其中 $\bar{A}^i(x)$ 为上述 n 张一维光谱的平均光谱:

$$\begin{aligned} \bar{c}_P^i &= c_P^i - \bar{A}^i(X_P) \\ \bar{c}_Q^i &= c_Q^i - \bar{A}^i(X_Q) \\ \bar{\delta}_P^i(X_P) &= \delta_P^i(X_P) - \bar{A}^i(X_P) \\ \bar{\delta}_Q^i(X_Q) &= \delta_Q^i(X_Q) - \bar{A}^i(X_Q) \end{aligned} \quad (5)$$

用动态光谱根据式(1)构建的二维同步相关谱为

$$\begin{aligned} \Phi(X_P, X_Q) &= \sum_{i=1}^n \tilde{A}^i(X_P) \cdot \tilde{A}^i(X_Q) \\ &= \Phi_1(X_P, X_Q) + \Phi_2(X_P, X_Q) \end{aligned} \quad (6)$$

其中

$$\begin{aligned} \Phi_1(X_P, X_Q) &= \sum_{i=1}^n \bar{c}_P^i f_P(X_P) \bar{\delta}_Q^i(X_Q) + \bar{c}_Q^i \bar{\delta}_P^i(X_P) f_Q(X_Q) \\ &\quad - \bar{\delta}_P^i(X_P) \cdot \bar{\delta}_Q^i(X_Q) \end{aligned} \quad (7a)$$

$$\Phi_2(X_P, X_Q) = f_P(X_P) f_Q(X_Q) \sum_{i=1}^n \bar{c}_P^i \cdot \bar{c}_Q^i \quad (7b)$$

可以看到, $\Phi_1(X_P, X_Q)$ 因含 δ 项, 确实与P、Q分子间相互作用有关, 但 $\Phi_2(X_P, X_Q)$ 不含 δ 项, 与P、Q分子间相互作用无关。

当P、Q间不存在分子间相互作用时, 二维同步相关谱如实反映分子间相互作用的依据为: $\Phi(X_P, X_Q)=0$ 。 δ 项与P、Q间的相互作用有关, P、Q间不存在分子间相互作用, 所有的 δ 项皆为0, 因此 $\Phi_1(X_P, X_Q)=0$ 。这就要求 $\Phi_2(X_P, X_Q)$ 为0。从式(7b)看出, $\Phi_2(X_P, X_Q)$ 只与P、Q的起始浓度相关, 为使同步谱交叉峰能正确反映两物质间的相互作用, 需要在P、Q起始浓度的设计上加以约束, 以保证 $\Phi_2(X_P, X_Q)=0$ 。

可以看到, 式(7b)可以表达为两个向量的点乘:

$$\begin{aligned} \Phi_2(X_P, X_Q) &= f_P(X_P) f_Q(X_Q) \sum_{i=1}^n \bar{c}_P^i \cdot \bar{c}_Q^i \\ &= \bar{\mathbf{c}}_P \cdot \bar{\mathbf{c}}_Q f_P(X_P) f_Q(X_Q) \end{aligned} \quad (8)$$

其中

$$\begin{aligned} \bar{\mathbf{c}}_P &= \{\bar{c}_P^1, \bar{c}_P^2, \dots, \bar{c}_P^i, \dots, \bar{c}_P^n\} \\ \bar{\mathbf{c}}_Q &= \{\bar{c}_Q^1, \bar{c}_Q^2, \dots, \bar{c}_Q^i, \dots, \bar{c}_Q^n\} \end{aligned} \quad (9)$$

若要使 Φ_2 为0, 一个有效方法是使 $\bar{\mathbf{c}}_P$ 和 $\bar{\mathbf{c}}_Q$ 相互

正交。

满足 $\bar{\mathbf{c}}_P$ 和 $\bar{\mathbf{c}}_Q$ 相互正交的P、Q浓度序列并不难找。例如, 用4个含P、Q溶液的一维光谱构建二维同步相关谱。如果4个溶液中P、Q的初始浓度如表1所示, 则相应的动态浓度满足相互正交。

根据上述分析, 可按特殊设计的浓度序列(表1)配制含P、Q的系列溶液, 并用此系列溶液的一维光谱构建同步谱。如果P、Q间不存在分子间相互作用, 则在同步谱(X_P, X_Q)处将不会出现交叉峰。在本课题组前期工作中, 对一个含P、Q两种溶质的模型体系进行了计算机模拟。如果P、Q的初始浓度随意设置, 则在P、Q间不存在分子间相互作用条件下, 在相应的二维同步相关谱(X_P, X_Q)处仍能观察到很强的交叉峰, 此时的同步谱不能可靠地反映P、Q间相互作用。如果P、Q的初始动态浓度向量相互正交, 则当P、Q间不存在分子间相互作用时, 同步谱(X_P, X_Q)处无交叉峰; 当P、Q间存在分子间相互作用时, 同步谱在(X_P, X_Q)处出现交叉峰。在此情况下, 同步谱在(X_P, X_Q)处是否出现交叉峰能可靠地反映P、Q间是否存在分子间相互作用。这种通过设计两溶质的溶度序列, 使两溶质的动态浓度向量相互正交, 并使用相应溶液的一维光谱构建二维同步相关谱的方法称为正交样品设计。

在此工作的基础上, 本课题组^[29]把OSD方法运用到真实体系, 以检验OSD方法是否真能可靠反映溶液中不同溶质的分子间相互作用。研究的第一个实例是水溶液中 Nd^{3+} 、 Pr^{3+} 间是否存在分子间相互作用。使用紫外-可见光谱观测 Nd^{3+} 、 Pr^{3+} 的f-f跃迁谱峰, 可以看到 Nd^{3+} 在352、520、573 nm有特征吸收, Pr^{3+} 在

表 1 含有P和Q的4份溶液中P及Q的初始浓度。P和Q的动态浓度向量相互正交

Table 1 An example of four solutions containing solutes P and Q. Both the initial concentrations of P and Q are listed. The resultant dynamic concentrations of P and Q form a pair of vectors that are orthogonal to each other

溶液分组	起始浓度		动态浓度	
	C_P	C_Q	$\bar{c}_P$	$\bar{c}_Q$
1	5	6	1	0
2	4	7	0	1
3	3	6	-1	0
4	4	5	0	-1

442、467、480和588 nm有特征吸收. 按照“正交样品设计”的原则设定 Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 的起始浓度, 配制相应的4种混合溶液, 可在同步谱上看到 Nd^{3+} 的自峰((352 nm, 352 nm)、(520 nm, 520 nm)和(573 nm, 573 nm)), Pr^{3+} 的自峰((442 nm, 442 nm)、(467 nm, 467 nm)、(480 nm, 480 nm)), Nd^{3+} 的自相关交叉峰(如(352 nm, 573 nm)、(520 nm, 573 nm)), Pr^{3+} 的自相关交叉峰((442 nm, 467 nm)和(442 nm, 480 nm)), 但 Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 之间的交叉峰却无法观察到(在(352 nm, 442 nm)、(520 nm, 442 nm)、(573 nm, 442 nm)等处仅有噪声产生的干扰而没有交叉峰). 上述结果表明, Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 之间无相互作用. 由于下述几点原因, 可以推断 Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 之间无相互作用: (1) Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 都带正电荷, 同号电荷间的静电排斥使 Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 难以相互靠近而发生相互作用. (2) 在配制的含 Nd^{3+} 和 Pr^{3+} 的溶液中, 金属离子的总浓度在0.1 M左右, 如金属离子在溶液中均匀分布, 则金属离子之间的距离在25 Å, 这远大于金属离子直径的10倍以上. 在此距离上, 离子间的相互作用基本可以忽略^[29].

研究的第二个实例是乙醇溶液中 Pr^{3+} 与丁酮的羰基之间是否存在分子间相互作用^[30]. 采用紫外-可见光谱中446、470和483 nm处的 Pr^{3+} 的f-f跃迁峰作为 Pr^{3+} 的特征峰, 红外光谱在1709 cm^{-1} 附近的C=O伸缩振动峰作为丁酮的特征峰. 使用OSD方法构建紫外-可见光谱/红外光谱杂化的同步谱(图S1, 网络版补充材料). 在原始的一维紫外-可见光谱或红外光谱上, Pr^{3+} 与丁酮混合并不能给两种物质的特征峰带来可观测到的谱峰变化. 但在相应的二维同步相关谱上, 可以看到在(1709 cm^{-1} , 446 nm)、(1709 cm^{-1} , 470 nm)、(1709 cm^{-1} , 483 nm)附近的弱交叉峰, 这一结果说明, Pr^{3+} 与丁酮的羰基之间存在弱的相互作用.

在讨论不同溶质间的相互作用时, 首先需要搞清楚溶质与溶剂的相互作用与溶质间相互作用的关系. 首先, 溶质-溶剂间相互作用是一定存在的, 否则溶质无法溶解. 在溶液中, 每个溶质分子周围都形成一个由溶剂分子组成的溶剂化层. 可以认为, 溶质分子和周围的溶剂化层打包在一起构成一个溶质-溶剂复合体. 遵从Beer-Lambert定律的不是溶质的光谱, 而是溶质-溶剂复合体的光谱. 如果在一个溶液中两种溶质-溶剂复合体共存, 两种溶质-溶剂复合体的完整性皆得以保持, 在相应的混合溶液的光谱中, 可观察到两种溶质

的特征峰都遵从Beer-Lambert定律. 在这种条件下, 可以说两种溶质间不存在相互作用. 如两种溶质共存时, 由于相互之间的影响, 造成溶质-溶剂复合体的完整性被破坏, 在相应光谱上就会出现对Beer-Lambert定律的偏离, 而基于OSD的同步谱会把这种偏离以交叉峰的形式展现出来, 这就是OSD方法能在强溶质-溶剂作用的背景下表征溶质间相互作用的原因.

除上述工作外, 本课题组亦围绕OSD方法开展了一些工作^[31~33].

当今功能各异的二维、三维及高维核磁共振技术已被成功开发出来并得到广泛应用, 实现这一点的关键是通过合理设计脉冲序列, 把与人们所关心的物理化学现象无关的信号消除掉, 从而使反映分子结构特征的信号以交叉峰的形式表现出来. 对二维相关谱而言, 可通过合理设计浓度序列, 人为制造正交向量, 并通过正交向量点乘的形式消除二维相关光谱中与分子间相互作用无关的成分, 使二维相关谱成为研究分子间相互作用的有效手段. 沿着这个思路, 在OSD方法的基础上, 本课题组开发出系列研究表征溶于同一溶液中两种溶质间相互作用的新方法.

2.2 异步正交样品设计

上述OSD方法存在一个限制, 即P、Q的特征峰不能相互重叠, 可通过一个改进的模型体系加以说明. 在此模型中, 通过P、Q间的相互作用, 部分P发生结构微调变为U, 部分Q变为V, 这种变化可用下面的化学平衡式描述.

由于P和U的结构非常相似, 二者的特征吸收峰高度重叠, 与之类似, Q和V的特征吸收峰也高度重叠, 当P与Q的特征吸收峰也发生重叠时, 则P、Q、U、V的吸收峰会重叠在一起. 因此, 任意含P、Q的第*i*个溶液在*x*处的吸光度为

$$A^i(x) = c_{\text{P}}^{i(\text{eq})}f_{\text{P}}(x) + c_{\text{Q}}^{i(\text{eq})}f_{\text{Q}}(x) + c_{\text{U}}^{i(\text{eq})}f_{\text{U}}(x) + c_{\text{V}}^{i(\text{eq})}f_{\text{V}}(x) \quad (11)$$

其中 $c_{\text{P}}^{i(\text{eq})}$, $c_{\text{Q}}^{i(\text{eq})}$, $c_{\text{U}}^{i(\text{eq})}$, $c_{\text{V}}^{i(\text{eq})}$ 为第*i*个溶液中P、Q、U、V的平衡浓度.

根据物料平衡, 有

$$\begin{aligned} c_P^{i(\text{eq})} &= c_P^{i(\text{init})} - c_U^{i(\text{eq})} \\ c_Q^{i(\text{eq})} &= c_Q^{i(\text{init})} - c_V^{i(\text{eq})} \end{aligned} \quad (12)$$

故式(11)可表达为

$$\begin{aligned} A^i(x) &= c_P^{i(\text{init})} f_P(x) + c_Q^{i(\text{init})} f_Q(x) + c_U^{i(\text{eq})} (f_U(x) \\ &\quad - f_P(x)) + c_V^{i(\text{eq})} (f_V(x) - f_Q(x)) \end{aligned} \quad (13)$$

将样品光谱转变为动态光谱,

$$\begin{aligned} \tilde{A}^i(x) &= \tilde{c}_P^{i(\text{init})} f_P(x) + \tilde{c}_Q^{i(\text{init})} f_Q(x) + \tilde{c}_U^{i(\text{eq})} (f_U(x) \\ &\quad - f_P(x)) + \tilde{c}_V^{i(\text{eq})} (f_V(x) - f_Q(x)) \end{aligned} \quad (14)$$

再构建二维同步相关谱

$$\Phi(x, y) = \sum_{i=1}^{16} \Phi_i(x, y) \quad (15)$$

其中

$$\begin{aligned} \Phi_1(x, y) &= \tilde{c}_P^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_P^{\text{init}} f_P(x) f_P(y) \\ \Phi_2(x, y) &= \tilde{c}_Q^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_Q^{\text{init}} f_Q(x) f_Q(y) \\ \Phi_3(x, y) &= \tilde{c}_P^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_Q^{\text{init}} f_P(x) f_Q(y) \\ \Phi_4(x, y) &= \tilde{c}_Q^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_P^{\text{init}} f_Q(x) f_P(y) \\ \Phi_5(x, y) &= \tilde{c}_P^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_U^{\text{eq}} f_P(x) (f_U(y) - f_P(y)) \\ \Phi_6(x, y) &= \tilde{c}_P^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_V^{\text{eq}} f_P(x) (f_V(y) - f_Q(y)) \\ \Phi_7(x, y) &= \tilde{c}_Q^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_U^{\text{eq}} f_Q(x) (f_U(y) - f_P(y)) \\ \Phi_8(x, y) &= \tilde{c}_Q^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_V^{\text{eq}} f_Q(x) (f_V(y) - f_Q(y)) \\ \Phi_9(x, y) &= \tilde{c}_P^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_U^{\text{eq}} (f_U(x) - f_P(x)) f_P(y) \\ \Phi_{10}(x, y) &= \tilde{c}_Q^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_U^{\text{eq}} (f_U(x) - f_P(x)) f_Q(y) \\ \Phi_{11}(x, y) &= \tilde{c}_P^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_V^{\text{eq}} (f_V(x) - f_Q(x)) f_P(y) \\ \Phi_{12}(x, y) &= \tilde{c}_Q^{\text{init}} \cdot \tilde{c}_V^{\text{eq}} (f_V(x) - f_Q(x)) f_Q(y) \\ \Phi_{13}(x, y) &= \tilde{c}_U^{\text{eq}} \cdot \tilde{c}_U^{\text{eq}} (f_U(x) - f_P(x)) (f_U(y) - f_P(y)) \\ \Phi_{14}(x, y) &= \tilde{c}_V^{\text{eq}} \cdot \tilde{c}_V^{\text{eq}} (f_V(x) - f_Q(x)) (f_V(y) - f_Q(y)) \\ \Phi_{15}(x, y) &= \tilde{c}_V^{\text{eq}} \cdot \tilde{c}_U^{\text{eq}} (f_V(x) - f_Q(x)) (f_U(y) - f_P(y)) \\ \Phi_{16}(x, y) &= \tilde{c}_U^{\text{eq}} \cdot \tilde{c}_V^{\text{eq}} (f_U(x) - f_P(x)) (f_V(y) - f_Q(y)) \end{aligned} \quad (16)$$

当P、Q间不存在相互作用时, U、V将不存在, 因此从 $\Phi_5(X_P, X_Q)$ 到 $\Phi_{16}(X_P, X_Q)$ 的值皆为0. 为使二维同步相关谱正常反映P、Q间的相互作用, 则应满足 $\Phi(X_P, X_Q)=0$, 这就要求 $\Phi_1(X_P, X_Q)$ 、 $\Phi_2(X_P, X_Q)$ 、 $\Phi_3(X_P, X_Q)$ 、 $\Phi_4(X_P, X_Q)$ 的和为0. 由于 $\Phi_1(X_P, X_Q)$ 和 $\Phi_2(X_P, X_Q)$ 都是平方项, 不可能是负数, 这使 $\Phi_1(X_P, X_Q)$ 、 $\Phi_2(X_P, X_Q)$ 、 $\Phi_3(X_P, X_Q)$ 、 $\Phi_4(X_P, X_Q)$ 的和为0的浓度序列在实

际工作中极难找到, 这就是为什么P、Q在 X_P 、 X_Q 处的特征峰发生光谱重叠时, 同步谱在 (X_P, X_Q) 附近的交叉峰难以正确反映P、Q间是否存在分子间相互作用.

使用二维异步相关谱在 (X_P, X_Q) 附近的交叉峰判断P、Q间是否存在相互作用. 在构建异步谱时, 将如式(14)所示的动态光谱代入式(1b), 得到的异步谱也是由16项组成:

$$\Psi(x, y) = \sum_{i=1}^{16} \Psi_i(x, y) \quad (17)$$

其中,

$$\begin{aligned} \Psi_1(x, y) &= (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_P^{\text{init}} f_P(x) f_P(y) \\ \Psi_2(x, y) &= (\tilde{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_Q^{\text{init}} f_Q(x) f_Q(y) \\ \Psi_3(x, y) &= (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_Q^{\text{init}} f_P(x) f_Q(y) \\ \Psi_4(x, y) &= f_Q(x) f_P(y) (\tilde{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_P^{\text{init}} \\ \Psi_5(x, y) &= f_P(x) (f_U(y) - f_P(y)) (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_U^{\text{eq}} \\ \Psi_6(x, y) &= f_P(x) (f_V(y) - f_Q(y)) (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_V^{\text{eq}} \\ \Psi_7(x, y) &= f_Q(x) (f_U(y) - f_P(y)) (\tilde{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_U^{\text{eq}} \\ \Psi_8(x, y) &= f_Q(x) (f_V(y) - f_Q(y)) (\tilde{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_V^{\text{eq}} \\ \Psi_9(x, y) &= (f_U(x) - f_P(x)) f_P(y) (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_U^{\text{eq}} \\ \Psi_{10}(x, y) &= (f_U(x) - f_P(x)) f_Q(y) (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_U^{\text{eq}} \\ \Psi_{11}(x, y) &= (f_V(x) - f_Q(x)) f_P(y) (\tilde{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_V^{\text{eq}} \\ \Psi_{12}(x, y) &= (f_V(x) - f_Q(x)) f_Q(y) (\tilde{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_V^{\text{eq}} \\ \Psi_{13}(x, y) &= (f_U(x) - f_P(x)) (f_U(y) - f_P(y)) (\tilde{c}_U^{\text{eq}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_U^{\text{eq}} \\ \Psi_{14}(x, y) &= (f_V(x) - f_Q(x)) (f_V(y) - f_Q(y)) (\tilde{c}_V^{\text{eq}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_V^{\text{eq}} \\ \Psi_{15}(x, y) &= (f_V(x) - f_Q(x)) (f_U(y) - f_P(y)) (\tilde{c}_V^{\text{eq}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_U^{\text{eq}} \\ \Psi_{16}(x, y) &= (f_U(x) - f_P(x)) (f_V(y) - f_Q(y)) (\tilde{c}_U^{\text{eq}})^T \mathbf{N} \tilde{c}_V^{\text{eq}} \end{aligned} \quad (18)$$

当P、Q间不存在相互作用时, U、V不存在, 因此从 $\Psi_5(x, y)$ 到 $\Psi_{16}(x, y)$ 的值皆为0. 另外, 为使二维异步相关谱正确地反映分子间相互作用, 同样需要满足 $\Psi(X_P, X_Q)=0$, 这就要求 $\Psi_1(X_P, X_Q)$ 、 $\Psi_2(X_P, X_Q)$ 、 $\Psi_3(X_P, X_Q)$ 、 $\Psi_4(X_P, X_Q)$ 的和为0.

Hilbert-Noda矩阵具有下述两个数学性质, 如 $\mathbf{N}$ 是 n 阶Hilbert-Noda矩阵, $\mathbf{a}$ 和 $\mathbf{b}$ 是任意 n 维向量, 则式(19a)和式(19b)恒成立^[7]:

$$\mathbf{a}^T \mathbf{N} \mathbf{a} \equiv 0 \quad (19a)$$

$$\mathbf{a}^T \mathbf{N} \mathbf{b} \equiv -\mathbf{b}^T \mathbf{N} \mathbf{a} \quad (19b)$$

式(19a)称为Hilbert-Noda矩阵的自正交性, 这一性质在后文中多有应用.

根据式(19a), 有 $\Psi_1(x, y)=0$ 、 $\Psi_2(x, y)=0$, 因此 $\Psi_1(X_P, X_Q)=0$ 、 $\Psi_2(X_P, X_Q)=0$.

根据式(19b), 有

$$\begin{aligned}\Psi_4(x, y) &= f_Q(x)f_P(y)(\mathbf{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_P^{\text{init}} \\ &= -f_Q(x)f_P(y)(\mathbf{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}}\end{aligned}\quad (20)$$

故 $\Psi_3(x, y)$ 、 $\Psi_4(x, y)$ 可合并为一项, 从而

$$\sum_{i=1}^4 \Psi_i(x, y) = (\mathbf{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}} (f_P(x)f_Q(y) - f_Q(x)f_P(y)) \quad (21)$$

无论 $f_P(X_P)$ 、 $f_Q(X_Q)$ 取何值, 要使 $\sum_{i=1}^4 \Psi_i(X_P, X_Q)$ 为0, 需要选择合适的P、Q浓度序列, 使得式(22)成立.

$$(\mathbf{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}} = 0 \quad (22)$$

满足式(22)的P、Q浓度序列有很多种, 其中比较方便使用的浓度序列是P、Q的初始浓度保持线性关系, 即: 配制 n 个含P、Q的溶液, 其中第 i 个溶液中P和Q的初始浓度分别为 $c_P^{i(\text{init})}$ 和 $c_Q^{i(\text{init})}$, 且满足

$$rc_P^{i(\text{init})} + sc_Q^{i(\text{init})} = t \quad (23)$$

其中 r 、 s 、 t 为常数($r \neq 0$ 、 $s \neq 0$), 此时该浓度序列产生的动态浓度自然满足式(22).

证明: 如式(23)成立, 我们有

$$c_P^{i(\text{init})} = \frac{t}{r} - \frac{s}{r} c_Q^{i(\text{init})} \quad (24)$$

扣除平均后, P、Q的动态浓度的关系如下:

$$\mathbf{c}_P^{i(\text{init})} = -\frac{s}{r} \mathbf{c}_Q^{i(\text{init})} \quad (25)$$

因此

$$(\mathbf{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}} = -\frac{s}{r} (\mathbf{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}} \quad (26)$$

由于Hilbert-Noda矩阵的自正交性(式(19a)), $(\mathbf{c}_Q^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}}$ 为0, 故 $(\mathbf{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}}$ 为0. 这就是为什么当P、Q的初始浓度满足线性关系时, 式(22)成立. 满足式(23)的P、Q初始浓度的系列溶液的一维光谱构建异步谱的方法称为异步正交样品设计(asynchronous orthogonal sample design, AOSD)法. 通过计算机模拟证实, 当P、Q间不存在相互作用时, 异步谱在 (X_P, X_Q) 附近不

存在交叉峰. 当P、Q间存在相互作用时, 异步谱在 (X_P, X_Q) 附近可观测到交叉峰.

为了证实上述方法能应用于实际体系, 使用该方法研究了溶于四氯化碳中的丁酮的羰基和 N,N -二甲基甲酰胺(DMF)的酰胺基团间的相互作用. 在红外光谱中, 丁酮的羰基 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振峰和DMF的酰胺I带之间存在光谱重叠, 在此困难的情况下, 通过使用AOSD方法, 在异步谱上成功观测到反映丁酮的羰基和DMF的酰胺基团间相互作用的交叉峰^[34].

2.3 双正交样品设计方法

OSD和AOSD方法的结果说明, 二维相关谱的交叉峰可以可靠地反映溶于同一溶液中的两种溶质间是否存在分子间相互作用. 在OSD方法中, $\Phi(x, y)$ 可分为两个部分, 一部分与P、Q间相互作用有关, 另一部分则与二者间相互作用无关. 通过设计P、Q的浓度序列, 以正交向量点乘的方式消除 $\Phi(x, y)$ 中与分子间相互作用无关的部分, 从而使二维相关谱的交叉峰能可靠地反映分子间相互作用存在与否. 在AOSD中, 类似地, $\Psi(x, y)$ 可分为两个部分, 前者与P、Q间相互作用有关, 后者与P、Q间相互作用无关. 然后通过设计P、Q的浓度序列, 消除 $\Psi(x, y)$ 中与分子间相互作用无关的部分. 可以看到, 满足OSD的浓度序列与满足AOSD的浓度序列是不同的. 这就提出一个问题, 是否存在一个特殊的浓度序列, 使OSD条件和AOSD条件同时满足, 使得使用一套溶液的一维光谱可以同时构建出不受分子间相互作用无关信号干扰的同步谱和异步谱, 并利用两种相关谱的功能互补性深化认识P、Q分子间相互作用的物理化学本质. 通过数学分析, 同时满足OSD和AOSD条件的初始动态浓度序列可以通过求解下述联立方程得到

$$\mathbf{c}_P^{\text{init}} \cdot \mathbf{c}_Q^{\text{init}} = 0 \quad (27a)$$

$$(\mathbf{c}_P^{\text{init}})^T \mathbf{N} \mathbf{c}_Q^{\text{init}} = 0 \quad (27b)$$

另外, 向量和的各元素满足下述两个方程:

$$\sum_{i=1}^n \mathbf{c}_P^{i(\text{init})} = 0 \quad (27c)$$

$$\sum_{i=1}^n \mathbf{c}_Q^{i(\text{init})} = 0 \quad (27d)$$

当用3个以上溶液的光谱构建二维相关谱时, 待确

定P、Q初始动态浓度的个数(即方程中未知数的个数)在6以上, 而方程只有4个. 理论上讲, 方程的解一定存在. 通过计算, 可确定找到同时满足方程的解, 在找到P、Q初始动态浓度的基础上, 加上人为设定的P、Q平均浓度, 使各溶液中P、Q的初始浓度非负, 即可满足要求. 上述同时构建二维同步相关谱和异步相关谱的方法称为双正交样品设计(double orthogonal sample design, DOSD)法.

在用二维相关谱研究不同物质间相互作用时, 除了需要确定相互作用到底存在与否, 研究者更关心的是相互作用对相关分子产生了什么影响. 当用公式描述P、Q间相互作用时, 人们希望了解P与U、Q与V的特征峰有何差别. 由于分子间作用力不强, P到U、Q到V往往只能在光谱上产生非常细微的变化, 通常条件下P的特征峰与U的特征峰存在严重重叠, Q的特征峰与V的特征峰严重重叠. 分子间作用力不强的另一个后果是U和V的平衡浓度远远低于P、Q的平衡浓度. 这就造成U、V的特征峰被P、Q的特征峰遮盖而难以在原始的一维光谱上被直接观测到. 常用的光谱处理方法, 如二阶导数谱等方法在解析分子间弱相互作用形成的重叠谱带时往往是无效的. 本课题组^[31,34]在研究用OSD、AOSD方法构建的二维光谱时, 发现当P、Q间存在相互作用时, 二维相关谱在(X_P , X_Q)附近的交叉峰的花样有可能反映P与U、Q与V特征峰间的差异.

用DOSD方法研究交叉峰的花样与分子间相互作用造成谱峰变化之间的关系. 在光谱中, 各组分的特征峰可用高斯函数加以描述(式(28)):

$$f_j(x) = \varepsilon_j g_j(x) \quad (28a)$$

$$g_j(x) = e^{-\frac{(\ln 2)(x-X_j)^2}{W_j^2}} \quad (28b)$$

其中 j 为P、Q、U、V之一; ε_j 为 j 物质的峰强系数; W_j 为 j 物质特征峰的半高半宽, 简称峰宽; X_j 为 j 物质特征峰的峰位; $g_j(x)$ 为峰形函数, 仅与谱峰的峰位、峰宽有关, 与峰强系数无关. 定义

$$\begin{aligned} \Delta X_P &= X_U - X_P & \Delta X_Q &= X_V - X_Q \\ \Delta W_P &= W_U - W_P & \Delta W_Q &= W_V - W_Q \\ \Delta \varepsilon_P &= \varepsilon_U - \varepsilon_P & \Delta \varepsilon_Q &= \varepsilon_V - \varepsilon_Q \end{aligned} \quad (29)$$

当分子间相互作用仅造成 $\Delta X_P \neq 0$ 时, 在二维相关谱(X_P , X_Q)附近形成一对强度相等、符号相反的交叉

峰(图S2); 如果分子间相互作用仅造成 $\Delta W_P \neq 0$ 时, 在二维相关谱(X_P , X_Q)附近形成一对强度相等、符号相同的交叉峰(图S3); 如果分子间相互作用仅造成 $\Delta \varepsilon_P \neq 0$ 时, 在二维相关谱(X_P , X_Q)处形成一个独立的交叉峰(图S4). 因此, 有可能通过二维相关谱(X_P , X_Q)处交叉峰的花样识别分子间相互作用引起的峰位、峰宽、摩尔消光系数的变化. 需要指出的是, 当分子间相互作用引起的 ΔX_P 的值很小时, P和U的特征峰严重重叠, 即使使用二阶导数谱, 也无法从原始的一维光谱的组合峰中识别出P、U两种成分的存在. 在这种极端困难的情况下, 用DOSD方法构建出的二维相关谱在(X_P , X_Q)处交叉峰的特征花样可为识别谱峰峰位变化提供可靠的证据. 另外, 当分子间作用仅引起P、Q的峰宽或摩尔消光系数有所不同时, 理论上, 即使使用二阶导数谱, 也绝无可能从一维光谱的复合峰中识别出有两种不同的组分存在. 而在DOSD方法构建的二维相关谱中, P、U峰宽、摩尔消光系数的不同仍能通过特征交叉峰花样被有效地揭示出来. 以上结果表明DOSD方法充分体现了二维相关谱在增强光谱分辨率方面的优势.

需要指出的是, DOSD方法构建的二维相关谱在(X_P , X_Q)处交叉峰不仅能反映P与U特征峰的不同, 而且也与Q与V特征峰的差别有关. 如分子间相互作用同时使 $\Delta X_P \neq 0$ 和 $\Delta X_Q \neq 0$ 时, 在二维相关谱(X_P , X_Q)附近也产生一对倾斜的正负交叉峰, 从负峰尖到正峰尖做一向量, 此向量与二维相关谱横坐标轴夹角的正切与 $\Delta X_Q / \Delta X_P$ 有关. 如分子间相互作用同时使 $\Delta W_P \neq 0$ 、 $\Delta W_Q \neq 0$ 时, 在二维相关谱(X_P , X_Q)附近会产生十字型或环形山状的交叉峰. 如分子间相互作用同时使 $\Delta \varepsilon_P \neq 0$ 、 $\Delta \varepsilon_Q \neq 0$ 时, 在二维相关谱(X_P , X_Q)附近会产生单个交叉峰, 根据二维同步相关谱和二维异步相关谱(X_P , X_Q)附近交叉峰的正负号, 可以确定 $\Delta \varepsilon_P$ 、 $\Delta \varepsilon_Q$ 之一的正负号^[35].

综上所述, 通过DOSD方法构建的同步谱和异步谱交叉峰的花样, 可以在一定条件下, 帮助推断分子间相互作用是否使P、Q的特征峰的峰位、峰宽和摩尔消光系数发生变化. 这为深化认识分子间相互作用的物理化学本质创造了新的机会.

但是, 分子间相互作用可能导致P、Q的特征峰的峰位、峰宽、摩尔消光系数同时发生变化. 对 ΔX_P 、 ΔX_Q 、 ΔW_P 、 ΔW_Q 、 $\Delta \varepsilon_P$ 、 $\Delta \varepsilon_Q$ 这6个变量而言, 单单考

考虑每个变量大于0、等于0、小于0三种变化, 6个变量就对应 $3^6=729$ 种变化. 仅用DOSD方法生成的同步谱, 异步谱在 (X_p, X_Q) 附近交叉峰的花样来推引这729种变化是不可能的. 在很多情况下, 二维异步相关谱在 (X_p, X_Q) 附近交叉峰的花样极其复杂, 从而无法推断在分子间相互作用下, P、Q的特征峰到底发生了何种变化. 为了解决这一难题, 本课题组发展了DAOSD方法.

2.4 双异步正交样品设计方法

在使用双异步正交样品设计方法(double asynchronous orthogonal sample design, DAOSD)时, 需要配制两套溶液, 在第一套溶液中, P的初始浓度为常数, Q的初始浓度为任意值, 用这套溶液的一维光谱构建的异步谱称为P谱($\Psi_p(x, y)$); 在第二套溶液中, Q的初始浓度为常数, P的初始浓度为任意值, 用这套溶液的一维光谱构建的异步谱称为Q谱($\Psi_Q(x, y)$).

P谱和Q谱可用式(17)的16项加和表示. 由于Noda-Hilbert矩阵的自正交性(式(19a)), $\Psi_1(x, y)$ 、 $\Psi_2(x, y)$ 、 $\Psi_{13}(x, y)$ 、 $\Psi_{14}(x, y)$ 为0; 由于U、V的平衡浓度在每套溶液中保持恒定的比例关系, 故 $\Psi_{15}(x, y)$ 、 $\Psi_{16}(x, y)$ 亦为0. 在P谱中, P的初始浓度为常数, 故 $\mathbf{c}_p^{\text{init}}$ 是零向量, 从而 $\Psi_3(x, y)$ 、 $\Psi_4(x, y)$ 、 $\Psi_5(x, y)$ 、 $\Psi_6(x, y)$ 、 $\Psi_9(x, y)$ 、 $\Psi_{11}(x, y)$ 为0. 因此 $\Psi_p(x, y)$ 可简化为4项之和. 在Q谱中, Q的初始浓度为常数, 故 $\mathbf{c}_Q^{\text{init}}$ 是零向量, 这使 $\Psi_3(x, y)$ 、 $\Psi_4(x, y)$ 、 $\Psi_7(x, y)$ 、 $\Psi_8(x, y)$ 、 $\Psi_{10}(x, y)$ 、 $\Psi_{12}(x, y)$ 为0. 因此 $\Psi_Q(x, y)$ 可简化为4项之和.

当P的峰位在 X_p 处的特征峰与Q的峰位在 X_Q 处的特征峰不重叠, P谱和Q谱会被进一步简化(详细的数学分析请见前期工作^[36]). 得到的P谱和Q谱如图S5所示.

当P、Q存在分子间相互作用时, 在P谱中可观测到三组交叉峰, 一组在 (X_Q, X_Q) 附近, 另外两组分别在 (X_p, X_Q) 和 (X_Q, X_p) 附近, 在 (X_p, X_p) 周围没有交叉峰出现. 在Q谱中亦存在三组交叉峰, 一组在 (X_p, X_p) 附近, 另外两组分别在 (X_p, X_Q) 和 (X_Q, X_p) 附近, 在 (X_Q, X_Q) 周围无交叉峰.

P谱在 (X_Q, X_Q) 附近的交叉峰和Q谱在 (X_p, X_p) 附近的交叉峰的表达式最终可简化为

$$\Psi_p(x, y) = (\mathbf{c}_p^{\text{init}})^T \mathbf{N}(\mathbf{c}_V^{\text{eq}}) \varepsilon_Q \varepsilon_V \times [g_Q(x)g_V(y) - g_Q(y)g_V(x)] \quad (30a)$$

$$\Psi_Q(x, y) = (\mathbf{c}_p^{\text{init}})^T \mathbf{N}(\mathbf{c}_U^{\text{eq}}) \varepsilon_P \varepsilon_U \times [g_P(x)g_U(y) - g_P(y)g_U(x)] \quad (30b)$$

可以看出P谱在 (X_Q, X_Q) 附近的交叉峰的花样仅与P、U的特征峰的峰形函数的差异有关, 即仅与P、U的特征峰的峰位、峰宽差异有关. 与Q、V的特征峰无关. 另外, P、U特征峰的峰强系数仅影响交叉峰的强度, 不影响P谱在 (X_Q, X_Q) 附近的交叉峰的花样. 与之类似, Q谱在 (X_p, X_p) 附近的交叉峰的花样仅取决于Q、V的特征峰的峰位、峰宽差异.

对一个模型体系进行计算机模拟, 图S6给出Q谱在 (X_p, X_p) 附近的交叉峰花样与 ΔX_p (分 $\Delta X_p > 0$ 、 $\Delta X_p = 0$ 和 $\Delta X_p < 0$ 三种情况)和 ΔW_p (分 $\Delta W_p > 0$ 、 $\Delta W_p = 0$ 和 $\Delta W_p < 0$ 三种情况)间的关系. 交叉峰的形状可分为以下四类: (1) 当 $\Delta X_p = 0$ 且 $\Delta W_p = 0$ 时(P、U的峰位、峰宽相同), Q谱在 (X_p, X_p) 附近不出现交叉峰. (2) 当 $\Delta X_p \neq 0$ 且 $\Delta W_p = 0$ 时(P、U峰宽相同, 但峰位不同), 会出现一对关于对角线反对称的交叉峰. (3) 当 $\Delta X_p = 0$ 且 $\Delta W_p \neq 0$ 时(P、U峰位相同, 但峰宽不同), 会出现十字形交叉峰, 包含两个水平交叉峰和两个垂直交叉峰. 两个水平交叉峰关于 $x = X_p$ 对称, 两个垂直交叉峰关于 $y = X_p$ 对称, 水平交叉峰、垂直交叉峰的符号相反, 但绝对强度相同. (4) 当 $\Delta X_p \neq 0$ 且 $\Delta W_p \neq 0$ 时(即P、U的峰宽、峰位皆不同), Q谱在 (X_p, X_p) 附近出现形状如蝴蝶的4个交叉峰, 这4个交叉峰分布在对角线两侧, 对角线的左上端和右下端各有两个交叉峰, 这两种交叉峰符号相反, 绝对强度一大一小. 上述结果说明, 即使U与P严重重叠且U的含量远小于P, 在溶液的一维光谱中完全无法观测到U的踪迹的极端不利的情况下, 也可能根据Q谱在 (X_p, X_p) 附近交叉峰的花样“看图说话”判断出U的峰位、峰宽相对于P发生了何种变化.

再考虑P谱、Q谱在 (X_p, X_Q) 和 (X_Q, X_p) 附近的交叉峰. 由于P谱、Q谱在 (X_p, X_Q) 附近的交叉峰与在 (X_Q, X_p) 附近的交叉峰关于对角线反对称分布, 这里只讨论P谱在 (X_p, X_Q) 附近、Q谱在 (X_Q, X_p) 附近的交叉峰.

P谱在 (X_p, X_Q) 附近的交叉峰和Q谱在 (X_Q, X_p) 附近的交叉峰皆由两部分组成:

$$\Psi_p(x, y) = \alpha_p(x, y) + \beta_p(x, y) \quad (31a)$$

$$\Psi_Q(x, y) = \alpha_Q(x, y) + \beta_Q(x, y) \quad (31b)$$

其中,

$$\alpha_P(x, y) = (\mathbf{c}_U^{\text{init}})^T \mathbf{N}(\mathbf{c}_Q^{\text{eq}}) \varepsilon_U (g_U(x) - g_P(x)) f_Q(y) \quad (32a)$$

$$\beta_P(x, y) = (\mathbf{c}_U^{\text{init}})^T \mathbf{N}(\mathbf{c}_Q^{\text{eq}}) (\varepsilon_U - \varepsilon_P) g_P(x) f_Q(y) \quad (32b)$$

$$\alpha_Q(x, y) = (\mathbf{c}_V^{\text{init}})^T \mathbf{N}(\mathbf{c}_P^{\text{eq}}) \varepsilon_V (g_V(x) - g_Q(x)) f_P(y) \quad (32c)$$

$$\beta_Q(x, y) = (\mathbf{c}_V^{\text{init}})^T \mathbf{N}(\mathbf{c}_P^{\text{eq}}) (\varepsilon_V - \varepsilon_Q) g_Q(x) f_P(y) \quad (32d)$$

从式(31)、(32)可看到, P谱在 (X_P, X_Q) 附近的交叉峰的花样仅与P和U的谱峰差异有关, Q谱在 (X_Q, X_P) 附近的交叉峰的花样仅与Q和V的谱峰差异有关. 作为对比, 在用OSD、AOSD、DOSD等方法构建的二维相关谱中, (X_P, X_Q) 附近的交叉峰的花样不仅与P和U的谱峰差异有关, 而且也与Q和V的谱峰差异有关. 当U、V的特征峰相对于P、Q发生复杂的变化时, (X_P, X_Q) 附近的交叉峰的花样会变得极复杂, 难以从中推断分子间相互作用到底使谱峰发生了何种变化. 而DAOSD方法把上述变化分解到两张功能互补的异步谱上, 使分析得到极大的简化. 另外, 需要指出的是, P谱在 (X_P, X_Q) 附近的交叉峰的花样由两部分组成, 一部分与P和U特征峰的峰形差异(峰位、峰宽差)有关, 另一部分与P和U特征峰的峰强系数差异有关.

我们对一个模型体系进行计算机模拟, 图S7和S8

分别给出了 $\alpha_P(x, y)$ 和 $\beta_P(x, y)$ 的形状. $\alpha_P(x, y)$ 随P和U特征峰峰位、峰宽差异有9种变化, 这9种变化与图S6一一对应. $\beta_P(x, y)$ 随P和U特征峰的峰强系数的不同有三种变化: 当 $\Delta\varepsilon_P > 0$ 时, $\beta_P(x, y)$ 为峰位在 (X_P, X_Q) 的一个正单交叉峰; 当 $\Delta\varepsilon_P = 0$ 时, $\beta_P(x, y)$ 为0; 当 $\Delta\varepsilon_P < 0$ 时, $\beta_P(x, y)$ 为峰位在 (X_P, X_Q) 的一个负单交叉峰.

下面通过对一个模型体系的分析演示如何根据P谱和Q谱的上述性质, 以“看图说话”的方式推断分子间相互作用造成P、Q特征峰发生何种变化.

图2(a)给出该体系的一系列一维光谱, 分子间作用未在原始的一维光谱上产生可观测到的光谱变化. 图2(b)给出用AOSD方法构建的异步谱, 虽然在(100, 300)附近可以看到与分子间相互作用产生的交叉峰, 但由于交叉峰的花样过于复杂, 从中难以判断参与分子间相互作用的P、Q的特征峰发生了何种变化. 图2(c, d)分别给出用DAOSD方法构建的P谱和Q谱. 从中可以得到: (1) P谱在(300, 300)附近出现十字形交叉峰, 交叉峰的形状与图S6(d)相似, 故得到 $\Delta W_Q < 0$, $\Delta X_Q = 0$; (2) Q谱在(100, 100)附近出现蝴蝶状交叉峰, 交叉峰的形状与图S6(i)相似, 故得到 $\Delta W_P > 0$, $\Delta X_P > 0$; (3) 因为 $\Delta W_P > 0$, $\Delta X_P > 0$, 如果P与U的峰强系数相同, 则P谱在(100, 300)附近交叉峰形状(图2(c)的红色虚框

图2 通过DAOSD方法获得的一对异步谱中的交叉峰花样推断峰宽、峰位、吸光系数的变化 (网络版彩图)

Figure 2 Schematic diagram that shows how to deduce ΔX , ΔW and $\Delta\varepsilon$ from the pattern of cross peaks from a pair of 2D asynchronous spectra generated via the DAOSD approach (color online).

内) 应与图S7(I)相近. 为方便比较, 把图S7(I)复制到图2(e). 发现图2(c)的红色虚框内交叉峰与图2(e)相比, 在(100, 300)处多了一个负交叉峰(图2(g)), 根据图S8, 可知 $\Delta\epsilon_p < 0$; (4) 因为 $\Delta W_Q < 0$, $\Delta X_Q = 0$, 如果Q与V的峰强系数相同, 则Q谱在(300, 100)附近交叉峰形状(图2(d)的蓝色虚框内)应与图S7(d)相近. 为方便比较, 把图S7(d)复制到图2(f), 发现图2(d)的蓝色虚框内交叉峰与图2(f)相比在(300, 100)处多了一个正交叉峰(图2(h)), 根据图S8, 可知 $\Delta\epsilon_Q > 0$; 图2(i)给出了此模型体系预设的P、Q、U、V的峰位、峰宽和峰位系数. U相对于P、V相对于Q的峰参数变化与从DAOSD方法推断出的结果完全一致, 说明DAOSD是揭示分子间相互作用导致相应物质特征峰细微变化的有效手段.

为了拓展DAOSD方法的应用范围, 本课题组^[37]通过数学分析和计算机模拟, 证明如参与分子间相互作用的P、Q之一在两种状态间相互转换(如构象变化)并处于平衡时, DAOSD方法依旧有效.

本课题组^[38~44]运用DAOSD方法对多个体系进行了研究. 其中对乙腈-四甲基脲体系的研究得到了一些值得关注的结果^[38]. 在该体系中, 选用红外光谱中峰位在 1653 cm^{-1} 附近的C=O伸缩振动谱带作为四甲基脲特征峰; 选择峰位在 2254 和 2292 cm^{-1} 附近的谱带作为乙腈的特征峰, 前者可被指认为C≡N键的伸缩振动峰, 后者为乙腈的C—C伸缩和甲基变角振动的和频峰. 通过DAOSD方法产生的一对异步谱(分为乙腈谱和四甲基脲谱)中的交叉峰花样得知, 乙腈和四甲基脲偶极-偶极相互作用导致四甲基脲的C=O伸缩振动谱带发生红移, 但乙腈的峰位在 2253 和 2294 cm^{-1} 附近的特征峰在相互作用的影响下仅峰强系数发生了变化, 峰位、峰宽皆未发生变化. 进一步的研究发现, 在四甲基脲谱中, 不仅在(2254, 2254)和(2292, 2292)附近不出现交叉峰, 而且在(2254, 2292)及(2292, 2254)附近也没有出现交叉峰. 数学分析表明如果(2254, 2292)及(2292, 2254)附近不出现交叉峰, 不仅要求 2254 、 2292 cm^{-1} 处的谱峰在分子间作用影响下峰位、峰宽不发生变化, 而且其峰强系数变化亦需满足如下的特殊锁定关系:

$$\frac{\Delta\epsilon_{2254}}{\epsilon_{2254}} = \frac{\Delta\epsilon_{2292}}{\epsilon_{2292}} \quad (33)$$

其中 ϵ_{2254} 、 ϵ_{2292} 、 $\Delta\epsilon_{2254}$ 、 $\Delta\epsilon_{2292}$ 分别为峰位在

2254 、 2292 cm^{-1} 处的谱峰的峰强系数及在分子间作用影响下, 峰强系数发生的变化. 类似现象亦出现在乙腈-丁酮体系中^[39].

从峰位上看, 2292 cm^{-1} 处的谱峰是和频振动, 在正常的红外光谱, 峰强应该很弱. 实际上, 其强度与 2254 cm^{-1} 处在同一数量级, 造成这一现象的原因似乎是 2292 cm^{-1} 处的谱峰因费米共振效应被增强. 即 2254 、 2292 cm^{-1} 处的谱峰通过费米共振相联系. 在分子间作用的外来扰动下, 两个谱峰的峰强系数的变化连锁关系可能亦与费米共振有关. 进一步的研究工作正在进行中.

2.5 单探针DAOSD方法

上述的OSD、AOSD、DOSD和DAOSD方法, 都是采用双探针模式研究表征溶于同一溶液中的两种溶质(P和Q)间的相互作用. 即同时使用P在峰位为 X_P 的特征峰和Q在峰位为 X_Q 的特征峰, 然后用二维相关谱在(X_P , X_Q)附近的交叉峰表征P、Q间相互作用. 在应用工作的扩展中发现, 这种双探针模式在一定程度上限制了OSD及相关技术的应用范围, 表现在两点: (1) 许多物质, 如 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 F^- 等, 由于其电子结构为闭壳层, 在常规的光谱中没有吸收峰, 这给研究这类物质的体系中的分子间相互作用带来困难. (2) 正交样品设计及相关技术等方法成立的一个前提条件是, 溶剂不能在与P、Q的特征峰所对应的两个光谱波段中的任何一个有吸收. 溶剂峰的干扰无法通过正交的方式消除, 虽然光谱减法能从一维光谱中清除掉大部分溶剂的信号, 但残余的溶剂干扰信号仍会使OSD及相关技术中的正交失效, 在二维相关谱中产生假象^[45].

综上所述, 同时要求两种物质都有吸收峰或溶剂在两种物质的特征峰波段都没有干扰性吸收这两个条件使许多重要的体系难以用二维相关谱加以有效研究. 虽然为拓展应用范围, 本课题组^[46]亦尝试研究处于气态的两种物质的相互作用, 并取得很好的效果, 但这不能有效拓展OSD及相关技术在溶液体系中的应用.

随着对用DAOSD方法构建的异步谱的光谱行为的深化认识, 可以发现, P、Q间的相互作用不仅可以用(X_P , X_Q)附近的交叉峰加以表征, 还可以用(X_P , X_P)或(X_Q , X_Q)附近的交叉峰加以表征. 这就出现一种可能性, 如果P、Q中的一个, 不妨设为Q, 在可用的光谱区

段没有可用的特征吸收峰, P、Q间的相互作用仍可用异步谱在(X_P , X_P)附近的交叉峰加以表征. 这种方法称为单探针DAOSD方法(single-probe DAOSD, sp-DAOSD). sp-DAOSD方法在很大程度上拓宽了二维光谱在分子间相互作用研究方面的应用, 应用该方法本课题组开展了许多工作. sp-DAOSD方法首先用于研究苯甲酰胺和 Tb^{3+} 的相互作用模式. 把苯甲酰胺加入到含 Tb^{3+} 的乙醇溶液后, Tb^{3+} 在紫外灯下的发光会明显增强, 这一结果提示苯甲酰胺与 Tb^{3+} 间应存在络合配位作用. 从苯甲酰胺的分子结构上看, 只有酰胺基团上的氧原子有和 Tb^{3+} 发生络合配位的可能. 因此, 苯甲酰胺对 Tb^{3+} 发光增强是一个典型的金属离子与酰胺基团的络合配位问题. 围绕这一问题开展的前期工作表明, 在尼龙6等含酰胺基团的体系中, 稀土等金属离子的引入会使酰胺I带发生明显的红移^[47,48]. 但 Tb^{3+} 的引入并未使苯甲酰胺的酰胺I带发生可观测到的红移. 使用sp-DAOSD方法研究了苯甲酰胺/ Tb^{3+} 体系, 在异步谱上可观测到反映酰胺I带发生细微红移和峰宽变化的交叉峰^[45].

另一个有代表性的应用是用sp-DAOSD方法研究小檗碱与 β -环糊精间的相互作用^[49]. 近年来, 小檗碱在治疗癌症、糖尿病等重大疾病上表现出令人惊喜的作用而广受关注. 但小檗碱在水中溶解度不高, 一定程度上限制了其的治疗效果. 解决问题的一个办法是, 在小檗碱中加入辅料, 通过小檗碱与辅料的相互作用提高小檗碱的溶解度, 其中一种有效的辅料是 β -环糊精. 使用紫外-可见光谱对含小檗碱和 β -环糊精的水溶液进行了测试, 并用sp-DAOSD方法构建异步谱. 在紫外-可见波段, β -环糊精无吸收峰, 而小檗碱有吸收峰, 这是个典型的单探针体系. 小檗碱在200~370 nm范围内有数个强吸收峰, 但这些吸收峰是由多个重叠谱峰构成, 相应的异步谱交叉峰极复杂, 从中难以看出小檗碱的这些谱峰与 β -环糊精作用后发生何种变化. 但是小檗碱在420 nm处有一个吸收峰, 二阶导数谱证明该峰为单峰. 因此, 研究焦点就在异步谱在(420, 420)附近的交叉峰上(图S9的A、B、C、D交叉峰). 由于小檗碱的短波长吸收峰形成的交叉峰与峰位在420 nm谱峰产生的交叉峰发生重叠, 无法直接观测到小檗碱420 nm谱峰形成的交叉峰组的完整形状, 因此无法简单通过“看图说话”的方式推断与 β -环糊精的作用使420 nm谱峰发生何种变化. 即使在这种不利的情况下, 通过逐一排除

的方式, 可以最终确定420 nm谱峰发生了何种变化. 在图S9中, A、B交叉峰与来自低波数谱峰的E、F、G、H交叉峰重叠, 无法得到A、B交叉峰的准确形状和强度. 不过C、D交叉峰不与来自低波数谱峰的E、F、G、H交叉峰重叠, 可以得到C、D交叉峰的准确形状和强度, 这是进行分析的起点. 小檗碱与 β -环糊精的作用使其420 nm处的谱峰可能发生如图S6所示的9种变化. 对这9种情况的可能性进行讨论: (1) 在(420, 420)附近确实存在交叉峰, 可以排除 $\Delta X=0$ 且 $\Delta W=0$ 的可能; (2) 由于(420, 420)附近观察到4个交叉峰而不是2个交叉峰, 可排除 $\Delta W=0$ 且 $\Delta X>0$ 和 $\Delta W=0$ 且 $\Delta X<0$ 两种可能; (3) 如果相互作用仅引起峰宽变化, 但不引起峰位变化, 则C交叉峰的横坐标、D交叉峰的纵坐标应为420 nm, 实际上C交叉峰的横坐标、D交叉峰的纵坐标为423 nm, 故可排除 $\Delta X=0$ 且 $\Delta W>0$ 及 $\Delta X=0$ 且 $\Delta W<0$ 两种可能; (4) C交叉峰为正, D交叉峰为负, 可排除 $\Delta X<0$ 且 $\Delta W>0$ 及 $\Delta X>0$ 且 $\Delta W>0$ 两种可能; 至此, 只剩下两种情况: $\Delta X<0$ 且 $\Delta W<0$ 及 $\Delta X>0$ 且 $\Delta W<0$, 到底哪种情况为真取决于A交叉峰和D交叉峰的绝对强度谁大谁小. 正如前面所提, D交叉峰不与其他交叉峰重叠, 可准确读出强度; 但A交叉峰与E、F交叉峰重叠, 无法准确读出强度. 幸运的是, E、F为正交叉峰, 而A为负交叉峰, 正负交叉峰的重叠使A交叉峰的表观绝对强度小于真实的绝对强度. 即使这样, 从图中可以看到A交叉峰的表观绝对强度仍大于D交叉峰的绝对强度, 从而可以确定小檗碱与 β -环糊精的相互作用使420 nm谱峰发生红移且峰宽减小. 420 nm谱峰是小檗碱的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁谱峰, 该谱峰发生红移说明小檗碱周围的环境变得更加疏水了. 另外, 峰宽变窄说明小檗碱的运动受限. 这两点都印证了小檗碱进入了 β -环糊精的疏水孔道这一事实. sp-DAOSD方法亦用于研究不同的化学体系, 取得了良好的效果^[50~52].

2.6 使用辅助交叉峰的异步谱方法

使用sp-DAOSD方法时, 可以用(X_P , X_P)附近的交叉峰研究表征溶于同一溶液的P、Q两种溶质间的相互作用, 并从交叉峰的花样推引P在 X_P 处的特征峰在分子间相互作用下峰位、峰宽发生了何种变化. 这种方法的美中不足之处在于无法从交叉峰的花样确定特征峰的峰强系数发生何种变化. 正如前述讨论DAOSD的交叉峰的行为时指出的, X_P 处的特征峰的峰强系数的

变化需要从P谱在(X_p, X_Q)附近的交叉峰中得到. 当Q无可用的特征峰时, 不存在(X_p, X_Q)附近的交叉峰, 使得 X_p 处的特征峰的峰强系数的变化难以得到.

为解决这一问题, 本课题组^[53]发展出下述方法: 首先在构建二维光谱用的每一张一维光谱的长波长端或短波长端附加一个虚拟波段. 在虚拟波段波长为 X_S 处构建一个虚拟峰, 这个虚拟峰的强度正比于相应光谱对应的溶液中Q的浓度. 然后, 用包含虚拟波段的系列光谱构建异步谱. 在得到的异步谱中, 除(X_p, X_p)附近的交叉峰外, 在(X_p, X_S)和(X_S, X_p)出现两组与虚拟峰有关的辅助交叉峰. 可以证明, 当P与Q间不存在分子间相互作用时, (X_p, X_S)和(X_S, X_p)附近不出现交叉峰. 而且, 在(X_p, X_S)和(X_S, X_p)附近的辅助交叉峰的功能等效于用DAOSD方法构建的Q谱在(X_p, X_Q)附近的交叉峰. 也就是说, P、Q相互作用导致 X_p 处谱峰的峰强系数的变化可以从(X_p, X_S)和(X_S, X_p)附近的辅助交叉峰中得到. 这种借助辅助交叉峰研究 X_p 处谱峰的峰强系数的变化称为辅助交叉峰的异步谱(asynchronous spectrum with auxiliary peaks, ASAP)方法. 将ASAP方法应用于研究苯并15冠5与锂离子间络合配位作用, 发现锂离子与苯并15冠5的络合配位不仅使苯并15冠5的峰位在 1597 cm^{-1} 的苯环C=C伸缩振峰发生蓝移, 强度系数亦有增大^[53].

2.7 AOSD@Job方法

基于OSD及相关技术的二维相关光谱方法, 不仅能可靠判断溶于同一溶液的两种溶质间是否存在分子间相互作用, 而且根据交叉峰的花样推断分子间相互作用使相应分子的特征峰发生何种变化, 这为深入认识分子间相互作用的物理化学本质创造了条件. 在一些情况下, 不同物质可通过下述平衡反应形成超分子复合物:

测量式中的化学计量比(a/b)对于深化认识超分子复合物的组成、结构、生成机理而言是必要的. 测量化学计量比的方法有许多种, 其中Job方法是一个被广泛使用的方法. 当P、Q通过弱分子间相互作用形成超分子复合物时, 在含P、Q溶液的光谱中 P_aQ_b 的特征峰往往与P、Q的特征峰严重重叠, 这使传统的Job方法失效, 不能测出 a/b 的值. 在使用Job方法时, 需要配制

一系列含P、Q的溶液, 在这系列溶液中, P和Q的初始浓度之和为常数. 值得注意的是, 上述P、Q的初始浓度序列刚好满足AOSD的要求, 这为将基于AOSD的二维相关光谱方法引入到Job方法中提供了可能. 在此基础上, 借鉴在二维相关光谱领域中广泛使用的移动窗口的概念, 通过设计特定的P、Q浓度序列组, 构建系列异步谱, 从而发展出一种基于AOSD的Job方法(称为AOSD@Job方法), 该方法能在 P_aQ_b 的特征峰与P、Q的特征峰严重重叠的不利条件下仍有效测量 a/b 值. 将该方法应用于研究 β -环糊精-苯甲醇体系, 证实二者形成1:1包结复合物^[54].

2.8 用改进OSD方法估测分子间相互作用的反应模型(单一反应或多重反应)

在分子间相互作用下, 溶于同一溶液的两种溶质的相互作用可用式(10)所示的单一反应模型描述. 在此前提下, 可通过二维相关光谱的交叉峰的花样确定参与相互作用的特征峰发生何种变化, 并对反应的计量比进行估测. 但在某些体系中, 分子间相互作用需用式(35)所示的多重反应模型描述^[55].

在不确定体系中分子间相互作用的反应模型时, 用二维相关光谱对体系进行分析时可能发生错误. 因此, 发展有效方法区分两种溶质间相互作用是以单一反应还是以多重反应进行是非常必要的. 二维同步相关谱实际上是动态光谱的协方差矩阵, 有可能从其非零本征值数目确定溶质间相互作用是以单一反应还是以多重反应进行. 但任意选择浓度序列会导致光谱数据出现偶然共线性, 使得非零本征值数目意外降低. 本课题组在OSD方法的基础上, 发展出一套新浓度序列, 用这套浓度序列配制系列溶液的一维光谱构建的同步谱具有下述性质: (1) 同步谱的交叉峰能可靠反映溶于同一溶液中的二种溶质是否存在相互作用. (2) 由于采用特殊的浓度序列, 所得的同步谱可有效避免因偶然共线性的原因, 造成非零本征值下降问题. 故可通过非零本征值数目确定溶质间相互作用的反应模型.

3 用二维及高维相关谱解析色谱-光谱联用及类似实验产生的双线性数据

在分析化学领域,混合物的分析一直是重要挑战之一。色谱可以与其他谱学表征手段联用对混合物进行分析。首先通过色谱将混合物中的不同组分完全分开,再对分离出的各组分进行谱学测试,通过各组分的谱学特征,确定各组分为何物,在此基础上再进行定量分析。这类分析方法已被广泛地应用于化学、生物学、医学、环境保护、食品乃至药品工业中^[56-58]。另外,与色谱-光谱联用类似的实验方法如热重-质谱联用^[59]、热重-红外联用^[60]、核磁共振DOSY、时间分辨光谱等亦得到广泛应用。但在很多情况下,混合物中的成分即使通过色谱分离也不能将其与其他成分完全分开。因此,在后续对流出物进行谱学测试时,只能得到混合物而非纯物质的光谱/质谱,因而无法通过得到的光谱/质谱确定混合物中各组分为何物。

一种常见的解决方法是提高色谱的分离能力,包括对分离过程中色谱条件进行优化及发展多维色谱-色谱技术。对分离条件的优化可以在一定程度上提高色谱的分离能力,但在多组分混合物的分离过程中,寻找适合的分离条件是十分耗时耗力的工作;而多维色谱技术需要使用昂贵的仪器设备,其普适性受到限制。

另一类解决问题的办法是通过对色谱-光谱实验及类似的实验中产生的双线性数据进行数学解析,直接从数据中抽提各组分的纯物质光谱/质谱。其中得到广泛使用的是化学计量学方法,通过对色谱-波谱联用数据的数学后处理,还原各物质在色谱过程中对应的流出曲线及光谱信息,为混合物中各组分的定性定量提供支持^[61-63]。

以色谱-光谱联用实验为例,简述数据的解析和问题。上述实验得到的系列光谱可表示为双线性数据矩阵 $\mathbf{A}$,如式(36)所示:

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} A(t_1, v_1) & \cdots & A(t_1, v_j) & \cdots & A(t_1, v_q) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ A(t_i, v_1) & \cdots & A(t_i, v_j) & \cdots & A(t_i, v_q) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ A(t_p, v_1) & \cdots & A(t_p, v_j) & \cdots & A(t_p, v_q) \end{pmatrix} \quad (36)$$

矩阵 $\mathbf{A}$ 中元素 $A(t_i, \lambda_j)$ 对应于波长 λ_j 、逸出时间 t_i 点

的吸光度。如混合物中含有 M 种组分,其中组分 k 的纯物质的光谱为 $f_k(x)$,洗脱曲线为 $C_k(t)$,是物质 k 随逸出时间的浓度变化。矩阵 $\mathbf{A}$ 的各个矩阵元可表示为

$$A(t_i, v_j) = \sum_{k=1}^M C_k(t_i) f_k(v_j) \quad (37)$$

式(37)可用矩阵形式表示:

$$\mathbf{A} = \mathbf{F}\mathbf{C} \quad (38)$$

其中 $\mathbf{F}$ 是由各组分纯物质光谱或质谱所构成的矩阵, $\mathbf{C}$ 为各组分的逸出曲线所构成的矩阵。

$$\mathbf{F} = \begin{pmatrix} f_1(v_1) & \cdots & f_1(v_j) & \cdots & f_1(v_q) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ f_i(t_i, v_1) & \cdots & f_i(t_i, v_j) & \cdots & f_i(t_i, v_q) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ f_M(t_i, v_1) & \cdots & f_M(t_i, v_j) & \cdots & f_M(t_i, v_q) \end{pmatrix} \quad (39a)$$

$$\mathbf{C} = \begin{pmatrix} c_1(t_1) & \cdots & c_m(t_1) & \cdots & c_M(t_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ c_1(t_k) & \cdots & c_m(t_k) & \cdots & c_M(t_k) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ c_1(t_p) & \cdots & c_m(t_p) & \cdots & c_M(t_p) \end{pmatrix} \quad (39b)$$

也就是说,如通过数学方法,把从色谱实验中得到的双线性数据矩阵 $\mathbf{A}$ 分解为矩阵 $\mathbf{F}$ 和矩阵 $\mathbf{C}$,就可以得到各组分的纯物质的红外光谱或质谱。但是,式(38)所示的分解不是唯一的。对于每一对满足式(38)的 $\mathbf{F}$ 和 $\mathbf{C}$ 矩阵,我们有

$$\mathbf{A} = \mathbf{F}\mathbf{C} = \mathbf{F}\mathbf{K}\mathbf{K}^{-1}\mathbf{C} = (\mathbf{F}\mathbf{K})(\mathbf{K}^{-1}\mathbf{C}) = \mathbf{F}'\mathbf{C}' \quad (40)$$

其中

$$\begin{aligned} \mathbf{F}' &= \mathbf{F}\mathbf{K} \\ \mathbf{C}' &= \mathbf{K}^{-1}\mathbf{C} \end{aligned} \quad (41)$$

如 $\mathbf{F}$ 和 $\mathbf{C}$ 矩阵满足式(38),则 $\mathbf{F}'$ 和 $\mathbf{C}'$ 矩阵亦满足式(38),由于存在无数个 $\mathbf{K}$ 矩阵,因此 $\mathbf{A}$ 矩阵也存在无数种分解方式,这就是所谓的旋转不定性问题^[64]。当不同组分的洗脱曲线高度重叠时,旋转不定性问题会变得更为严重,使得难以从色谱-光谱实验得到的双线性数据中直接解出不同组分的纯物质谱。

许多研究者发展了各种方法,以减轻数据解析中的旋转不定性问题。例如,Tauler^[65]发展出多元曲线分辨策略(MCR),根据实验数据中的一些常识(如不同组分的洗脱曲线、光谱中不应出现负值等),在计算过程

中引入约束条件, 消除部分不合理的解, 从而在一定程度上缓解旋转不定性问题, 当不同组分的洗脱曲线重叠不严重时, 可以解出各组分的纯物质谱. 这类方法被广泛用于复杂体系信号的解析, 国内的许多学者, 如首都师范大学张卓勇课题组^[66,67]、南昌大学倪永年课题组^[68,69]将该方法应用于高光谱成像分辨、复杂生物样品中特征物识别等多领域研究. 但当不同组分的洗脱曲线严重重叠时, MCR方法采用的约束往往难以有效克制旋转不定性问题, 无法正确解出各纯组分谱.

二维相关光谱为解决上述问题提供了新的机会. 在开发和运用基于正交样品设计及相关技术的二维相关光谱研究溶于同一溶液中不同溶质的分子间相互作用时, 我们意识到, 可以用二维相关光谱解析通过色谱-光谱及类似实验产生的双线性数据. 最为重要的一点是, 可能通过正交揭示隐藏在双线性数据中内在的不变性. 而这些内在的不变性在很多情况下能有效克制双线性数据中的旋转不定性. 这样, 即使混合物不同组分的洗脱曲线严重重叠, 仍能通过二维相关光谱方法正确地由双线性数据中抽提出不同组分的纯物质光谱.

3.1 用二维异步谱解析含两种组分混合物的双线性数据

以一个色谱-光谱模型体系来说明如何用二维异步相关光谱解析实验产生的双线性数据(2D-asy方法). 某混合物样品含两种组分P、Q. P、Q的洗脱曲线如图3(a)所示. 由于两组分的洗脱曲线严重重叠, 无法从色谱-光谱实验中得到的双线性数据中直接得到P、Q的纯物质光谱(图3(b)), 甚至无法通过图3(b)确定各谱峰来自哪一种物质. 图3(c)是相应的二维异步相关谱. 作为对照, 在二维异步相关谱的上端和右端分别给出一张典型流出物的一维光谱.

在图3(c)中, 存在被称为系统缺峰(systematic absence of cross peak, SACP)的光谱现象. 在一维光谱中, 洗脱物的光谱在300~400 cm⁻¹之间存在一个吸收峰, 在700~800 cm⁻¹之间存在另一个吸收峰. 但在二维异步相关谱的二维光谱区间(300: 400)⊗(700: 800)中却不存在任何交叉峰. 系统缺峰由此定义如下: 考虑混合物一维光谱中的两个光谱区域 ω_1 及 ω_2 ($\omega_1=[\lambda_1, \lambda_2]$, $\omega_2=[\lambda_3, \lambda_4]$). 当满足以下两个条件时, 可认为在由混合物色谱-光谱数据构建的二维异步谱上的 $\omega_1 \otimes \omega_2$ 区域

出现了系统缺峰: (1) 对任意二维异步谱上的点 (x, y) , 当 $(x, y) \in \omega_1 \otimes \omega_2$ 时, $\Psi(x, y) \equiv 0$; (2) 在构建二维异步谱所使用的一维光谱中, 至少分别存在两张一维光谱 $A_i(x)$ 及 $A_j(x)$ 使得在光谱 $A_i(x)$ 的区域 ω_1 、光谱 $A_j(x)$ 的区域 ω_2 内存在吸收峰. 本课题组发现并从数学上证明了下述两个定理.

定理1: 在混合物样品中含有组分 j ($j \in \{1, 2, \dots, M\}$), 组分 j 在光谱上具有 l_j 个不与混合物中其他成分光谱相重合的峰(称为独立峰), 则在用样品的色谱-光谱实验产生的双线性数据构建的二维异步相关谱中出现 $l_j \times l_j$ 个系统缺峰, 这些系统缺峰会形成一个 $l_j \times l_j$ 形式的方阵.

定理1的证明如下:

组分 j 的 l_j 个独立峰分别对应 l_j 个光谱区域, 这 l_j 个光谱域记为 ω_k , $k \in \{1, 2, \dots, l_j\}$, 考虑其中任意两个区域 ω_α 及 ω_β ($\omega_\alpha, \omega_\beta \in \{\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_{l_j}\}$).

考虑二维异步相关谱上的点 $\Psi(x, y)$, 其中 $x \in \omega_\alpha$, $y \in \omega_\beta$.

由式(1b)及(40), $\Psi(x, y)$ 可表示为

$$\Psi(x, y) = \left(\sum_{k=1}^M \mathbf{C}_k(t) f_k(x) \right)^T \mathbf{N} \left(\sum_{k=1}^M \mathbf{C}_k(t) f_k(y) \right) \quad (42)$$

由于在光谱区域 ω_α 及 ω_β 内只有组分 j 有吸收峰, 因此

$$f_i(x) = \begin{cases} f_j(x) & i = j \\ 0 & i \neq j \end{cases} \quad (43a)$$

$$f_i(y) = \begin{cases} f_j(y) & i = j \\ 0 & i \neq j \end{cases} \quad (43b)$$

式(42)可被简化为

$$\Psi(x, y) = (f_j(x) \mathbf{C}_k(t))^T \mathbf{N} (f_j(y) \mathbf{C}_k(t)) \quad (44)$$

式(44)可被改写为

$$\Psi(x, y) = f_j(x) f_j(y) (\mathbf{C}_k(t))^T \mathbf{N} (\mathbf{C}_k(t)) \quad (45)$$

由于Hilbert-Noda矩阵的自正交性(式(19a)), 我们有

$$(\mathbf{C}_k(t))^T \mathbf{N} (\mathbf{C}_k(t)) \equiv 0 \quad (46)$$

即

$$\Psi(x, y) \equiv 0 \quad (47)$$

图 3 P/Q混合物色谱-光谱实验双线性数据解析. (a) P和Q的流出曲线严重重叠; (b) 混合物双线性数据. 由于P、Q流出曲线高度重叠, 所有谱图均对应混合物; (c) 由图3(b)双线性数据构建的二维异步谱. 存在两组 2×2 系统缺峰(分别以蓝色及红色方框表示); (d) 线1: 一张典型的含有P及Q流出液的光谱; 线2: P的预设光谱; 线3: 二维异步谱 $y=337 \text{ cm}^{-1}$ 处的截线, 形状与线2相同; 线4: Q的预设光谱; 线5: 二维异步谱 $y=135 \text{ cm}^{-1}$ 处的截线, 形状与线4相同(网络版彩图)

Figure 3 Analysis of bilinear data from chromatographic-spectroscopic experiments on a mixture containing P and Q. (a) The elution profiles of P and Q are still severely overlapped. (b) The corresponding bilinear data of mixture. Since the elution profiles of P and Q are highly overlapped and all the spectra of the eluted sample are spectra of the mixture. (c) 2D asynchronous spectrum generated from the bilinear data shown in Figure 3(b). Two groups of 2×2 SACPs (marked by blue and red rectangles) are observed. (d) Trace 1: typical spectrum of an eluted sample containing both P and Q; trace 2: preset spectrum of P; trace 3: slice across the 2D asynchronous spectrum at $y=337 \text{ cm}^{-1}$. The shape of trace 3 is the same as that of trace 2; trace 4: preset spectrum of Q; trace 5: slice across the 2D asynchronous spectrum at $y=135 \text{ cm}^{-1}$. The shape of trace 5 is the same as that of trace 4 (color online).

因此, 对任意二维谱区域 $\omega_a \otimes \omega_b$ ($\omega_a, \omega_b \in \{\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_U\}$), $\Psi(x, y)$ 恒等于零.

定理2: 假设一个包含两种物质A与B的混合物, 该混合物经过色谱后未完全分离. 在流出液的一维光谱中, y_A 是物质A独立峰的峰位, 则物质B的光谱可以通过在二维异步谱上 $y=y_A$ 处的截线得到($\Psi(x, y_A)$).

证明: 对此系统, 二维异步相关谱在 $y=y_A$ 处的截线可以表示为

$$\Psi(x, y_A) = (f_A(x)C_A(t) + f_B(x)C_B(t))^T \times N(f_A(y_A)C_A(t) + f_B(y_A)C_B(t)) \quad (48)$$

由于 y_A 是A的独立峰的峰位, B在该处无吸收, 即 $f_B(y_A) = 0$ (49)

故式(48)可简化为

$$\begin{aligned} \Psi(x, y_A) &= (f_A(x)C_A(t) + f_B(x)C_B(t))^T \\ &\quad \times N(f_A(y_A)C_A(t)) \\ &= f_A(x)f_A(y_A)(C_A(t)^T N C_A(t)) \\ &\quad + f_B(x)f_A(y_A)(C_B(t)^T N C_A(t)) \end{aligned} \quad (50)$$

根据Hilbert-Noda矩阵的自正交性(式(19a)), 式(50)可简化为

$$\Psi(x, y_A) = f_A(y_A)(C_B(t)^T N C_A(t))f_B(x) \quad (51)$$

由于 $f_A(y_A)(C_B(t)^T N C_A(t))$ 对 x 来说是常数, 有 $f_B(x) \propto \Psi(x, y_A)$, 即B的光谱可通过二维异步谱上 y_A 处的截线直接得到.

回到上述模型体系, 如上所述, 由于P、Q的洗脱曲线严重重叠, 无法直接判断洗脱液光谱上的四个谱

峰是属于哪个物质的. 图3(c)中的8个系统缺峰可分为两组, 每组系统缺峰构成一个 2×2 方阵(在图3(c)中分别用红色和蓝色矩型框标出). 根据定理1, 上述两组系统缺峰分别来源于两种不同的组分, 即峰位在 135 、 535 cm^{-1} 的谱峰来自一个组分, 峰位在 337 、 637 cm^{-1} 的谱峰来自另一个组分. 在此基础上, 根据定理2, 分别在 $y=135 \text{ cm}^{-1}$ 和 $y=337 \text{ cm}^{-1}$ 处跨二维异步相关谱做水平截线, 得到截线的形状与预设的P、Q纯物质光谱的形状完全相同(图3(d)).

上述结果说明, 虽然P、Q的洗脱曲线严重重叠, 利用基于系统缺峰的二维异步相关光谱法, 仍能有效地抽提出P、Q的纯物质谱. 使用基于系统缺峰的二维异步相关谱方法和MCR方法对该模型体系及其他含两种组分的模型体系进行了分析计算, 结果表明, 基于系统缺峰的二维异步相关谱方法能在不同组分的洗脱曲线严重重叠的不利情况下, 正确地解出各组分的纯物质光谱, 而对于MCR方法而言, 不同组分的洗脱曲线的严重重叠带来了严重的旋转不定性问题, 使得用传统的MCR方法无法正确得到各组分的纯物质光谱. 只有当把通过二维异步相关谱得到的与系统缺峰有关的信息作为额外的约束条件引入到MCR计算中, 才可能正确得到各组分的纯物质谱. 进一步的工作表明, 基于系统缺峰的二维异步相关谱方法在存在噪声、基线漂移等干扰因素存在的条件下, 仍能正确解出不同组分的纯物质光谱, 这使得这种方法能有效应用于真实体系. 本课题组^[70]将该方法用于高氯酸镨-高氯酸铒混合物的色谱光谱实验产生的双线性数据, 经色谱分离后, Pr^{3+} 、 Er^{3+} 的洗脱曲线依旧严重重叠. 通过基于系统缺峰的二维异步相关谱方法, 成功地得到了 Pr^{3+} 、 Er^{3+} 的纯物质光谱.

通过上述实例可以认识到, 如在洗脱液的光谱中存在一些光谱区段(记为 ω), 在这些光谱区段中, 只有某一组分(例如组分 j)有光谱吸收, 其他组分在这些光谱区段没有贡献, 这种情况下, 任给两个波长 λ_1 、 λ_2 , 如 $\lambda_1 \in \omega$, $\lambda_2 \in \omega$, 则双线性数据的两条截线 $A(t, \lambda_1)$ 、 $A(t, \lambda_2)$ 形状相同, 这是双线性数据中一种与组分 j 的独立峰相关的内在不变性, 对于解决旋转不变性具有巨大的潜在价值. 但是, 当不同组分的洗脱曲线严重重叠时, 这种不变性很难直接从原始的双线性数据上看起来, 因而无法被用作额外的约束条件应用于MCR计算中. 当构建二维异步相关谱时, 上述与不同组分独立

峰相关的内在不变性, 虽然难以从原始的双线性数据上被观测到, 但可通过构建二维异步相关谱中用到的Noda-Hilbert变换的自正交性转变为可直接观测到的系统缺峰, 这为从双线性数据中抽提不同组分的纯物质谱创造了条件.

3.2 用高维异步谱解析含多组分混合物的双线性数据(nD -asy方法)

上述方法虽能成功解析含两种组分的双线性数据, 但当混合物样品含两种以上组分时, 解析仍会面临挑战. 如下例所示, 三组混合物(G、H、I)的光谱和洗脱曲线严重重叠. 所构建的二维相关谱如图S10(a)所示, 从二维异步相关光谱的一个系统缺峰的中心取截线(图S10(b, c)), 其中在图S10(b)的截线上正峰、负峰同时出现, 说明该截线不是纯物质光谱, 即简单运用二维异步谱方法不能从中得到纯物质的光谱.

为解决上述问题, 本课题组发展出构建高维异步相关光谱的新方法. 以三维异步谱为例, 说明高维异步相关谱的构建过程(图S11): (1) 如双线性数据含 p 张一维光谱, 将这 p 张一维光谱分为 n 组, 每组 m 张一维光谱. (2) 用每组中的 m 张一维光谱构建一个二维异步相关谱, 共可得到 n 个二维异步相关谱. (3) 设定一个值 y_0 , 从上述每一张二维异步相关谱在 $y=y_0$ 处取一条水平截线, 共取得 n 条水平截线. 用此 n 条水平截线通过式(1b)构建异步谱, 该异步谱为三维异步相关光谱在 $y=y_0$ 处的一个截面, 记为 $\Psi(x, y_0, z)$. (4) 改变 y_0 值, 重复步骤(3), 得到一系列三维异步相关谱的二维截面. 将这些二维截面按 y_0 值的大小堆砌组装起来, 即为三维异步相关光谱.

使用三维异步相关光谱分析图S10所示的实例. 图S12(a, b)分别给出三维相关光谱在 $y=520 \text{ cm}^{-1}$ 和 $y=450 \text{ cm}^{-1}$ 的二维截面. 与图S10(a)所示的异步谱相比, 三维光谱的二维截面被进一步简化. 在二维光谱上某些区域有交叉峰, 但到了三维光谱的二维截面上, 相应的区域就变成了新的系统缺峰, 二维光谱上的系统缺峰到了三维光谱的二维截面上, 变成新型十字形系统缺峰(称为第二类系统缺峰, 以灰色阴影标出).

在此简化的基础上, 在三维光谱 $y=520 \text{ cm}^{-1}$ 的二维截面上取 $z=450 \text{ cm}^{-1}$ 和 $z=590 \text{ cm}^{-1}$ 的截线, 结果如图S12(c, d)所示, 在三维光谱 $y=450 \text{ cm}^{-1}$ 的二维截面上取

$z=520\text{ cm}^{-1}$ 、 $z=740\text{ cm}^{-1}$ 的截线, 结果如图S12(e, f)所示, 所得到的截线的形状与此模型预设的G、H、I的光谱形状完全一致。

图S13说明了三维异步相关光谱能成功解析出G、H、I纯物质光谱的原因。图S13(a)给出一张典型的G、H、I混合物的一维光谱, 在光谱中三种成分共存。图S13(b)给出二维相关谱在 $y=450\text{ cm}^{-1}$ 处的截线, 在截线中, G的贡献不再出现, 但仍存在H及I成分的贡献, 这就是不能从此体系的二维异步相关光谱的截线上直接得到纯物质光谱的原因。图S13(c)给出三维相关谱从 $y=450\text{ cm}^{-1}$ 处的截面上取到的 $z=520\text{ cm}^{-1}$ 处的截线。在此截线上, H的贡献亦消失, 因此所得的截线是I的纯物质光谱。与之类似, 从三维相关谱在 $y=450\text{ cm}^{-1}$ 处的截面和在 $z=740\text{ cm}^{-1}$ 上取截线, 结果如图S13(d)所示, 在截线上, I的贡献消失, 因此截线是H的纯物质的光谱。图S13(e)给出了二维相关谱在 $y=520\text{ cm}^{-1}$ 处的截线, 在截线中, H的贡献不再出现, 但仍存在G、I两组分。图S13(f)给出了从三维异步相关光谱在 $y=520\text{ cm}^{-1}$ 处的截面和在 $z=450\text{ cm}^{-1}$ 上得到的截线。在此截线上, G的贡献亦消失, 因此所得的截线是I的纯物质光谱。与之类似, 从三维异步相关光谱在 $y=520\text{ cm}^{-1}$ 处的截面和在 $z=590\text{ cm}^{-1}$ 上取截线, 结果如图S13(g)所示, 在截线上, I的贡献消失, 因此截线是G纯物质的光谱。

上述结果说明, 在高维光谱中有升维简化现象, 随着光谱维数的升高, 部分组分的光谱贡献会因向量的正交而被消除。因此, 高维光谱的截面或截线上所包含的组分数目会减少。当只剩一种组分时, 即可得到纯物质的光谱。这是可用高维相关光谱以抽丝剥茧的方式从多组分混合物的双线性数据中抽提纯物质光谱的原因。

使用该方法对水/乙酸乙酯/乙腈的三元混合物的热重-红外光谱联用实验产生的双线性数据进行分析。通过对混合物进行程序升温使各组分气化挥发, 并实时观测挥发物的红外光谱。由于三种化合物的沸点相差不大, 在实验中, 相应的逸出曲线发生严重重叠, 只能得到三种成分混合物的红外光谱而得不到纯物质的红外光谱。通过三维相关光谱分析, 成功得到气态的水、乙酸乙酯和乙腈的纯物质红外光谱^[71]。

在成功构建三维异步相关谱的基础上, 本课题组提出了一种基于递归的方式构建高维异步相关谱的方法, 并在此基础上, 成功运用四维异步相关谱解析含4

种组分的混合物的模拟色谱-光谱实验产生的双线性数据, 取得了满意的效果。

3.3 使用样品-样品相关二次异步谱解析混合物的双线性数据

在前述工作中, 在求解两组分及多组分混合物的色谱-光谱实验产生的双线性数据时, 需要体系至少两种成分的光谱中具有独立峰, 当这一条件不成立时, 用上述方法无法解析相应的双线性数据。

为了拓展二维/高维相关谱在解析双线性数据上的应用, 本课题组发展出使用样品-样品相关二次异步谱解析混合物的双线性数据(SASS方法)。以一个含三种组分(P、Q、R)混合物的色谱-光谱模型体系为例, 说明如何用SASS方法对数据进行解析(图4)。

P、Q、R洗脱曲线严重重叠, 无法从原始的双线性数据中直接得到三种组分的纯物质谱。在光谱上, 由于谱峰重叠, P、Q、R没有独立峰, 相应的异步谱中不存在系统缺峰, 无法通过二维、高维异步相关谱解析双线性数据。由于从原始的双线性数据中得到约束不够, 即使使用MCR, 仍无法得到正确结果。因此, 破解这类极其困难的双线性矩阵的关键是能否从双线性数据中挖掘出隐含但有效的约束。如果能在洗脱液光谱中出现吸收峰的区段中确定哪些组分在哪些波段没有光谱贡献, 则有望利用这些信息克服旋转不定性问题给解析带来的困难, 为成功得到P、Q、R的纯物质光谱创造条件。不过, 由于逸出曲线重叠和光谱重叠问题, 无法直接从洗脱液的光谱中识别各谱峰来自哪种物质。

使用SASS方法解析这类困难的双线性数据, 步骤如下:

(1) 把双线性数据矩阵 $\mathbf{A}$ 拆分为一系列子矩阵 $v_i \mathbf{A}$, 其中 $v_i \mathbf{A}$ 的表达式如下:

$$v_i \mathbf{A} = \begin{pmatrix} A(t_1, v_{i-1}) & A(t_1, v_i) & A(t_1, v_{i+1}) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ A(t_j, v_{i-1}) & A(t_j, v_i) & A(t_j, v_{i+1}) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ A(t_p, v_{i-1}) & A(t_p, v_i) & A(t_p, v_{i+1}) \end{pmatrix} \quad (52)$$

(2) 用式(53)构建样品-样品异步相关二维谱:

$$v_i \mathbf{Z} = v_i \mathbf{A} \mathbf{N} (v_i \mathbf{A}^T) \quad (53)$$

图 4 SASS方法解析双线性数据步骤简图(获得文献[72]重印授权)(网络版彩图)

Figure 4 Schematic diagram on the procedure of the analysis of bilinear data via the SASS approach. Reprinted with permission from ref. [72] (color online).

其中 T 为矩阵转置, N 为Hilbert-Noda矩阵. 通过此步可得到一系列二维样品-样品相关谱.

(3) 从每一张样品-样品异步相关二维谱的固定位置上取一条截线($v_i Z(a, t)$). 可以证明, 样品-样品异步相关二维谱在给定位置的截线是各组分洗脱曲线的线性组合. 如有两个波段(v_{i-1}, v_{i+1})和(v_{k-1}, v_{k+1}), 在这两个波段内, 样品-样品异步相关二维谱在给定位置的截线来源于相同的两种组分(例如, 只有P、Q有信号但R无信号), 则两条截线的形状相同. 也就是说, 来源于相同二元组合的样品-样品异步相关二维谱在给定位置的截线的形状都相同.

(4) 用步骤3得到的一系列截线拼成矩阵, 并用此矩阵构建二次二维异步相关谱. 由于来源于相同二元组合的截线因形状都相同, 在构建二维异步谱时因Hilbert-Noda矩阵的自正交性, 在二次二维异步相关谱上产生系统缺峰. 结果是在此体系的二次二维异步相关谱上, 出现了三套系统缺峰, 每套系统缺峰构成一个 2×2 的方阵, 分别对应只含P、Q二元组合、P、R二元组合和Q、R二元组合的波段. 上述结果可以转化为MCR计算可用的约束, 即只含P、Q信号的波段不含R信号, 只含P、R信号的波段不含Q信号, 只含Q、R信号的波段不含P信号.

(5) 将上述约束加入到MCR计算中, 可以正确解出P、Q、R的纯物质光谱. 进一步的研究表明, 从二次二维异步相关谱的系统缺峰得到的隐含约束条件对于得到正确结果是不可或缺的. 如无上述约束条件, 则无法得到正确结果.

将SASS方法应用于真实体系分析, 取得了满意的结果. 以气态HOD的红外光谱分辨为例, 由于存在氢氧交换的平衡, 部分HOD分子会转化为 H_2O 和 D_2O , 因此在实验中永远只能得到HOD、 H_2O 和 D_2O 的混合物, 而无法直接获得纯HOD, 从而无法测定纯HOD的红外光谱. 通过热重分析仪-傅里叶红外(TG-FTIR)联用实验收集到的 H_2O 和 D_2O 混合物的双线性数据, 包含气态HOD、 H_2O 和 D_2O 的红外光谱信号, 由于三者的沸点差别非常小及氢氧交换效应, HOD、 H_2O 和 D_2O 的逸出曲线严重重叠. 用SASS方法解析所得到的双线性数据, 所解出的 H_2O 和 D_2O 的红外光谱的形状与纯物质光谱一致. 在此基础上, 成功得到气态HOD的红外光谱^[72].

4 改善二维相关谱信噪比方法的尝试

二维相关谱可看作是一种分辨率增强的光谱手段, 这也意味着该方法经常会承受信噪比劣化的代价. 在工作中, 研究者经常受下述问题的困扰: 在原始的一维光谱只有微弱的噪声干扰, 但到了二维相关谱中, 噪声被极大地放大, 以至于二维相关谱被噪声淹没, 从中无法正确识别交叉峰或系统缺峰. 因此, 如何改善二维相关谱的信噪比是一个人们普遍关心的问题, 也有大量工作被报道^[73-76]. 解决这个问题可以从三方面着手.

(1) 压制噪声. 这是本领域的同行普遍采用的手段, 通过对构建二维光谱所用的一维光谱进行平滑、滤波、本征向量操控等手段, 使噪声的波动幅度下降, 从而改善二维相关谱的信噪比. 上述处理方法的一个副作用是会引起光谱信号畸变, 如对信号畸变不加控制, 会导致二维相关谱失真, 从而无法得到正确交叉峰的形状, 不能正确识别系统缺峰, 最终会对研究工作产生误导, 甚至可能得出错误的结论. 为了最大程度地降低上述风险, 本课题组^[77]在发展基于Butterworth滤波的降噪处理方法时, 强调在进行光谱信号处理时, 一定要注意压制噪声和控制信号畸变二者的平衡, 保证信号畸变的幅度不大于光谱的残余噪声, 从而避免对研究工作带来误导.

(2) 在构建二维相关谱时可以发现, 如对其构建方法加以调整, 可能会使产生的交叉峰强度增加, 从而使信噪比得以改善. 与压制噪声的方法相比, 这类方法的优点是不会产生信号畸变. 目前, 本课题组发展出了三种方法: 改变构建异步谱的一维光谱的顺序^[78]; 使用改进的扣除参比的方法^[79]; 在构建异步谱时, 不再减参比光谱^[80]. 在某些情况下, 上述方法可使交叉峰的强度提高上百倍, 从而为二维谱相关的研究工作提供了可靠的保障.

(3) 最近, 我们发展出一种用于在噪声干扰严重的情况下, 借助商谱和统计分析识别系统缺峰的新方法^[81].

5 总结与展望

通过上面的工作, 可以看到, 与正交相结合会使二维相关光谱潜力得到充分发挥. 在研究分子间相互作用方面, 可通过设计特殊的浓度序列, 构造正交向量,

利用正交向量的点乘, 有效消除干扰信号, 使人们得见分子间相互作用的“庐山真面目”; 在解析双线性数据方面, 隐藏在原始数据中的不变量可通过 Hilbert-Noda 矩阵的自正交性, 以系统缺峰的形式出现在二维/高维相关谱中. 这为即使在不同组分的洗脱曲线严重重叠的不利情况下, 仍能从双线性数据中提取纯组分光谱创造了条件.

基于上述基础, 未来的研究工作将主要围绕以下三个方面进行: (1) 我们拟基于正交的概念, 通过设计新的浓度序列, 构建功能更强的二维相关光谱, 并将其应用于研究复杂体系, 深化对中不同物质间的分子间

相互作用的物理化学本质的认识. (2) 在多元混合物体系双线性数据分析中, 我们拟进一步发掘色谱-光谱及类似实验中产生的双线性数据中隐含的不变量, 并依此开发构建二维、高维相关谱的新方法. 使二维、高维相关谱的新方法在解析复杂混合物体系的双线性数据方面发挥越来越大的作用. (3) 我们拟在深化认识二维、高维谱中噪声行为的基础上, 发展改善二维、高维谱信噪比新方法. 使二维、高维相关谱有能力应对更加严峻的挑战.

我们相信, 随着研究工作的深入, 与正交相结合的二维相关光谱将成为人们认识自然的有力工具.

补充材料

本文的补充材料见网络版<http://chemcn.scichina.com>. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

参考文献

- Ernst RR, Bodenhausen G, Wakaun A. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. Oxford: Oxford University Press, 1987
- Bax A. *Two Dimensional Nuclear Magnetic Resonance in Liquids*. Boston: Reidel, 1982
- Cavanagh J, Fairbrother WJ, Palmer III AG, Rance M, Skelton NJ. *Protein NMR Spectroscopy: Principles and Practice*. Burlington: Elsevier, 2007
- Noda I. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 8116–8118
- Noda I. *Appl Spectrosc*, 1990, 44: 550–561
- Noda I. *Appl Spectrosc*, 1993, 47: 1329–1336
- Noda I. *Appl Spectrosc*, 2000, 54: 994–999
- Noda I, Ozaki Y. *Two-dimensional Correlation Spectroscopy-Applications in Vibrational and Optical Spectroscopy*. San Francisco: John Wiley & Sons, Ltd, 2004
- Xu YZ, Ozaki Y, Noda I, Jung YM. *2D Correlation Spectroscopy and Its Application in Vibrational and Optical Spectroscopy in Gupta VP. Molecular and Laser Spectroscopy*. Elsevier: Cambridge, 2018
- Marcott C, Lo M, Hu Q, Kjoller K, Boskey A, Noda I. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 284–289
- Ryu SR, Bae WM, Hong WJ, Ihn KJ, Jung YM. *Vib Spectr*, 2012, 60: 168–172
- Schuchardt P, Unger M, Siesler HW. *Spectrochim Acta Part A*, 2018, 188: 478–482
- Zhou Y, Zheng YZ, Zhang T, Deng G, Yu ZW. *ChemPhysChem*, 2017, 18: 1370–1375
- Zheng YZ, Wang NN, Zhou Y, Yu ZW. *Phys Chem Chem Phys*, 2014, 16: 6946–6956
- Chen J, Zhou Q, Noda I, Sun S. *Anal Chim Acta*, 2009, 649: 106–110
- Chen J, Sun S, Zhou Q. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406: 4513–4525
- Ren Z, Zhang L, Wu Y, Mebarek S, Buchet R. *Vib Spectr*, 2016, 86: 206–211
- Zhang L, Wang WX, Li A, Liu J, Li HW, Wu Y. *J Mol Struct*, 2020, 1214: 128173
- Hou L, Feng K, Wu P, Gao H. *Cellulose*, 2014, 21: 4009–4017
- Hou L, Wu P. *Cellulose*, 2019, 26: 2759–2769
- Lehn JM. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*. Cambridge: VCH, 1995
- Wu JG. *Modern Fourier Transformed Infrared Spectroscopy, Techniques and Applications*. Beijing: Scientific and Technical Documentation Press, 1994 (in Chinese) [吴瑾光. 近代傅里叶变换红外光谱技术及应用. 北京: 科学技术文献出版社, 1994]

- 23 Weng SF, Xu YZ. *Analysis on Fourier Transformed Infrared Spectroscopy*. Beijing: Chemical Industry Press, 2016 (in Chinese) [翁诗甫, 徐怡庄. 傅里叶变换红外光谱分析. 北京: 化学工业出版社, 2016]
- 24 Mahadevi AS, Sastry GN. *Chem Rev*, 2013, 113: 2100–2138
- 25 Giese M, Albrecht M, Rissanen K. *Chem Rev*, 2015, 115: 8867–8895
- 26 Cavallo G, Metrangola P, Milani R, Pilati T, Priimagi A, Resnati G, Terraneo G. *Chem Rev*, 2016, 116: 2478–2601
- 27 Gilday LC, Robinson SW, Barendt TA, Langton MJ, Mullaney BR, Beer PD. *Chem Rev*, 2015, 115: 7118–7195
- 28 Yu ZW, Chen L, Sun SQ, Noda I. *J Phys Chem A*, 2002, 106: 6683–6687
- 29 Qi J, Li H, Huang K, Chen H, Liu S, Yang L, Zhao Y, Zhang C, Li W, Wu J, Xu D, Xu Y, Noda I. *Appl Spectrosc*, 2007, 61: 1359–1365
- 30 Qi J, Huang K, Gao X, Li H, Liu S, Zhao Y, Xu Y, Wu J, Noda I. *J Mol Struct*, 2008, 883–884: 116–123
- 31 Chen J, Zhang C, Li H, Liu Y, Li W, Xu Y, Wu J, Noda I. *J Mol Struct*, 2008, 883–884: 129–136
- 32 Liu YH, Zhang CF, Liu SX, Zhao Y, Wang DJ, Wu JG, Xu YZ, Noda I. *J Mol Struct*, 2008, 883–884: 124–128
- 33 Li H, Tao D, Qi J, Wu J, Xu Y, Noda I. *Spectrochim Acta Part A*, 2014, 124: 697–702
- 34 Li X, Pan Q, Chen J, Liu S, He A, Liu C, Wei Y, Huang K, Yang L, Feng J, Zhao Y, Xu Y, Ozaki Y, Noda I, Wu J. *Appl Spectrosc*, 2011, 65: 901–917
- 35 Zhang C, Huang K, Li H, Chen J, Liu S, Zhao Y, Wang D, Xu Y, Wu J, Noda I, Ozaki Y. *J Phys Chem A*, 2009, 113: 12142–12156
- 36 Chen J, Bi Q, Liu S, Li X, Liu Y, Zhai Y, Zhao Y, Yang L, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Phys Chem A*, 2012, 116: 10904–10916
- 37 Kang X, He A, Guo R, Chen J, Zhai Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2016, 1124: 228–237
- 38 Bi Q, Chen J, Li X, Shi J, Wang X, Zhang J, Gao D, Zhai Y, Zhao Y, Weng S, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 264–271
- 39 Kang X, He A, Guo R, Zhai Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2016, 1124: 151–158
- 40 Gao Y, Liu J, Liu Y, Shi J, Weng S, Yang L, Wen X, Kang T, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 205–210
- 41 Liu J, Gao Y, Zheng L, Gao D, He A, Liu Y, Weng S, Zhao Y, Yang Z, Yang L, Wen X, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 217–222
- 42 Gao Y, Li D, Shi J, Wang X, Kang T, Weng S, Xu Y, Noda I, Wu J. *Biomed Spectr Imag*, 2015, 4: 129–137
- 43 Zhang J, Guo R, He A, Weng S, Gao X, Xu Y, Noda I, Wu J. *Spectrochim Acta Part A*, 2017, 182: 136–142
- 44 Bi Q, Chen J, Li X, Shi JJ, Guo R, Zhai Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 211–216
- 45 Li X, Fan X, Huang K, Liu H, Zhao Y, Wei Y, Liu C, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2014, 1069: 127–132
- 46 Chen M, Guo R, Zhao Y, Weng S, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2016, 1124: 244–248
- 47 Liu S, Zhang C, Liu Y, Zhao Y, Xu Y, Ozaki Y, Wu J. *J Mol Struct*, 2012, 1021: 63–69
- 48 Liu S, Zhang C, Proniewicz E, Proniewicz LM, Kim Y, Liu J, Zhao Y, Xu Y, Wu J. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2013, 115: 783–788
- 49 He A, Kang X, Xu Y, Noda I, Ozaki Y, Wu J. *Spectrochim Acta Part A*, 2017, 185: 343–348
- 50 Zhang Y, Guo R, Li G, Ling X, Noda I, Xu Y. *J Mol Struct*, 2020, 1202: 127294
- 51 Bao Y, Zeng Y, Guo R, Ablikim M, Shi H, Yang L, Yang Z, Xu Y, Noda I, Wu J. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2018, 197: 126–132
- 52 Gao DQ, Li XP, Shi JJ, Kang XY, Kang TG, Xia JM, Ling XF, Weng SF, Xu YZ, Noda I, Wu JG. *Chin Chem Lett*, 2015, 26: 177–181
- 53 Li X, He A, Huang K, Liu H, Zhao Y, Wei Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *RSC Adv*, 2015, 5: 87739–87749
- 54 Li X, Zeng Y, Deng G, Xu Y, Ozaki Y, Noda I, Wu J. *Appl Spectrosc*, 2019, 73: 1051–1060
- 55 Shi J, Liu Y, Guo R, Li X, He A, Gao Y, Wei Y, Liu C, Zhao Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *Appl Spectrosc*, 2015, 69: 1229–1242
- 56 Khrolenko MV, Wieczorek PP. *J Chromatogr A*, 2005, 1093: 111–117
- 57 Fang F, Wei R, Liu X. *Int J Environ Anal Chem*, 2014, 94: 661–667
- 58 Islas G, Rodriguez JA, Mendoza-Huizar LH, Pérez-Moreno F, Carrillo EG. *J Liquid Chromatogr Related Technol*, 2014, 37: 1298–1309
- 59 Materazzi S. *Appl Spectr Rev*, 1998, 33: 189–218
- 60 Risoluti R, Fabiano MA, Gullifa G, Vecchio Cipriotti S, Materazzi S. *Appl Spectr Rev*, 2017, 52: 39–72
- 61 Parastar H, Radović JR, Bayona JM, Tauler R. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405: 6235–6249
- 62 Li SF, Wu HL, Yu YJ, Li YN, Nie JF, Fu HY, Yu RQ. *Talanta*, 2010, 81: 805–812
- 63 de Juan A, Tauler R. *J Chromatogr A*, 2007, 1158: 184–195
- 64 Paatero P, Hopke PK, Song XH, Ramadan Z. *Chemom Intell Lab Syst*, 2002, 60: 253–264

- 65 Tauler R. *Chemom Intell Lab Syst*, 1995, 30: 133–146
- 66 Zhang X, Lu S, Liao Y, Zhang Z. *Chemom Intell Lab Syst*, 2017, 164: 8–15
- 67 Sun W, Zhang X, Zhang Z, Zhu R. *Spectrochim Acta Part A*, 2017, 171: 72–79
- 68 Ni Y, Wang S, Kokot S. *Anal Chim Acta*, 2010, 663: 139–146
- 69 Zhuang Q, Cao W, Ni Y, Wang Y. *Talanta*, 2018, 185: 491–498
- 70 Guo R, Zhang X, He AQ, Zhang F, Li QB, Zhang ZY, Tauler R, Yu ZQ, Morita S, Xu YZ, Noda I, Ozaki Y, Wu JG. *Spectrochim Acta Part A*, 2019, 220: 117103
- 71 Guo R, Zhang X, Zhang F, Zhang Z, Yu Z, Xu Y, Noda I, Ozaki Y. *Spectrochim Acta Part A*, 2019, 216: 76–84
- 72 Guo R, Zhang X, He AQ, Yu ZQ, Ling XF, Xu YZ, Noda I, Ozaki Y, Wu JG. *Anal Chem*, 2020, 92: 1477–1484
- 73 Berry RJ, Ozaki Y. *Appl Spectrosc*, 2002, 56: 1462–1469
- 74 Jung YM, Kim SB, Noda I. *Appl Spectrosc*, 2003, 57: 557–563
- 75 Wu Y, Noda I. *Appl Spectrosc*, 2006, 60: 605–610
- 76 Park Y, Noda I, Jung YM. *Appl Spectrosc*, 2018, 72: 765–775
- 77 He A, Zeng X, Xu Y, Noda I, Ozaki Y, Wu J. *J Phys Chem A*, 2017, 121: 7524–7533
- 78 Li X, Liu S, Chen J, Yue S, Liu C, Wei Y, Huang K, Zhao Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *Vib Spectr*, 2012, 60: 212–216
- 79 Li X, Bi Q, Liu S, Chen J, Yue S, Wei Y, Huang K, Zhao Y, Liu H, Zhai Y, Xu Y, Noda I, Wu J. *J Mol Struct*, 2013, 1034: 101–111
- 80 He A, Zeng Y, Kang X, Morita S, Xu Y, Noda I, Ozaki Y, Wu J. *J Phys Chem A*, 2018, 122: 788–797
- 81 Kang XY, He AQ, Guo R, Yang LM, Cheng YS, Xu YZ, Liu KX, Chen JE, Ozaki Y, Noda I. *Spectrochim Acta Part A*, 2020, 243: 118789

Orthogonality in two-dimensional correlation spectroscopy

Yizhuang Xu^{1,2*}, Ran Guo^{1,2}, Anqi He¹, Xiaopei Li³

¹ State Key Laboratory for Rare Earth Materials Chemistry and Applications, College of Chemistry and Molecular Engineering, Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

² Jiangsu JITRI Molecular Engineering Inst. Co., Ltd., Suzhou 215500, China

³ Instrumental Analysis Center, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China

*Corresponding author (email: xyz@pku.edu.cn)

Abstract: In this paper, we outline the exploration on application of the concept of orthogonality in the development of methodology of 2D-COS. The studies include: (1) characterization of intermolecular interaction between two solutes dissolved in the same solutions: in the approach, we design special concentration series. In the construction of 2D correlation spectra, interference signals irrelevant to intermolecular interaction are removed *via* dot production of a pair of vectors that are orthogonal to each other. Consequently, intermolecular interaction can be probed by cross peaks in the resultant 2D correlation spectra. (2) Analysis of bilinear data produced by chromatographic-spectroscopic and analogous experiments on mixed samples: *via* the self-orthogonality of the Hilbert-Noda matrix, implicit but intrinsic invariance can be manifested as systematic absence of cross peaks (SACPs). As a result, spectra of pure components can be retrieved even if the elution profiles of different components are still severely overlapped after separation process.

Keywords: 2D-COS, orthogonality, intermolecular interaction, bilinear data, systematic absence of cross peaks (SACP)

doi: 10.1360/SSC-2020-0139