Разработка программного комплекса спектральный анализа спектров веществ для низкопольного ЯМР спектрометра низкого разрешения (не конечное название)

Аннотация

В данном проекте представлен комплекс программного обеспечения, предназначенный для проведения анализа спектров, полученных с помощью низкопольных ЯМР спектрометров. Комплекс является комплементарным к ЯМР-спектрометру, разрабатываемому на базе ООО "Центр магнитно резонансных исследований "Спинус" СПбГУ".

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) является одним из самых мощных бесконтактных, неразрушающих методов для исследования и анализа вещества, а также практически самым тончайшим инструментом измерения напряжённости магнитных полей. Ни одно химическое производство не обходится без ЯМР-спектрометра. С появлением ЯМР химики получили уникальный метод, который позволяет не только определять химический состав вещества, но и геометрию самой молекулы с точными расстояниями между отдельными атомами в молекуле. Таким образом, ЯМР-спектр каждого соединения уникален.

На данный момент рынок сложных ЯМР спектрометров хорошо освоен несколькими крупными предприятиями, но большинство импортных ЯМР-спектрометров стоят сотни тысяч евро из-за сложных сверхпроводящих магнитных систем, входящих в их конструкцию. Кроме того, они громоздки и имеют исключительно стационарное исполнение. Таким образом, доступ к качественному анализу имеют только крупные предприятия и организации. Владельцам малых предприятий приходится довольствоваться примитивным анализом образцов или тратить время и деньги на проведение анализов своих образцов сторонними организациями. Вместе с тем, очень часто бывает необходимо оперативно провести анализ закупаемого для производства сырья или проконтролировать качество своего продукта. В таком случае доступный ЯМР-спектрометр просто необходимо иметь в арсенале производства.

Решением данной проблемы может стать получивший развитие в последнее десятилетие ЯМР в слабых полях, в частности в земном магнитном поле. Магнитом для такого прибора является геомагнитное поле — бесплатное, с высокой однородностью, что крайне необходимо для ЯМР-спектрометрии.

В основном используют так называемые протонные ЯМР-спектры, т.е. регистрируют сигнал от ядер водорода. Недостатком ЯМР в земном поле является отсутствие так называемого химического сдвига. Этот эффект порождается электронными оболочками ядер. Он ослабляет магнитное поле вокруг ядер, вызывает смещение спектральных линии относительно частоты резонанса и делает ЯМР-спектры более информативными. Земное магнитное поле недостаточно сильное, из-за чего химический сдвиг становится меньше ширины спектральной линии. Тем не менее существует взаимодействие магнитных моментов ядер друг с другом через электронные оболочки, которые не зависят от напряженности внешнего магнитного поля. Это взаимодействие называют косвенным диполь-дипольным (или спин-спиновым, КССВ), в слабом магнитном поле оно вызывает характерное симметричное расщепление спектральной линии протонов и позволяет так же по спектру различать протонсодержащие жидкости, если они содержат в молекулах фтор или фосфор. Дело в том, что только эти элементы имеют 100% природное содержание магнитных изотопов ^{19}F и ^{31}P и фиксировать расщепление линии протонов на этих ядрах очень просто. Такие изотопы магнитных ядер, как, например,

кремний ^{29}Si и углерод ^{13}C, имеют всего несколько процентов природного содержания и требуют для ЯМР спектроскопии либо искусственного обогащения, либо так называемого накопления сигнала, когда эксперимент повторяется многократно и ЯМР-сигналы этих экспериментов складывают, при этом шумы в спектре ослабевают в корень из числа экспериментов. Благодаря этому можно регистрировать очень слабые линии от взаимодействия протонов с ядрами ^{13}C, природное содержание которых около 1%. Это значит, что имеется возможность различать большую часть потребности химической промышленности — продукты органического синтеза, органические жидкости.

Однако, на этом пути имеются некоторые трудности. Во-первых, земное поле нестабильно и малые его флуктуации вызывают сдвиги частоты ЯМР на несколько герц, что делает невозможным традиционное накопление сигнала. Во-вторых, расщепленные линии очень малы и их трудно наблюдать на «склонах» основной линии протонов. В этой статье будет показано, как можно решить эти проблемы с помощью программно-математических методов.

Примечание: далее вся терминология и названия процессов подразумеваются применимо к низкопольным системам, если не указано иного.

---

2. Обработка

2.1 Цель

Обработка ЯМР спектра для слабого поля требует реализации ряда техник обработки сигналов для получения информативного спектра. Весь процесс работы со спектром может быть разбит на три этапа: предобработка, корректировка и анализ. Последний может быть представлен различными алгоритмами с разными целями. В рамках данной статьи целью анализа является нахождение констант КССВ (также именуемых J-coupling) и дальнейшее распознание сканируемого вещества. J-coupling представляют из себя расстояния между сателлитами (парой пиков, расположенных симметричных относительного некого третьего) относительно главной спектральной линии. Главной спектральной линией является пик с наибольшей амплитудой для всего спектра, расположенный на частоте настройки прибора (в данном случае производится настройка на ЯМР-частоту протонов).

2.2 Предобработка

Входные данные представляют собой набор из 20-100 сигналов, записаных подряд. Каждый сигнал является словарём, где каждой дискретной отметке времени t соответсвует дискретное значение V - амплитуда сигнала в момент времени t.

Первым этапом предобработки является аподизация сигнала, заключающаяся в домножении каждого сигнала на некую спадающую кривую. В данном случае использовалась часть косинусоиды, такой, что при $t = 0$ её значение равно 2/3, а в последней точке сигнала - нулю. Этот процесс позволяет усилить сигнал в середине и уменьшить шумы в конце, а также избавиться от осцилляций в спектре при последующем дополнении сигнала нулями из-за резкого обрыва данных перед нулевыми значениями. Для вышеописанных условий, данная операция может быть представлена следующим образом:

$$V_k = V_k \cdot \cos\left(x \frac{\frac{\pi}{2} + \arccos\left(\frac{2}{3}\right)}{t} - \arccos\left(\frac{2}{3}\right) \right).$$

Для увеличения разрешения спектра, аподизированный сигнал искусственно расширяется путём добавления N нулевых значений через промежутки промежутки времени, обратные частоте дискретизации изначального сигнала. Для достижения значительного эффекта, N должно быть не менее, чем в 3 раза больше количества дискретных отметок расширяемого сигнала.

На данном этапе, ввиду сильной флуктуации Земного поля (см. рис. 1), в котором проводится запись, необходимо провести ряд дополнительных преобразований, компенсирующих искажения, порождаемые вариациями магнитного поля в процессе записи. Основным из таких преобразований является квадратурное детектирование, выполняемое по следующему алгоритму:

1. происходит разложение каждого сигнала на составляющие его гармонические колебания, что делается путём применения быстрого преобразования Фурье;
2. находится положение главной спектральной линии на оси частот F_0;
3. каждое значения сигнала преобразовывается следующим образом $V_k = V_k \cdot [\cos(2\pi F_0 t_k) + i \sin(2\pi F_0 t_k)]$.

Далее, к каждому сигналу вновь применяется преобразование Фурье, и все полученные спектры складываются почастотно, что позволяет избавиться от

значительной части шума (амплитуда шума уменьшается в $\sqrt{n}$ раз при сложении n спектров). Также, так, как в проекте используются спектры с единственной главной спектральной линией, для удобства последующей обработки, она принимается за начало координат по оси частот.

В записи последующих формул будет применятся следующая нотация: A_k или $A(k)$ - амплитуда спектра на частоте k, F - частота, $Re(x)$ и $Im(x)$ - действительная и мнимая части числа соответственно.

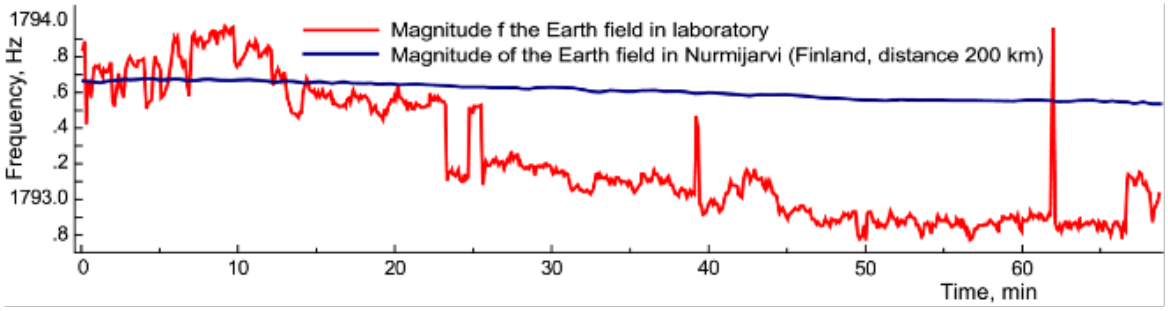

Рис. 1. Изменения земного поля в лаборатории (красный) и данные с вариометрической станции в Нурмиярви, Финляндия (синий) в один и тот же промежуток времени.

2.3 Корректировка искажений спектра

После получения первичного спектра, остаётся ряд проблем, которые необходимо решить: сдвиг фазы и искажение базовой линии. Разработанные алгоритмы будут представлены на примере уксусной кислоты и 2,2,2-Трифторэтанола.

2.3.1 Первичная корректировка фазы

Ввиду применения квадратурного детектирования, а так же из-за особенности процесса записи изначального сигнала, фаза получившегося спектра смещена, что ощутимо искажает вид спектра и в большинстве случаев может сделать невозможным дальнейший его анализ. Для корректировки фазового смещения обычно используют линейное смещение фазы: $A_k = A_k \cdot e^{(p_0+p_1\frac{j}{N})i}$, где i - мнимая единица, j - порядковый номер преобразуемой дискретной точки A_k, N- количество дискретных величин, p_0 и p_1 - углы смещения фазы 0 и 1 порядков соответственно. Для подбора и оценки оптимальности пары p_0 и p_1 для сдвига фазы конкретного спектра используется функция потерь ACME.

2.3.2 Разработанная система корректировки фазы

Метод, описаный в предыдущем пункте, разрабатывался для спектров в сильном поле, ввиду чего, результат его применения не полностью выравнивает фазу. Для решения данной проблемы был разработан собственный метод корректировки фазы. За основу берётся изменённая формула квадратурного детектирования: $A_k = A_k \cdot [\cos(2\pi\gamma F_k + \delta) + i\sin(2\pi\gamma F_k + \delta)]$, где γ и δ - настраиваемые входные параметры. Они подбираются с помощью метода Нелдера — Мида, минимизируя функцию потерь. Функция потерь принимает на вход массив значений оцениваемого спектра (после применения функции смещения фазы), а результатом её выполнения является скаляр, представляющий собой "оценку" рассматриваемого преобразования. Для решения поставленной задачи была разработана собственная функция потерь, выглядящая следующим образом: $\sigma(A) = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{N}[\arg(A_i) - \overline{\arg(A)}]^2}$, однако, так, как извлечение квадратного корня, равно как и деление на константу, не меняет монотонность конечной функции, в целях оптимизации вычислений, формула была упрощена до вида $\sigma(A) = \sum_{i=1}^{N}|\arg(A_i) - \overline{\arg(A)}|$. Фактически, целью подбора γ и δ становится снижение дисперсии фаз для всего спектра. Дальнейшая работа со спектром будет производится исключительно с его модулем. Разница между изначальным и скорректированным спектром представлена на рис. 2.

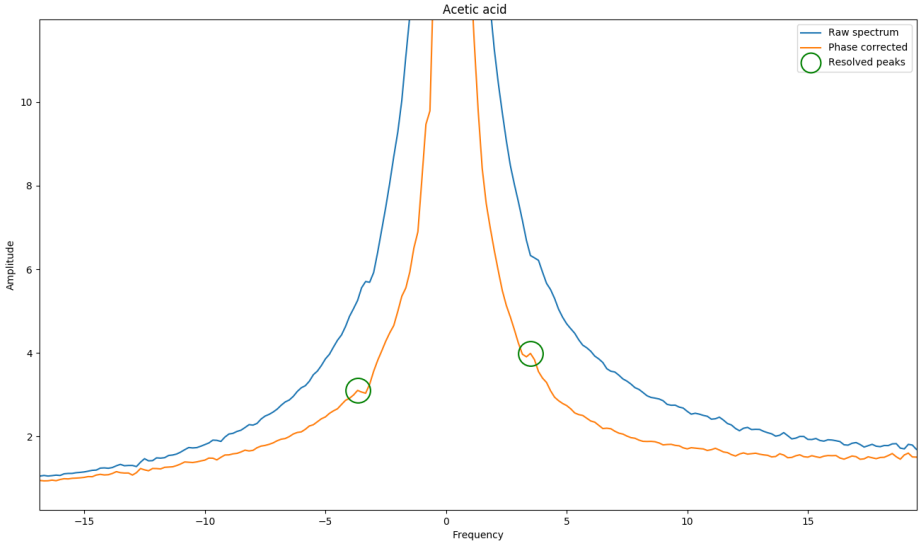

Рис. 2 — Выделение сателлитов после корректировки фазы

2.3.3 Свёртка

В условиях реальных экспериментов существует множество шумов, которые даже в случае малой амплитуды значительно затрудняют обработку данных. В частности, разработанный алгоритм компенсации базовой линии (см. пункт 2.3.4) крайне чувствителен к дополнительным экстремумам на пиках предполагаемых сателлитов. Для выделения несущих информацию пиков был разработан метод сглаживания для ЯМР спектров. Идея заключается в нахождении такой функции, что её использование в роли ядра свёртки для обрабатываемого спектра сглаживает пики сателлитов, делая их пригодными для дальнейшей обработки.

Так, как в идеальном случае каждый не шумовой пик представлен кривой распределения Коши, следовательно, наилучшей функцией-свёрткой будет лоренциана. Известно, что ширина пика прямо пропорциональна ширине главной спектральной линии. Коэффициент пропорциональности был экспериментально выведен как $\mu \approx \frac{1}{2}$ (среднее отношение ширины главной спектральной линии на уровне половины её амплитуды к ширине пика у основания). Таким образом, функция свёртки определяется как $g(x) = \frac{\mu^2}{\mu^2 + x^2}$. Далее, применяется Фурье-свёртка $A = A * g$, что значительно сглаживает пики. Пример разницы до и после применения свёртки представлен на рис. 3.

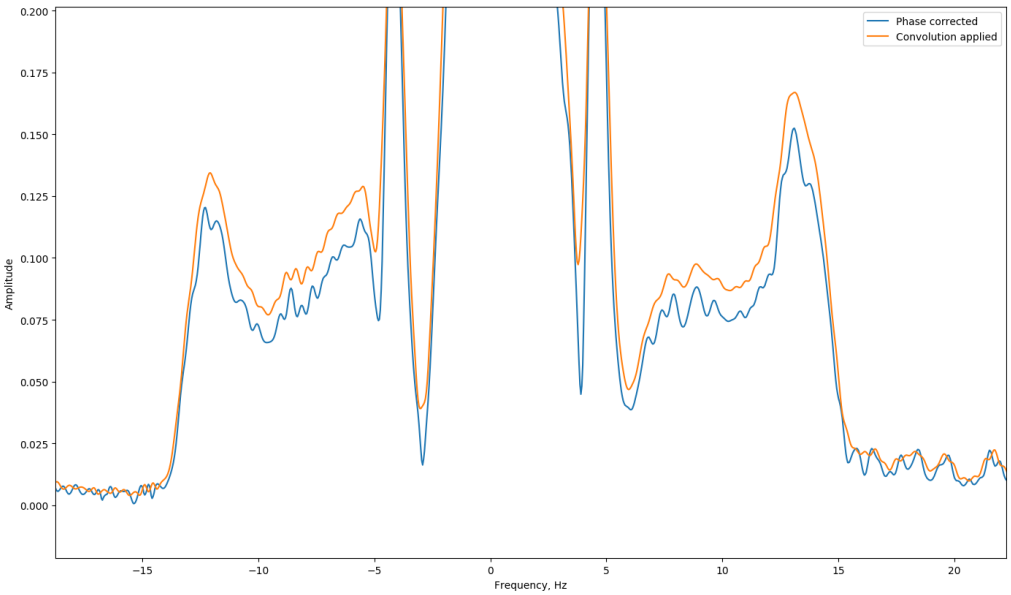

Рис. 3 — Применение свёртки

2.3.4 Компенсация базовой линии

Для начала, будет удобно представить спектр, как сумму трёх функций $A(k) = A_{pure}(k) + N(k) + B(k)$, где A_{pure} - чистый (идеальный) спектр, N - шум, а B - базовая линия (рис. 4). Следовательно, для её компенсации достаточно найти значение базовой линии в каждой точке спектра и вычесть её.

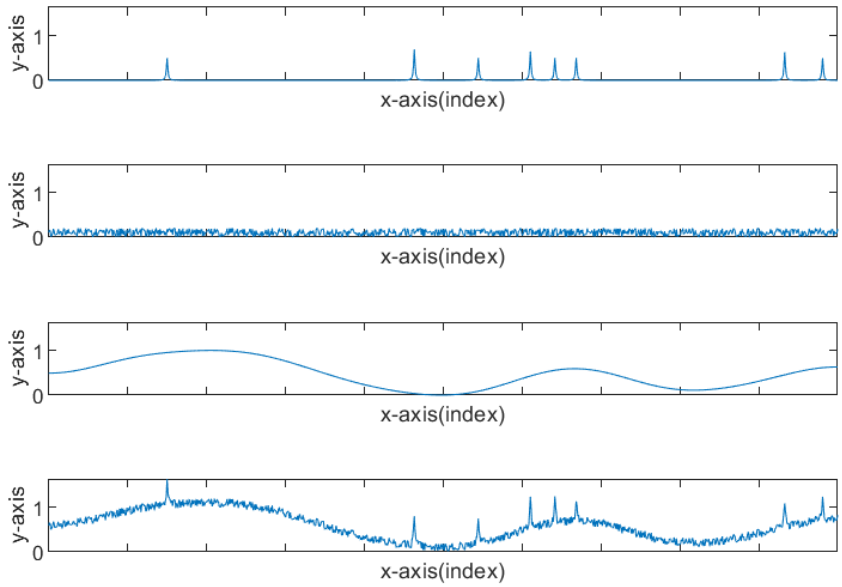

Рис. 4 — Моделирование спектра. Сверху вниз: чистый спектр, шум, базовая линия, результирующий спектр

Для расчёта базовой линии существует несколько алгоритмов, основанных на Вейвлет-преобразовании и на методах машинного обучения. Были опробованы оба, однако, Вейвлет-компенсация была нестабильна, и зачастую выделяла неверные пики, что не позволило использовать данный метод. Подходы, основанные на машинном обучении, предполагают создание искусственных спектров из частей, описанных в вышеуказанной формуле. Такое решение показывает удовлетворяющие результаты в рамках оригинальной статьи, однако добиться подобной точности для низкопольных спектров не удалось.

Путём множественных экспериментов был разработан собственный подход. Идея заключается в поиске отрицательных пиков на всём спектре и линейной интерполяции по всей оси частот, используя найденые пики как опорные точки. Далее, получившийся сплайн вычитается из основного спектра. Поиск

отрицательных пиков производится путём нахождения множества корней λ уравнения $\frac{\partial A}{\partial F} = 0$ с условием, что $\begin{cases} \lim_{\epsilon \to +0} A(\lambda_i - \epsilon) < 0 \\ \lim_{\epsilon \to +0} A(\lambda_i + \epsilon) > 0 \end{cases}$.

Вычитая из спектра полученную базовую линию, заметно упрощается задача по последующему нахождения пар пиков, расстояния между которыми являются константами КССВ. Результат выполнения алгоритма представлен на рис. 5.

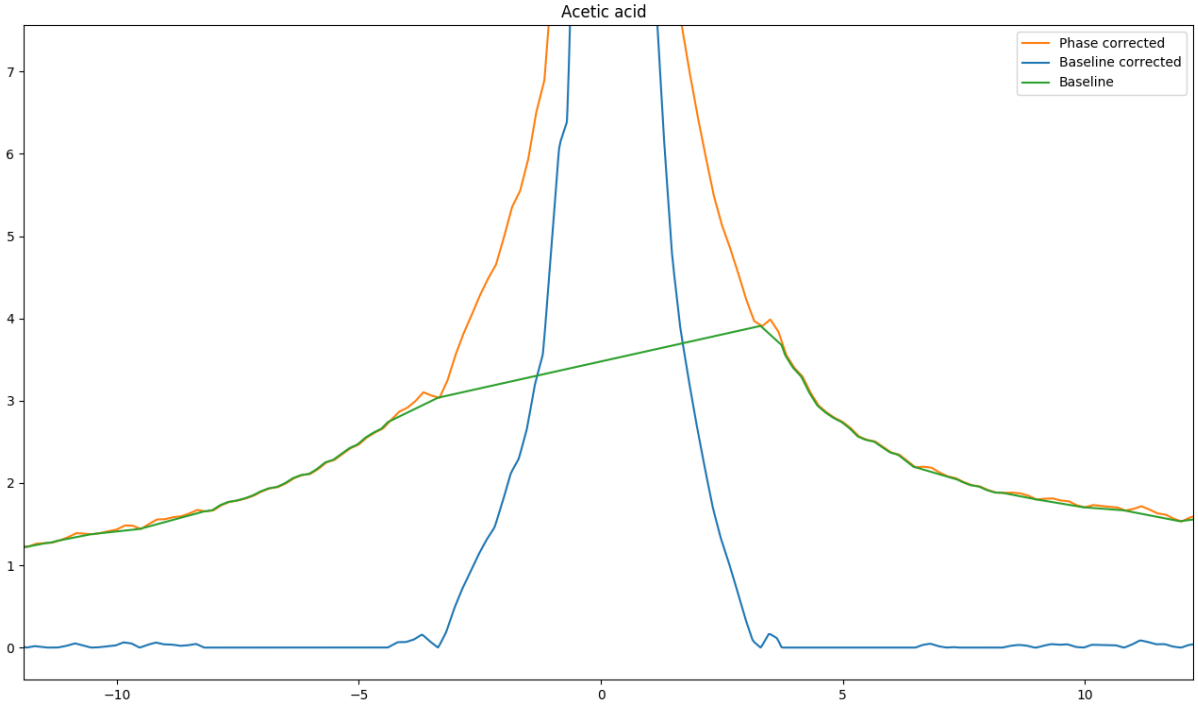

Рис. 5 — Компенсация базовой линии

Дополнительно, для упрощения анализа удаляется спектральная линия, так, как она не несёт с в себе полезной (в рамках исследования) информации, но усложняет последующие алгоритмы. Так как спектральная линия представлена пиком наибольшей амплитуды с вершиной на частоте $F_0 = 0$ Гц и не имеет внутренних пиков, достаточно вновь найти множество корней λ уравнения $\frac{\partial A}{\partial F} = 0$ и выбрать из них пару корней λ_1, λ_2 с наименьшими абсолютными значениями, но имеющих разные знаки. Далее, приравнять все промежуточные точки спектра к нулю: $A(\rho) = 0$, $\rho \in [\lambda_1; \lambda_2]$. В результате остаются только несущие информацию сателлиты и пики, порождённые шумом (рис. 6).

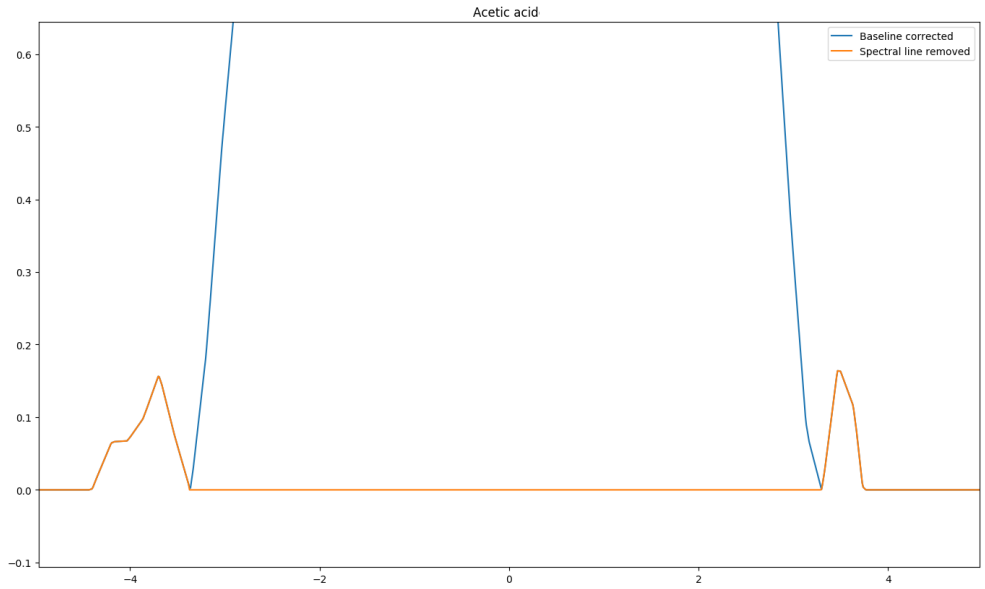

Рис. 6 — Удаление главной спектральной линии

2.4 Анализ

Получив удобную для работы репрезентацию спектра, можно приступать к анализу спектра, цель которого, в рамках проекта, сводится к измерению расстояний между пиками сателлитов. Однако, для большинства спектров на этом этапе возникают две проблемы:

1. шум хоть и уменьшен на предыдущих шагах, но всё ещё сравним по амплитуде с сателлитами;
2. следствием корректировки фазы является частичный сдвиг оси частот, к тому же он по большей части неоднороден, что исключает возможность простого выравнивания.

Для решения первой проблемы было решено ввести весовую функцию $w(k)$, на которую домножается получившийся спектр. Подход основывается на знании, что искомые пики:

1. симметричны относительно нуля (с погрешностью);
2. чем меньше сумма модулей положений пары пиков - тем выше их амплитуда;
3. чем больше сумма модулей положений пиков сателлитов - тем больше будет расстояние между ними и последующими (по направлению удаления от нуля).

Из первого и второго пунктов следует, что $w(k)$ должна быть симметрична относительно нуля и затухать отдаляясь от него. Эмпирическим методом была

получена следующая весовая функция, имеющая максимум в точке (0, 1) и равная нулю в крайних точках спектра: $w(k) = \max[0, \cos\frac{k\pi}{F_{\max}} \cdot (1 - \frac{|k|}{F_{\max}})]$. Данная функция, а также результат её применения представлены на рис. 7.

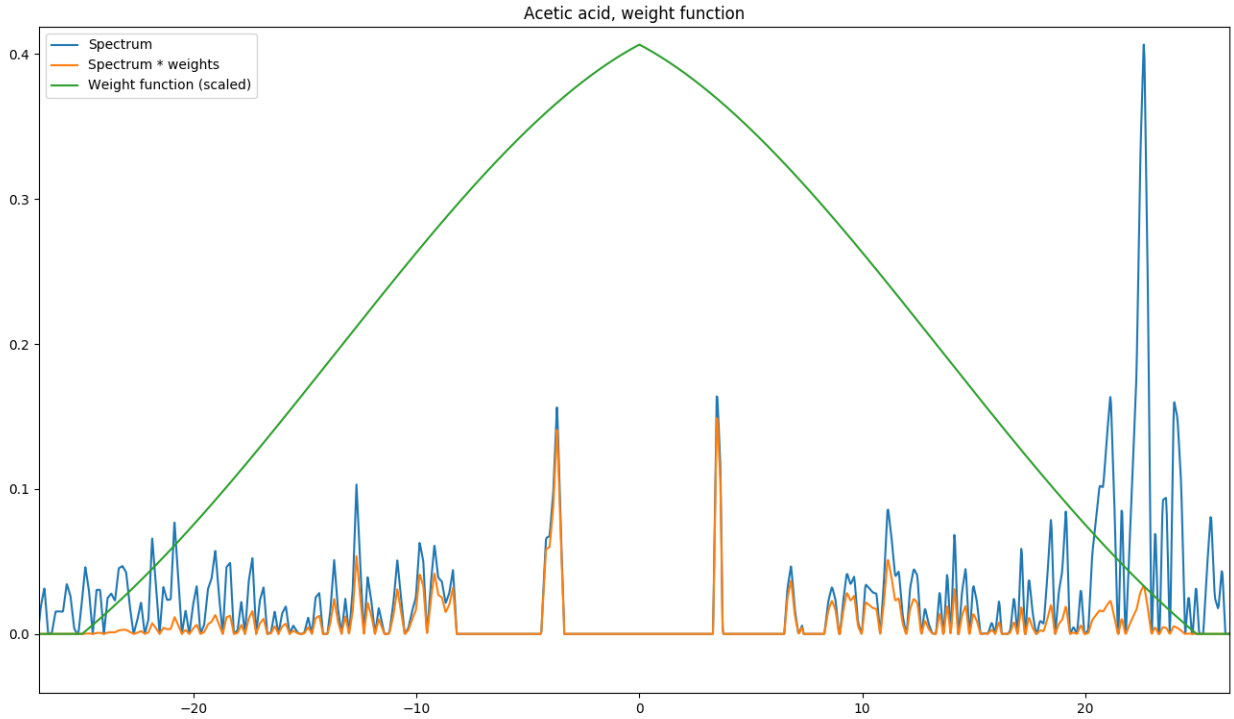

Рис. 7 — Применение весовой функции

Для непосредственного поиска и выборки пиков следует определить четыре константы: N - число первично находимых пиков, S - максимальная допустимая разница модулей точек двух предположительно симметричных пиков, P - минимальное линейное расстояние между двумя пиками одного знака для двух пар (защита от шума), W - размер окна поиска для выравнивания координат пиков на оригинальном и обработанном спектре. Оптимальные значения указаных констант были статистически подобраны как $\begin{cases} N = 8 \\ S = P = 1.9\ Hz. \\ W = 2.7\ Hz \end{cases}$

На обработанном спектре необходимо найти все положительные пики, отсортировать их по возрастанию модуля соответствующих им частот и взять N первых, затем, для каждого из полученных пиков выполнить следующий алгоритм:

1. пусть, f - частота рассматриваемого пика;

2. взять выборку ϑ массива значений изначального спектра A_0 так, что $\vartheta = [A_0(m_1), \ldots, A_0(m_n)]$, $m \in [f - W; f + W]$;
3. для производной (градиента) ϑ' найти частоту, соответствующую точке, где модуль ϑ' минимален;
4. полученная частота перезаписывает собой частоту рассматриваемого пика.

Далее, необходимо отсеять все пики, не имеющие пары, такой что её частота противоположна по знаку и разница модулей их частот не превышает S. Расстояния между оставшимися парами пиков будут являться константами КССВ.

---

3. Определение структуры сканируемой молекулы

Практической задачей исследования является определение структуры молекулы основываясь на полученных данных. Для этого можно выделить два подхода: аналитический и накопительный. Первый заключается в математическом подборе молекулы, создающей наиболее схожий с рассматриваемым спектр, основываясь на имеющихся данных и форме спектра. Второй подход основывается на выделении ряда признаков и отличительных черт спектра в числовом виде, с последующим сравнением их с заранее сформированной базой известных веществ. Он представлен в двух версиях в зависимости от условий.

Первый из них сводится к накоплению базы наборов скалярных параметров для известных молекул и наиболее оптимален для случаев с большим разнообразием непохожих (с точки зрения спектров) молекул. Для последующего распознавания выделяются следующие параметры: количество найденых пар пиков, массив частот, состоящий из отсортированных по модулю местоположений найденых J-coupling пиков, а также массив отношений их амплитуд к амплитуде спектральной линии. Полученный массив записывается в базу данных (в проекте используется SQLite3) и ассоциируется с названием молекулы. Далее, после накопления достаточной базы молекул, обучается модель на методе опорных векторов SVC, используемая для последующего распознавания неизвестной молекулы.

Другой подход может быть применён в случае плохого качества записей или при большом количества похожих молекул. Необходимо выделить такое окно-маску вокруг найденого пика, что в его крайних точках будут находится локальные минимумы. Далее, с помощью метода наименьших квадратов найти k - уровень совпадения рассматриваемого пика с лоренцианой, описанной в пункте *2.2.3*. В данном методе в базу записываются следующие параметры для каждого пика: точки начала и конца выделенного окна, k и отношение максимальной амплитуды внутри окна к амплитуде спектральной линии. Данный набор параметров также ассоциируется с некоторой молекулой. При добавлении данных другой записи аналогичной молекулы, следует перезаписать вышеуказанные данные как среднее между ними и новыми данными. Для определения заранее неизвестной молекулы, необходимо перебрать все ранее записаные маски и выбрать как результат распознавания такую молекулу, что Евклидово расстояние между данными в базе и данными, полученными после применения маски - минимально.

4. Реализация и заключение

В процессе работы над проектом был использован подход двух ветвей разработки: исследовательно-экспериментальная среда и финальное приложение, в которое попадают уже оптимизированные и протестированные алгоритмы.

Первая была реализована на языке программирования Python (v3.6) и использовала технологию Jupyter Lab для упрощения работы и экспериментов. Основными библиотеками стали: NumPy для работы с векторами, SciPy для удобства анализа данных, Plotly для построения графиков во время работы. В данной среде проводилась непосредственно разработка, оптимизация и тестирование всех алгоритмов.

Конечное приложения написано на языке C++20 с использованием библиотек MetalAPI+DearImGUI для реализации графического интерфейса (см. рис. 8-10) и Eigen в роли аналога NumPy. Все алгоритмы полученные в исследовательской среде были переписаны и по возможности векторизованы для ускорения анализа. Помимо этого, часть вычислений была перенаправлена на GPU с помощью OpenCL, т.к. большинство операций применяются ко всему спектру, а значит представляют из себя набор несложных независимых подпрограмм, выполняемых множество раз.

Результатом проекта является программный комплекс для обработки и анализа ЯМР спектров, в частности, с функционалом, позволяющим идентифицировать молекулу по собранной базе. Также, в процессе были разработаны собственные, оптимальные для низкопольных ЯМР спектров алгоритмы накопления сигнала, коррекции фазы и коррекции базовой линии.

5. Литература (неактуальна, но список есть)

1. Исследование и разработка научно-технических решений в области проведения сортировочных операций в режиме реального времени, с объектами, имеющими сложные характеристики, с использованием высокоэффективных робототехнических средств автоматизации. Электронный ресурс. Режим доступа: http://fcpir.ru/upload/iblock/94b/corebofs000080000ldo38um1mqn7hvc_annotation.pdf
2. D. Jirak, S. Wermter Potentials and Limitations of Deep Neural Networks for Cognitive Robots. Электронный ресурс. Режим доступа: https://arxiv.org/pdf/1805.00777.pdf
3. Detection of ArUco Markers. Электронный ресурс. Режим доступа: https://docs.opencv.org/trunk/d5/dae/tutorial_aruco_detection.html, – Проверено 08.01.2020
4. Цветовая модель HSV. Электронный ресурс. Режим доступа: https://en.wikipedia.org/wiki/HSL_and_HSV – Проверено 08.01.2020.
5. Ле Мань Ха Свёрточная нейронная сеть для решения задачи классификации // ТРУДЫ МФТИ. 2016. Том 8, № 3. 2016. — с.91-97
6. ImageNet. Электронный ресурс. Режим доступа: http://image-net.org/index – Проверено 08.01.2020.
7. Матрица ошибок. Электронный ресурс. https://learnmachinelearning.wikia.org/ru/wiki/ Матрица_ошибок_(Confusion_matrix) – Проверено 08.01.2020.
8. R. Berwick, An Idiot’s guide to Support vector machines (SVMs) – с.5-28.
9. SCRA Robot Kinematics. Электронный ресурс. Режим доступа: http://www.deltatau.com/Common/technotes/SCARA%20Robot%20Kinematics.pdf – Проверено 08.01.2020.
10. Вапник В.Н. The nature of statistical learning theory – с.138-176