NMR spectrum analysis

1. Получение спектра

1.1 Загрузка даных

In [1]:
```
import numpy as np
import nmrglue as nmr
```

Содержимое папки `1H`:

In [2]:
```
ls 1H
```

```
1H-0-CDCl3.fid/  1H-2-CDCl3.fid/  1H-4-CDCl3.fid/  README.md
1H-1-CDCl3.fid/  1H-3-CDCl3.fid/  1H-5-CDCl3.fid/  Брутоформулы.txt
```

Брутто-формулы (как видно наша это `C6H12O2` под номером 2):

In [3]:
```
cat 1H/Брутоформулы.txt
```

```
0       C4H8O2
1       C3H6O2
2       C6H12O2
3       C8H8O3
4       C5H10O2
5       C4H10O2
```

In [4]:
```
# nmrglue.variant.read() принимает папку, а не файл
metadata, signal = nmr.varian.read("1H/1H-2-CDCl3.fid")
type(metadata), type(signal)
```

Out[4]:
```
(dict, numpy.ndarray)
```

Метаданые это большой словарь с нечитаемыми полями:

In [5]:
```
metadata.keys()
```

Out[5]:
```
dict_keys(['nblocks', 'ntraces', 'np', 'ebytes', 'tbytes', 'bbytes', 'vers_id', 'sta
tus', 'nbheaders', 'S_DATA', 'S_SPEC', 'S_32', 'S_FLOAT', 'S_COMPLEX', 'S_HYPERCOMPL
EX', 'S_ACQPAR', 'S_SECND', 'S_TRANSF', 'S_NP', 'S_NF', 'S_NI', 'S_NI2', 'procpar'])
```

Описания полей можно найти только в документации производителя (и то не факт, что это открытая информация), `nmrglue` к большому сожалению их не приводит. В нём существует функция `guess_udic`, которая экстрагирует наиболее важные значения и представляет в формате, описываемой документацией `nmrglue`. К сожалению, у меня не получилось заставить её работать с этими данными

К счастью, нам сообщили названия нужных нам полей:

In [6]:
```
# [key for key in metadata["procpar"].keys() if "fr" in key]
```

In [7]:
```
nu_0 = float(metadata["procpar"]["sfrq"]['values'][0]) * 1e6 # 500 MHz = nu_0
nu_0
```

Out[7]:
```
499853183.7
```

In [8]:
```
signal_t = float(metadata["procpar"]["at"]["values"][0]) # Signal recording time, sec
signal_t
```

Out[8]:
```
2.9999424
```

Сигнал это простой одномерный массив *комплексных* чисел:

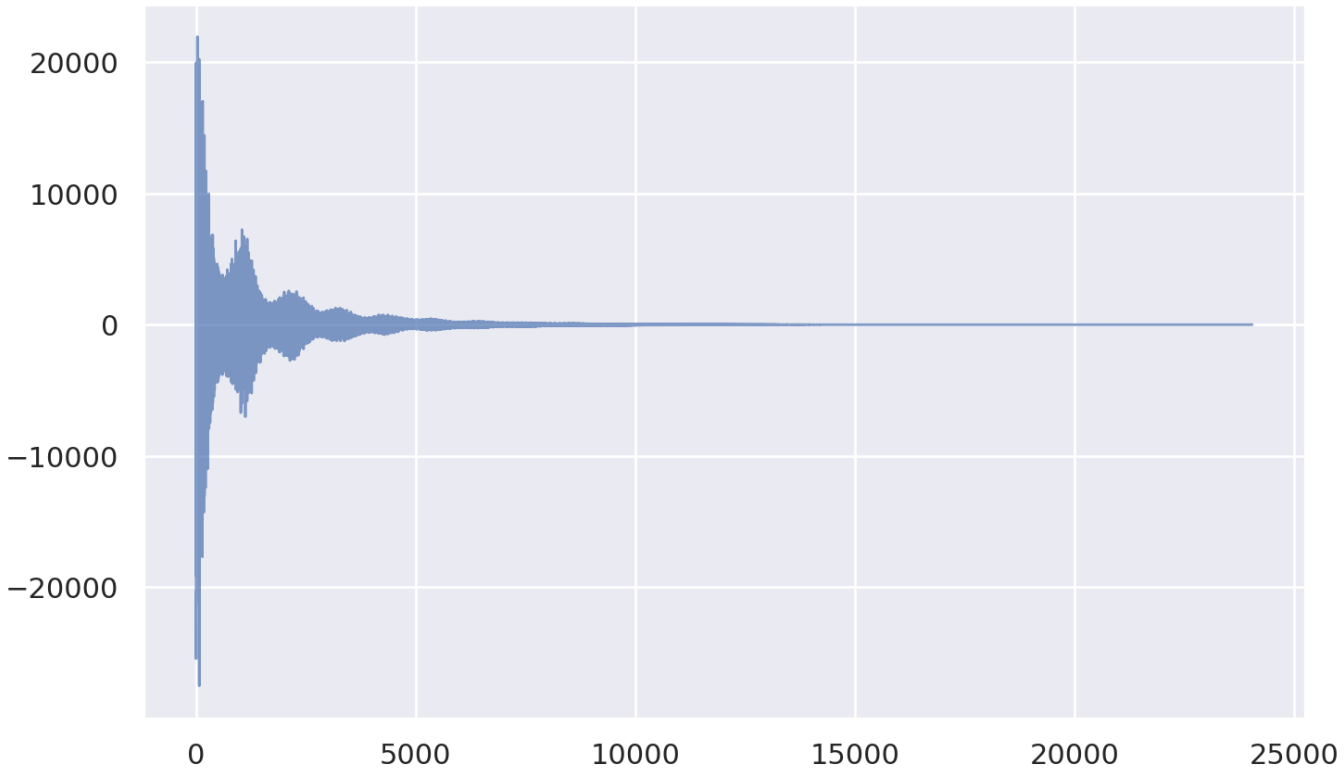
In [9]:
```
signal.shape, signal.dtype
```

Out[9]:
```
((24038,), dtype('complex64'))
```

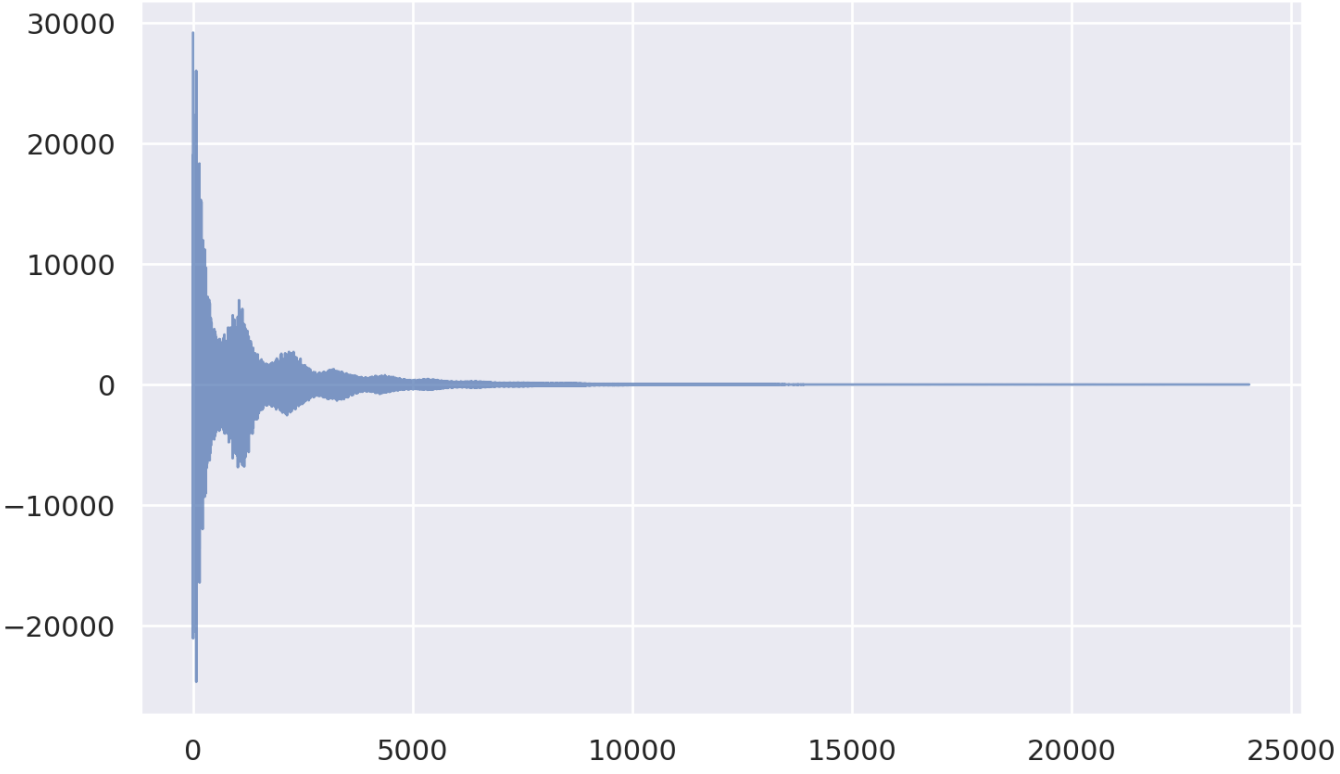
1.2 Необработанный сигнал

In [10]:
```
import matplotlib
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns

scale = 5
ratio = (1 + 5 ** 0.5) / 2
matplotlib.rcParams["figure.figsize"] = scale * ratio, scale
%config InlineBackend.figure_format='retina'

sns.set()
```

In [11]:
```
plt.plot(signal.real, label="Re", linewidth=1, alpha=0.7);
```

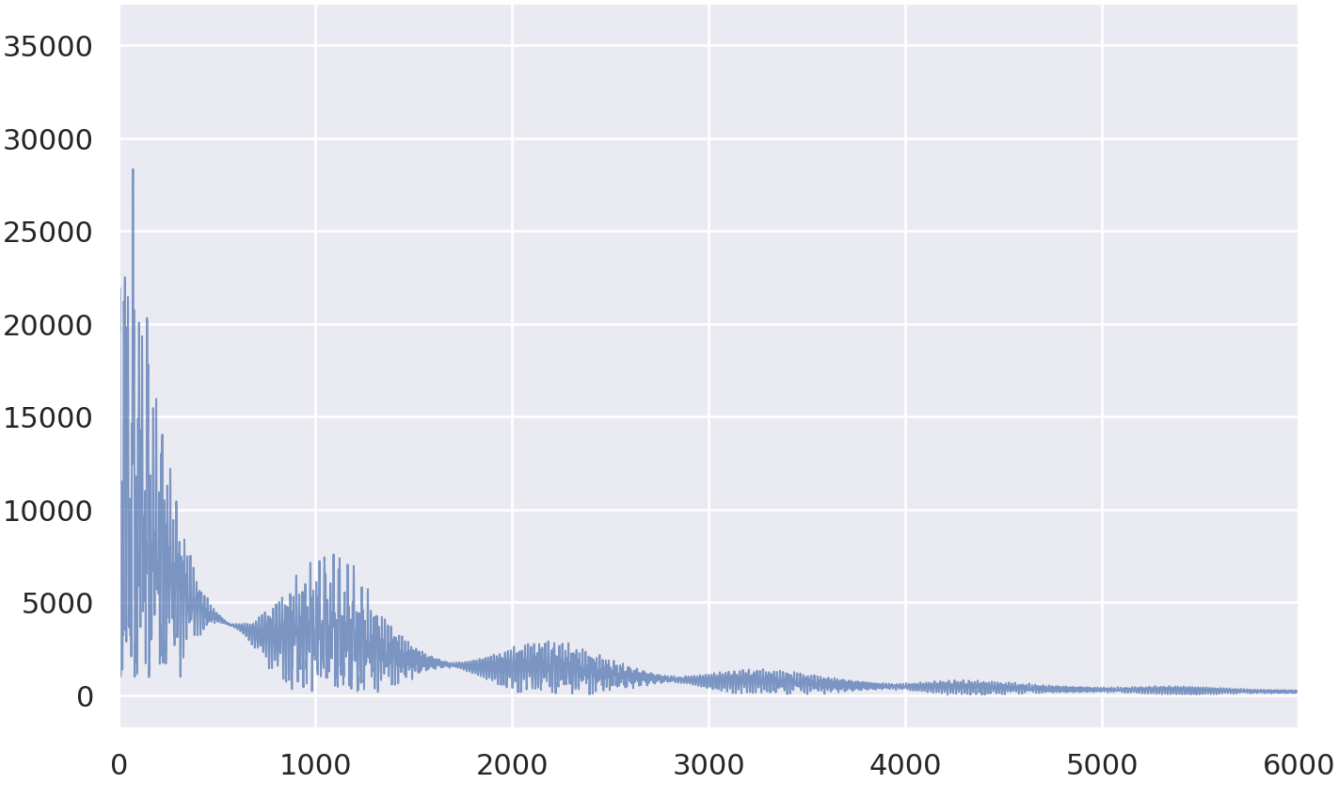


In [12]:
```
plt.plot(signal.imag, linewidth=1, alpha=0.7);
```



Мнимые и действительные части очень похожи. Также после 10000 временных единиц график не отличается от нуля

In [13]:
```
plt.plot(np.abs(signal), linewidth=.7, alpha=0.7)
plt.xlim(0, 6000);
```

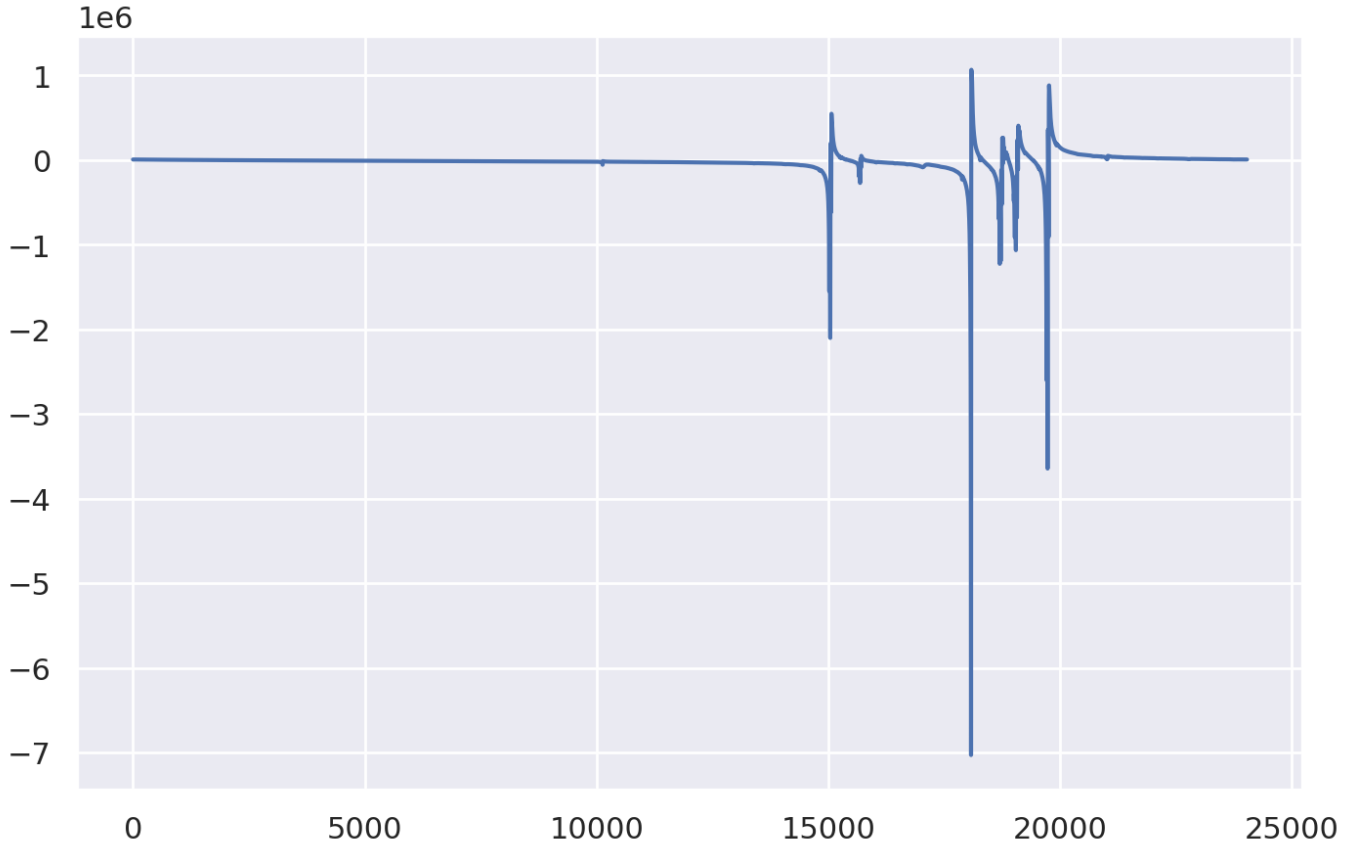


1.3 Необработанный спектр

Спектр можно получить ппременив преобразование Фурье к сигналу:

In [14]:
```
spectrum = nmr.process.proc_base.fft(signal)
```

In [15]:
```
plt.plot(spectrum.real);
```



Чтобы соотнести номер точки и соответствующую ей частоту, достаточно знать полное время регистрации сигнала (и детали реализации пребразования):

In [16]:
```
spectrum_max_Hz = (signal.shape[0] - 1) / signal_t
spectrum_max_Hz
```

Out[16]:
```
8012.487173087056
```

In [17]:
```
spectrum_Hz = np.linspace(0, spectrum_max_Hz, signal.shape[0])
```

2. Обработка спектра

2.1 Коррекция фазы

2.1.a Встроенная ручная коррекция фазы

Коррекция фазы в ручном режиме встроенной функцией:

In [18]:
```
nmr.process.proc_autophase.manual_ps(spectrum, notebook=True)
```

```
interactive(children=(FloatSlider(value=-0.0015926535897929917, description='phcorr0',
max=3.141592653589793, …
```

Низкая скорость ответа никуда не годится, поэтому приведём гораздо более функциональный вариант.

2.1.b Ручная коррекция фазы

Для создание минимального UI будем пользоваться виджетами Jupyter-a. Возможно они требуют установки отдельной библиотеки, возможно она уже установилась при установки самого Juputer

In [19]:
```
import ipywidgets as widgets
```

Ввод коэффициентов для коррекции фазы:

In [20]:
```
p0_slider = widgets.FloatSlider(
    value=-110,
    min=-180,
    max=180,
    step=.5,
)
p0_input = widgets.FloatText(
    value=-110,
    min=-180,
    max=180,
    step=.5,
)
p0_label = widgets.Label(value="Zero order phase $\\;p_0$, degrees:")


link = widgets.link((p0_slider, 'value'), (p0_input, 'value'))

p0_block = widgets.VBox([p0_label, p0_slider, p0_input])
```

In [21]:
```
p1_slider = widgets.FloatSlider(
    min=-180,
    max=180,
    step=.5,
)
p1_input = widgets.FloatText(
    value=0,
    min=-180,
    max=180,
    step=.5,
)
p1_label = widgets.Label(value="First order phase $\\;p_1$, degrees:")


link = widgets.link((p1_slider, 'value'), (p1_input, 'value'))

p1_block = widgets.VBox([p1_label, p1_slider, p1_input])
```

In [22]:
```
phase_correction = widgets.HBox([
    p0_block,
    p1_block
])
```

Дополнительные параметры

In [23]:
```
logscale = widgets.Checkbox(
    description="Use logscale for y axis (experimental)",
    value=False,
    indent=False,
)

subsampling = widgets.Checkbox(
    description="Operate on every 5th point",
    value=False,
    indent=False,
)

fit_y = widgets.Button(
    description="Fit y axis limits",
)
```

```
double_x = widgets.Button(
    description="Expand x axis limits",
    layout=widgets.Layout(width='auto')
)

options = widgets.VBox([
    subsampling,
    logscale,
    widgets.HBox([fit_y, double_x]),
])
```

Общий блок с виджетами:

In [24]:
```
controls = widgets.Tab(
    children=[phase_correction, options],
    titles=["Phase correction", "Options"]
)
```

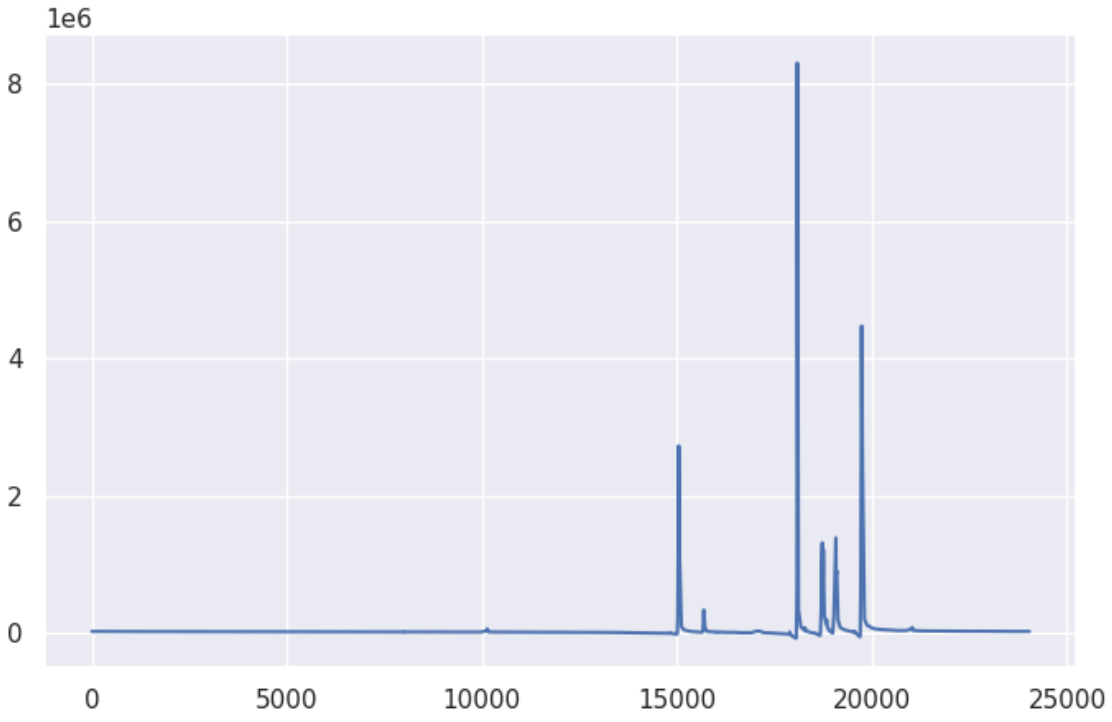
Чтобы получить быстрое обновление графиков (и бонусом навигацию), заменим бэкенд `matplotlib` на `ipyml`. Чтобы это можно было сделать, нужно установить библиотеку с таким же названием.

In [25]:
```
%matplotlib ipympl

matplotlib.style.use('fast') # Could theoretically speed up rendering

if 'figure' in globals():
    # With ipympl you have to manually close previous figures,
    # even from previous runs of the same cell
    plt.close(figure)

figure = plt.figure()
line, = plt.plot(nmr.proc_base.ps(spectrum, p0_slider.value, p1_slider.value).real)
xrange = np.arange(spectrum.shape[0])

xrange_subsampled = xrange[::5]
spectrum_subsampled = spectrum[::5]

last_phased_spectrum = np.array([])
last_xrange = np.array([])

def update_ylims(button_clicked):
    x_min, x_max = plt.xlim()
    visible_spectrum = last_phased_spectrum[
        (x_min <= last_xrange) & (last_xrange <= x_max)
    ]
    y_min, y_max = visible_spectrum.min(), visible_spectrum.max()
    yrange = y_max - y_min
    plt.ylim(y_min - 0.1 * yrange, y_max + 0.1 * yrange)

fit_y.on_click(update_ylims)

x_min_min, x_max_max = plt.xlim()

def double_x_range(button_clicked):
    x_min, x_max = plt.xlim()
    x_range = x_max - x_min
    new_x_min = max(x_min_min, x_min - 0.5 * x_range)
    new_x_max = min(x_max_max, x_max + 0.5 * x_range)
    plt.xlim(new_x_min, new_x_max)
    update_ylims(button_clicked)

double_x.on_click(double_x_range)
```

```
def redraw_spectrum(p0, p1, subsampling, logscale):
    xrange_ = xrange if not subsampling else xrange_subsampled
    spectrum_ = spectrum if not subsampling else spectrum_subsampled

    phased_spectrum = nmr.proc_base.ps(spectrum_, p0, p1).real

    if logscale:
        xrange_ = xrange_[phased_spectrum > 0]
        phased_spectrum = np.log(phased_spectrum[phased_spectrum > 0])

    line.set_data(xrange_, phased_spectrum)

    figure.canvas.draw()
    figure.canvas.flush_events() # Probably not needed

    global last_phased_spectrum, last_xrange
    last_phased_spectrum = phased_spectrum
    last_xrange = xrange_

out = widgets.interactive_output(
    redraw_spectrum,
    {
        'p0': p0_slider,
        'p1': p1_slider,
        'subsampling': subsampling,
        'logscale': logscale,
    }
)

widgets.VBox([controls, out])
```

Out[25]:
```
VBox(children=(Tab(children=(HBox(children=(VBox(children=(Label(value='Zero order p
hase $\\;p_0$, degrees:'),…
```

Figure



Значения только что подобранных вручную коэффициентов:

In [26]:
```
p_manual = (p0_slider.value, p1_slider.value)
p_manual
```

Out[26]: (-110.0, 0.0)

Интерактивный бекэнд может быть не очень удобен, вернёмся к обычному

2.1.c Автоматическая коррекция фазы

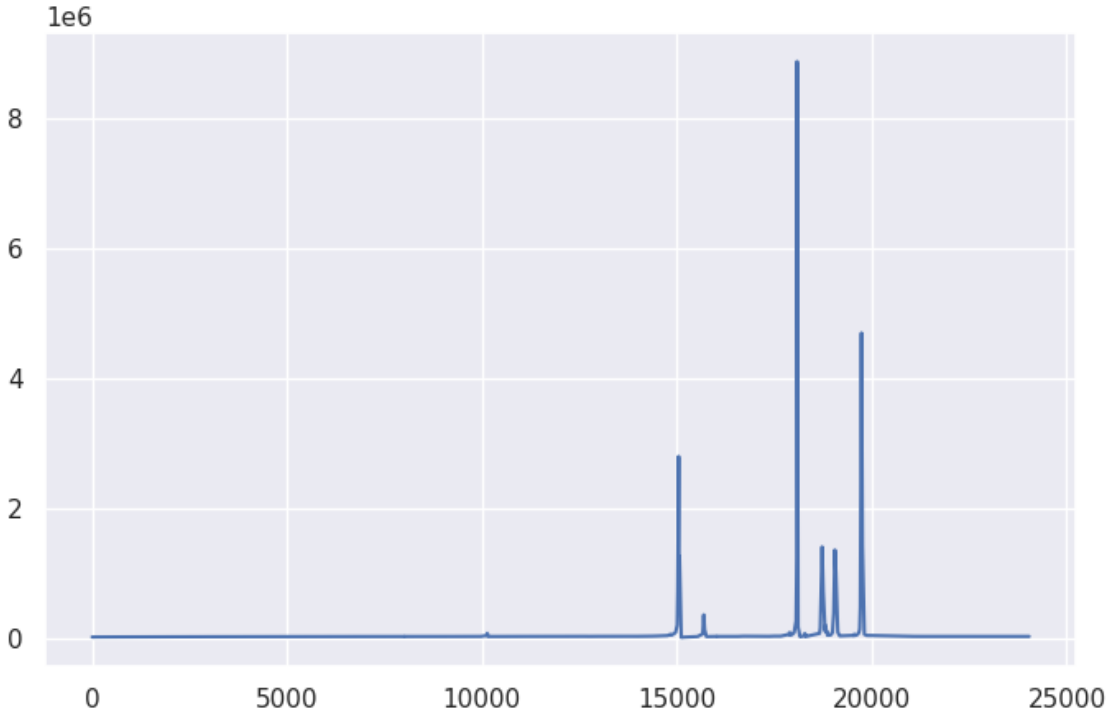
In [27]:
```
_, p_automatic = nmr.process.proc_autophase.autops(spectrum, 'acme', p0=0.0, p1=0.0,

print(f"\nOptimized phases, degrees\n    p0: {p_automatic[0]}\n    p1: {p_automatic[1
```

```
Optimization terminated successfully.
         Current function value: 0.000000
         Iterations: 66
         Function evaluations: 133

Optimized phases, degrees
    p0: -143.38389725979368
    p1: 22.502472648582405
```

In [28]:
```
autophased_spectrum = nmr.proc_base.ps(spectrum, *p_automatic).real
```

In [29]:
```
if 'figure_autophased' in locals():
    plt.close(figure_autophased)

figure_autophased = plt.figure()

plt.plot(autophased_spectrum);
```

Figure



2.1.d Результирующая фаза

In [30]:
```
phase_correction_type = widgets.ToggleButtons(
    options=["Hardcoded", "Manual", "Automatic"]
)

p = (None, None)
p_hardcoded = (-125, 0)
phased_spectrum = []
```

```
out = widgets.Output()

def update_phase_correction_type(phase_correction_type):
    global p, phased_spectrum

    if phase_correction_type == "Manual":
        p = (p0_slider.value, p1_slider.value)
    elif phase_correction_type == "Automatic":
        p = p_automatic
    else:
        p = p_hardcoded

    phased_spectrum = nmr.proc_base.ps(spectrum, *p).real
    print(f"Using '{phase_correction_type}' value for phase correction.")
    print(f"p0: {p[0]:.2f}, p1: {p[1]:.2f}")

out = widgets.interactive_output(
    update_phase_correction_type,
    dict(phase_correction_type=phase_correction_type)
)

widgets.VBox([phase_correction_type, out])
```

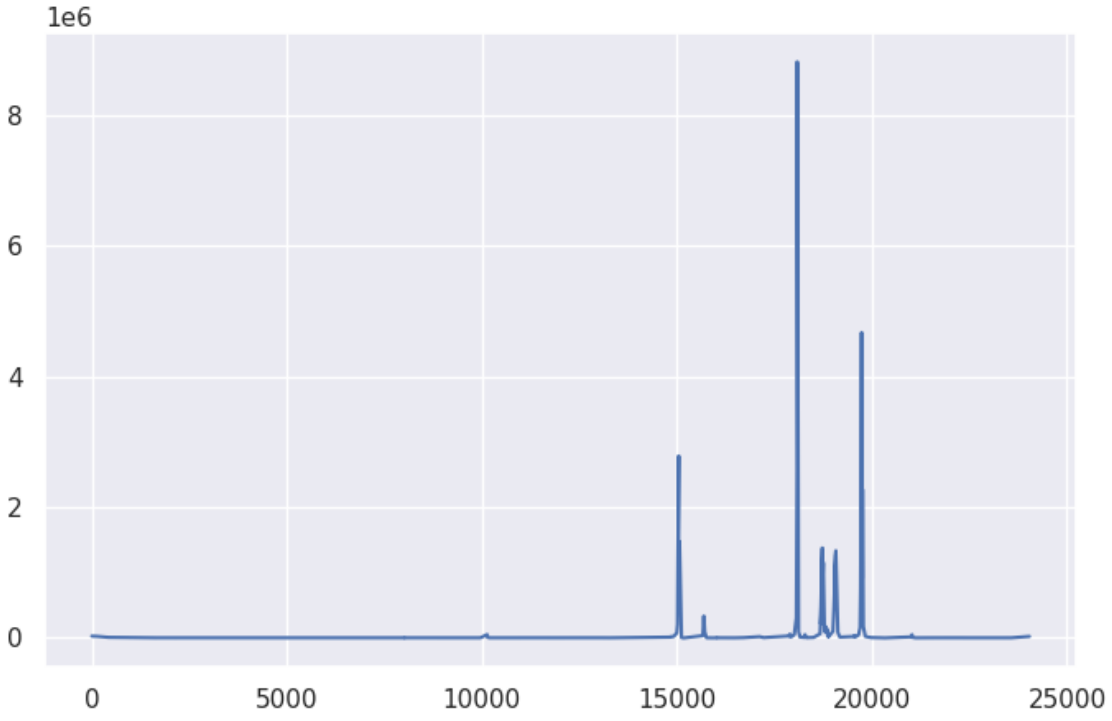
Out[30]:
```
VBox(children=(ToggleButtons(options=('Hardcoded', 'Manual', 'Automatic'), value='Ha
rdcoded'), Output()))
```

2.2 Коррекция базового уровня

Коррекция базового уровня выполняется с помощью функций подмодуля `nmrglue.proc_bl`. К сожалению их документация слишком скудна чтобы понять, как их правильно использовать, поэтому воспользуемся одной из тех, что не требуют обязательных параметров...

In [31]:
```
based_spectrum = nmr.proc_bl.baseline_corrector(phased_spectrum)

if 'figure_baseline' in globals():
    plt.close(figure_baseline)

figure_baseline = plt.figure()

plt.plot(based_spectrum);
```

Figure



Базовая линия действительно улучшилась

2.3 Zero correction

In [32]:
```
chloroform_Hz = spectrum_Hz[10134] # Chloroform peak is located at 10134 (from our spe
chloroform_Hz
```

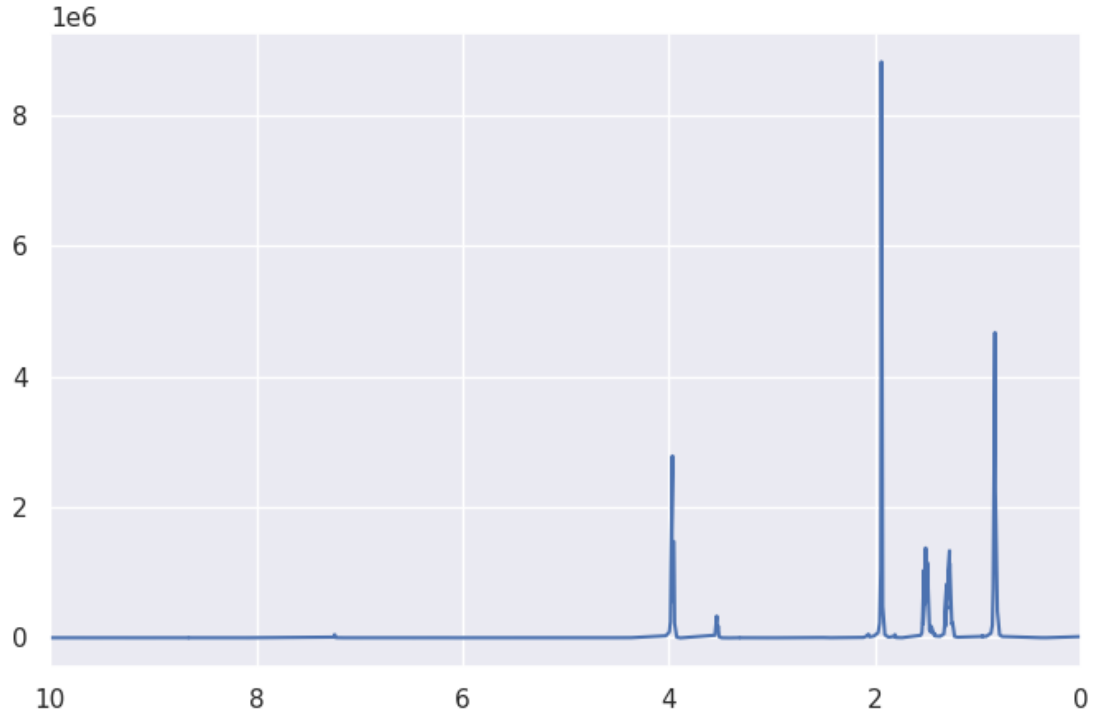
Out[32]:
```
3378.06485884529
```

In [33]:
```
choloform_shift = 7.24 # Known value
```

In [34]:
```
chem_shifts = choloform_shift - (spectrum_Hz - chloroform_Hz) / nu_0 * 1e6
```

In [35]:
```
if 'figure_zero' in globals():
    plt.close(figure_zero)

figure_zero = plt.figure()
plt.xlim(0, 10)
plt.gca().invert_xaxis()

plt.plot(chem_shifts, based_spectrum);
```

Figure



3 Анализ спектров

3.1 Интегрирование пиков

In [36]:
```
peak_x_ranges = [
    (15000, 15100),
    #(15600, 15800),
    (17900, 18300),
    (18600, 18900),
    (18900, 19200),
    (19600, 19900),
]

# Peaks can also be determined automatically:
nmr.analysis.peakpick.pick(based_spectrum, pthres=50000, table=True, algorithm="conne
```

Out[36]:
```
rec.array([(15046., 1, 41.1728444 , 5.89258974e+07),
           (15690., 2, 40.52777177, 5.64456616e+06),
           (17893., 3,  0.        , 5.69264233e+04),
           (18084., 4,  5.11376582, 8.94375513e+07),
           (18727., 5, 52.03812127, 6.82337219e+07),
           (18854., 6,  6.        , 4.13833074e+05),
           (19075., 7, 70.70914333, 6.73099608e+07),
           (19736., 8, 26.4407869 , 1.02809785e+08)],
          dtype=[('X_AXIS', '<f8'), ('cID', '<i8'), ('X_LW', '<f8'), ('VOL', '<f
8')])
```

Автоматическое определение пиков занижает ширину некоторых пиков и даёт ложные срабатывания, поэтому будем использовать размеченные вручную.

Интегрирование пиков будем производить вручную. Хотя `nmrglue` и имеет подмодуль `nmrglue.analysis.integration`, он содержит всего две функции (для одномерного и многомерного интегрирования). По неизвестным причинам он в качестве обязательного параметра принимает `filebaseio.unit_conversion` - объект, предназначенный для

работы с размерностями. При создании напрямую он требует 5 обязательных параметров, которые не хочется искать. Адекватный способ создания в документации приведён, но зависит от формата данных (так как подтягивает эти параметры из метаданных, которые у каждого формата свои). У вариана этой функции нет. Можно сконвертировать в pipe, но эти значения будут заполнены случайно.

Вместо всего это безобразия вызванного незрелостью библиотеки достаточно просто сделать `np.sum()`.

In [37]:
```
peak_integrals = [
    based_spectrum[x_min:x_max].sum()
    for x_min, x_max in peak_x_ranges
]

peak_integrals
```

Out[37]:
```
[58056325.13919005,
 93985694.46787688,
 71620800.39459197,
 70827736.34286395,
 106728405.53075895]
```

In [38]:
```
relative_integrals = peak_integrals / peak_integrals[0]

print(*[f"{value:.2f}" for value in relative_integrals], sep="\n")
```

```
1.00
1.62
1.23
1.22
1.84
```

In [39]:
```
mult = 5
print(*[f"{value:.2f}" for value in relative_integrals * mult], sep="  ")
```

```
5.00  8.09  6.17  6.10  9.19
```

3.2 Расщепления

Ну тут все смогут пик приблизить и посмотреть на него... Правда в нескольких местах действительно неочевидно

Результы/Выводы

ту ту та ту ту то