



Il segnale NMR

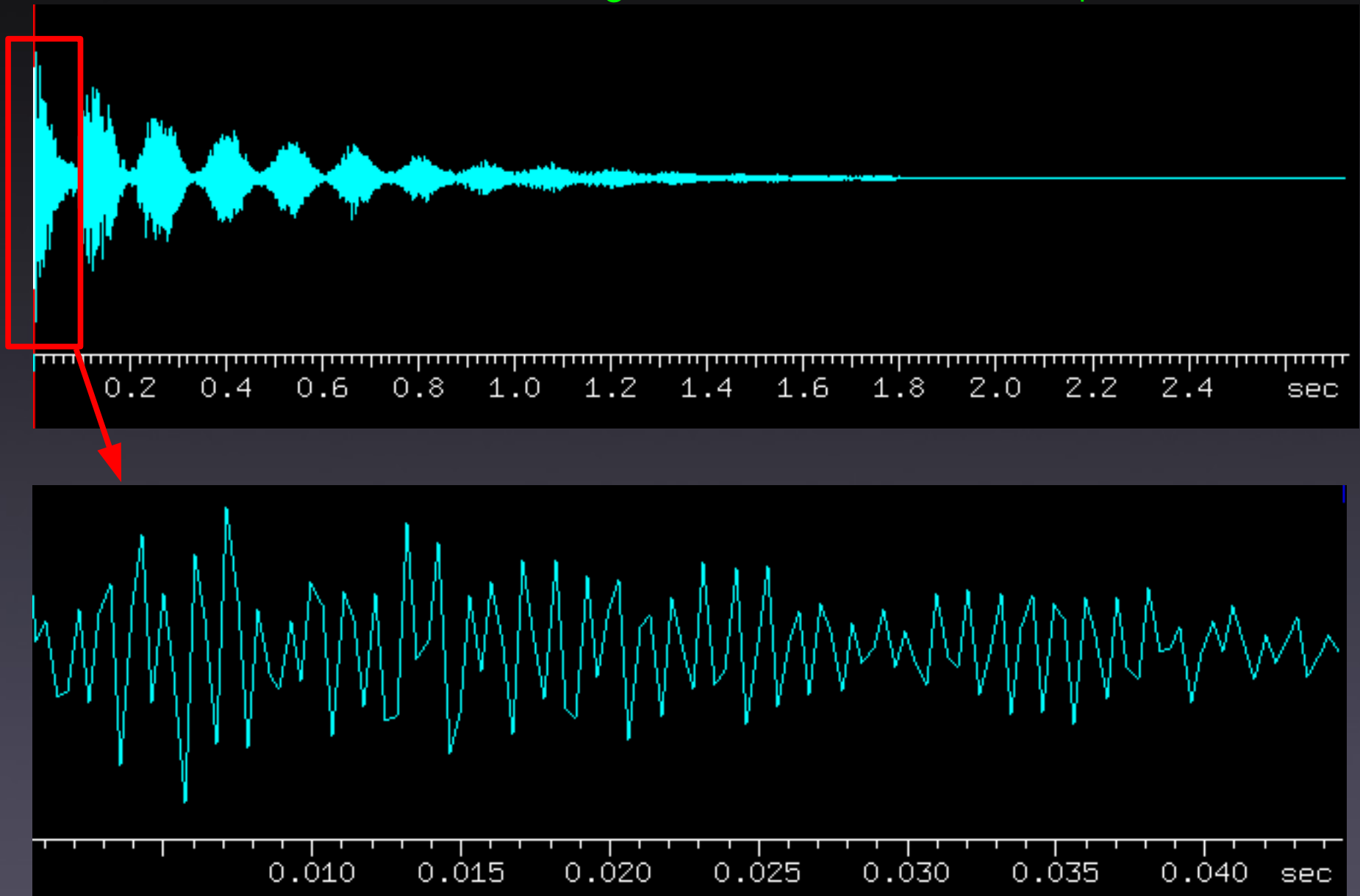
Mauro A. Cremonini – Università di Bologna

mauro.cremonini@unibo.it

FID

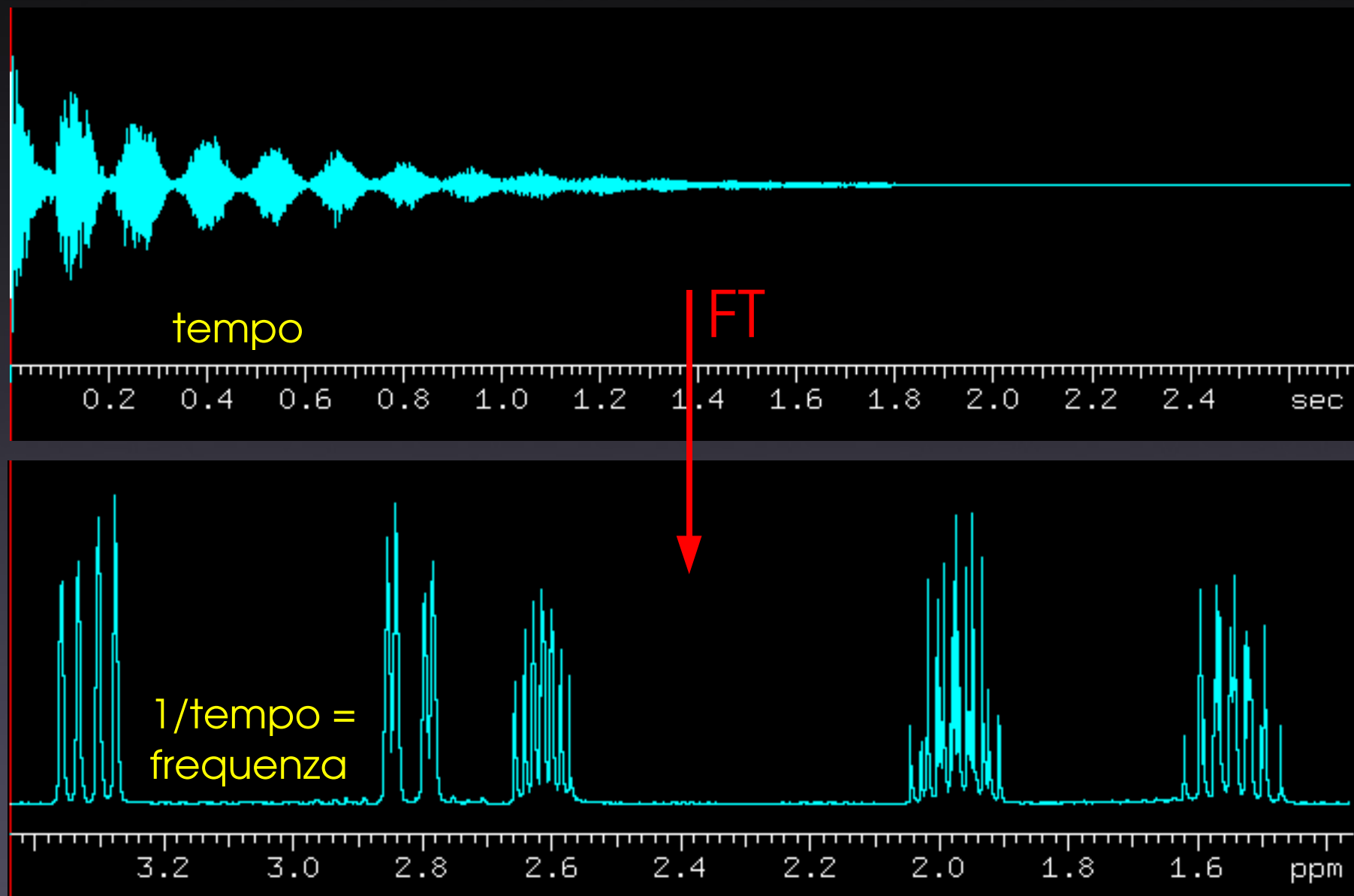
Un FID è un insieme di punti che rappresenta il segnale ottenuto dal campione

E' una sommatoria di segnali smorzati di diversa frequenza



FID

La trasformata di Fourier (FT) della FID fornisce lo spettro



FID

Alcuni problemi da risolvere:

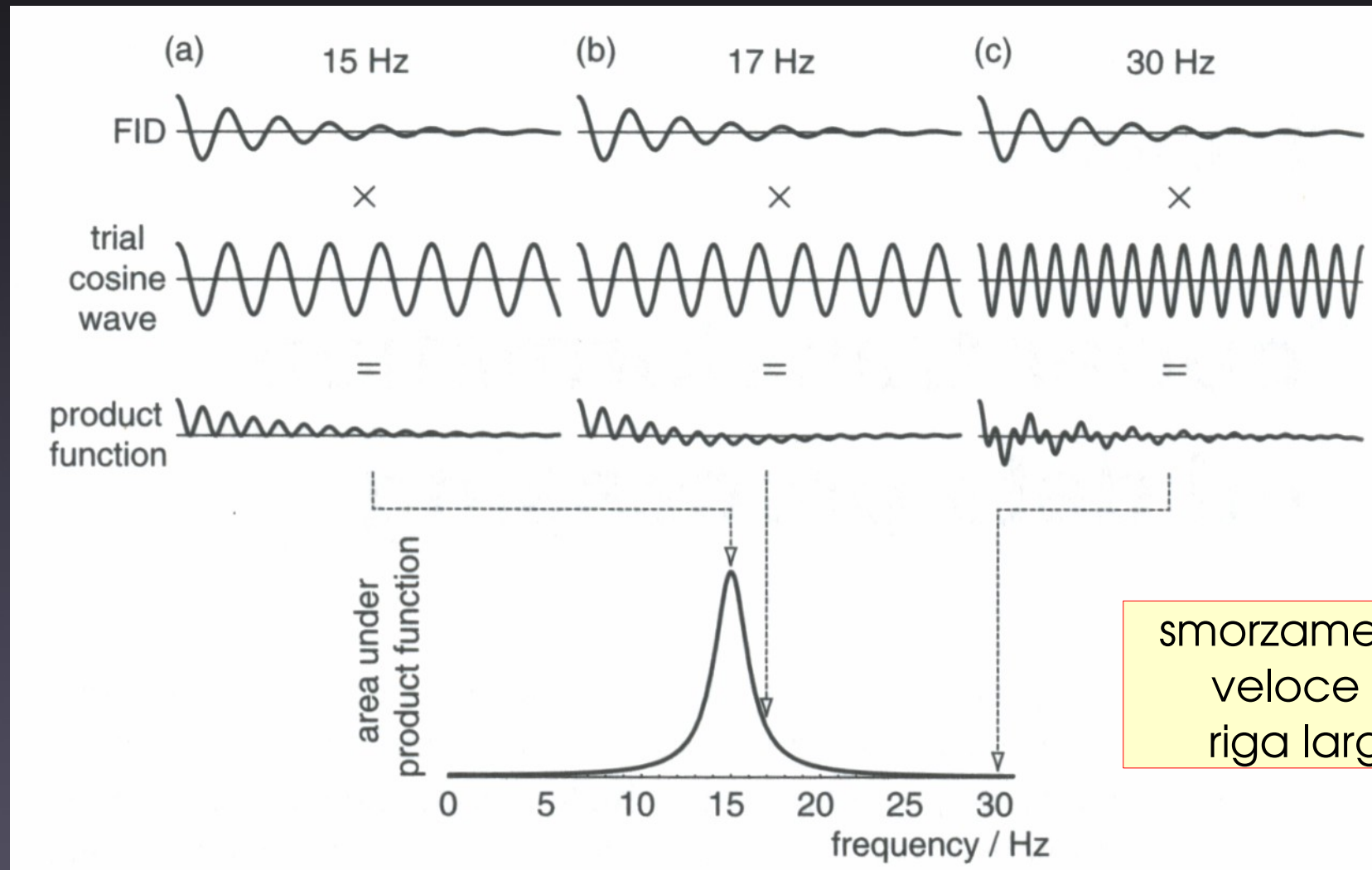
- 1) come funziona la FT? Perché ci fornisce lo spettro?
- 2) che tipo di segnale raccogliere (reale/complesso)?
- 3) come campionare il FID in modo appropriato?
- 4) come estrarre al meglio l'informazione contenuta nel segnale?

Come funziona la FT

ogni oscillazione complessa può essere espressa come somma di seni o di coseni

$$S_{spettro}(f) = \int_0^{+\infty} S_{FID}(t) \cos(2\pi ft) dt$$

in parole povere: l'intensità a f Hz =
area sottesa da FID x $\cos(2\pi ft)$



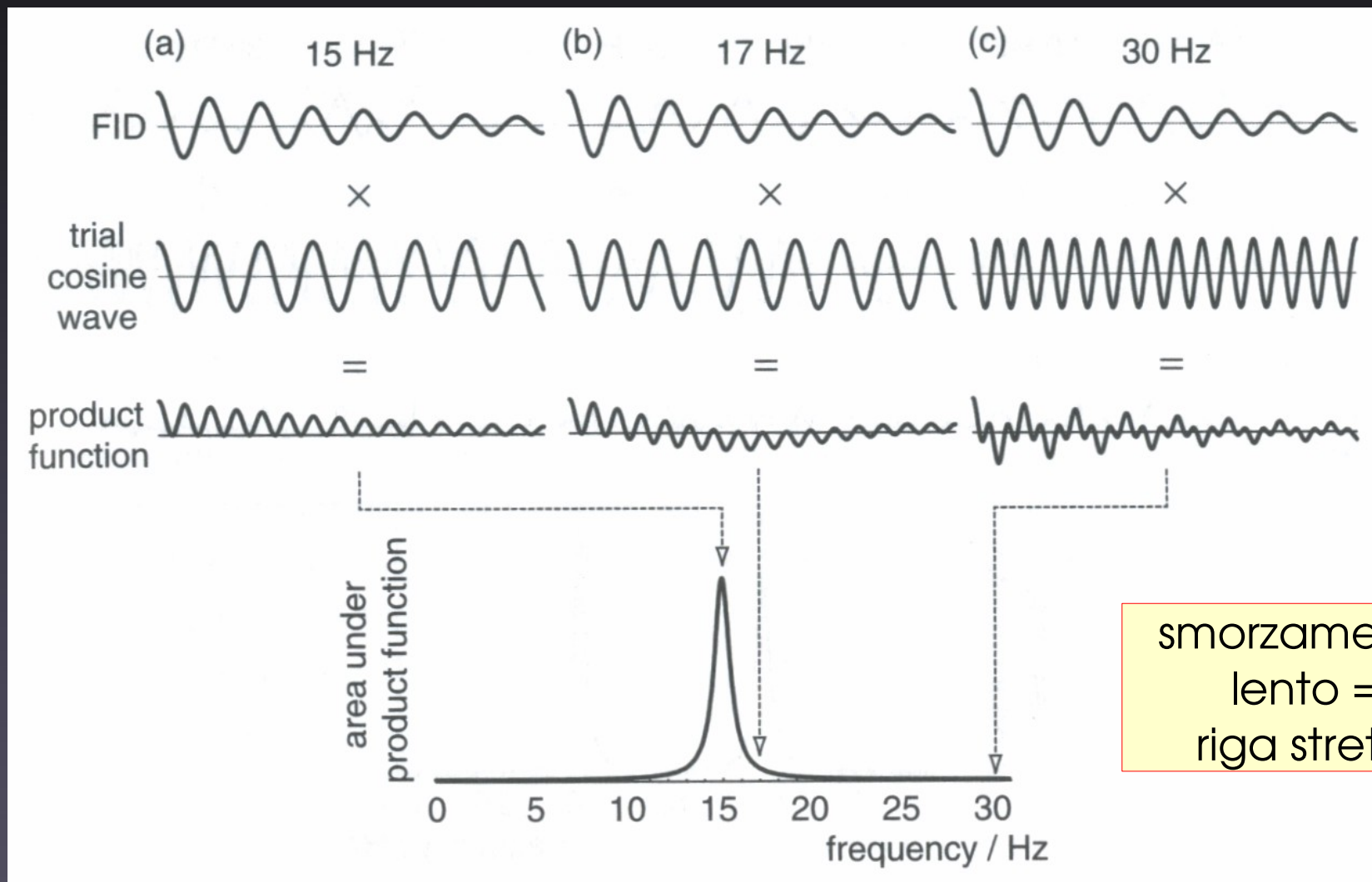
smorzamento
veloce =
riga larga

Come funziona la FT

ogni oscillazione complessa può essere espressa come somma di seni o di coseni

$$S_{spettro}(f) = \int_0^{+\infty} S_{FID}(t) \cos(2\pi ft) dt$$

in parole povere: l'intensità a f Hz =
area sottesa da FID x $\cos(2\pi ft)$



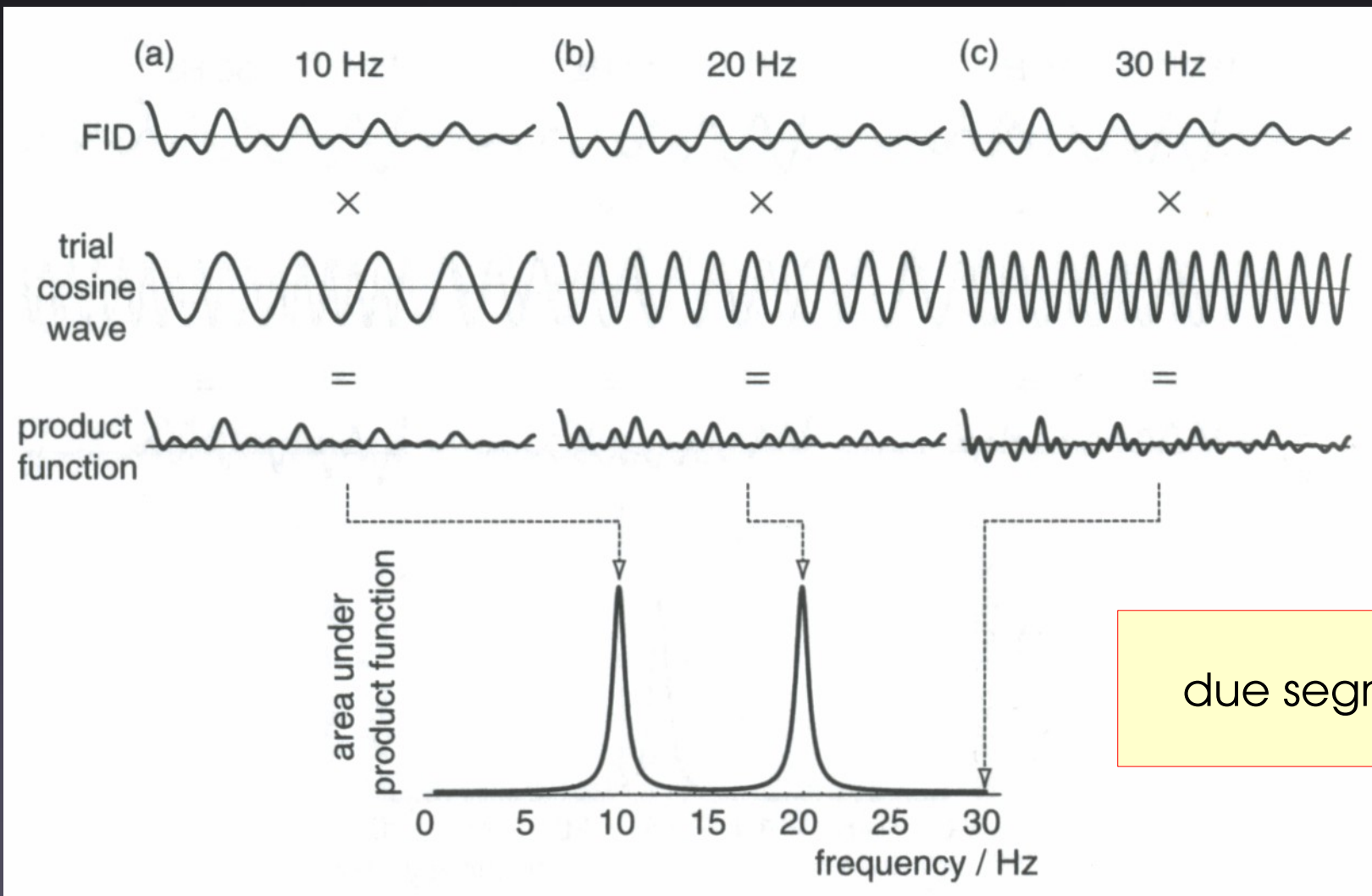
smorzamento
lento =
riga stretta

Come funziona la FT

ogni oscillazione complessa può essere espressa come somma di seni o di coseni

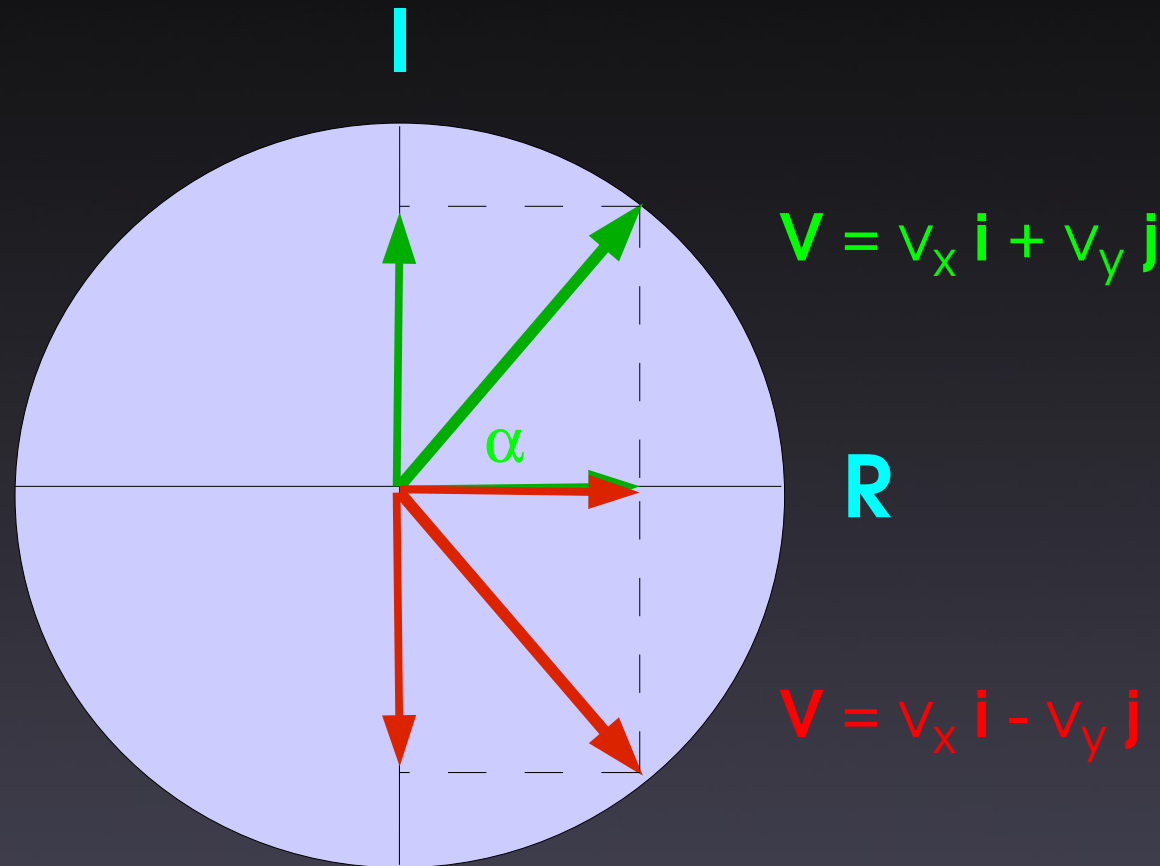
$$S_{spettro}(f) = \int_0^{+\infty} S_{FID}(t) \cos(2\pi ft) dt$$

in parole povere: l'intensità a f Hz =
area sottesa da FID x $\cos(2\pi ft)$



due segnali

Che tipo di segnale raccogliere?

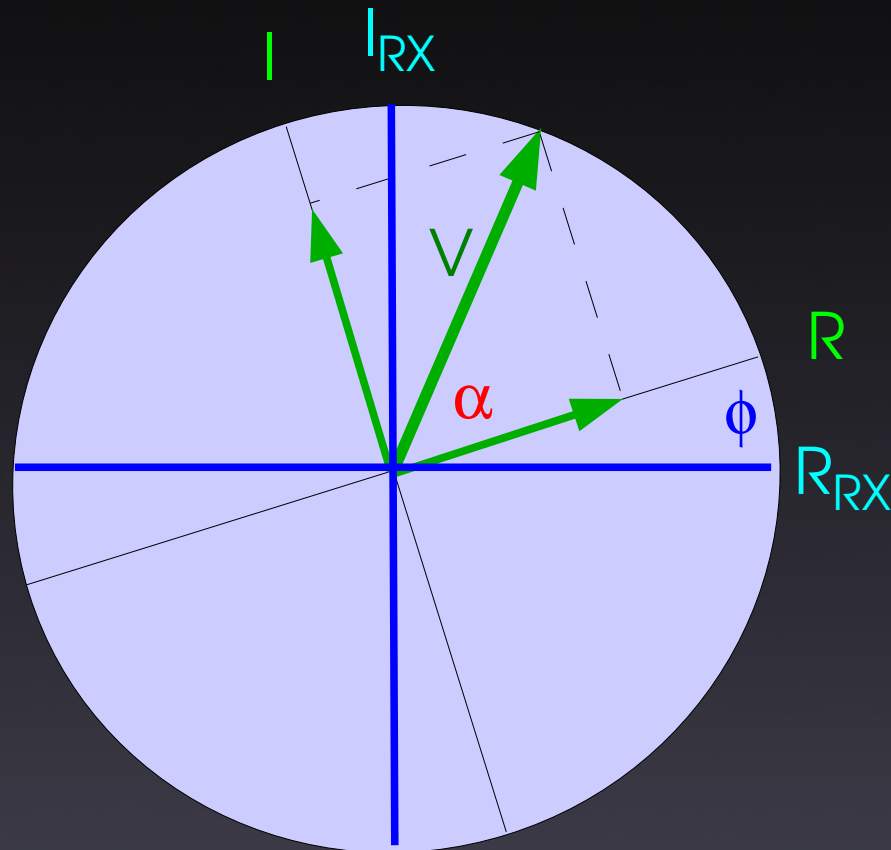


$$v_x = V \cos(\alpha) \quad v_y = V \sin(\alpha) \quad \alpha = 2\pi f t = \omega t$$
$$S_{\text{NMR}} = S_R + i S_I \quad \mathbf{A} e^{i\omega t} e^{-t/T_2} = \mathbf{A} (\cos(\omega t) + i \sin(\omega t)) e^{-t/T_2}$$

SEGNALE COMPLESSO

cosa c'è dentro a \mathbf{A} ?

Se RX e TX non sono esattamente in fase



ϕ
fase di
ordine 0
ph0 (Bruker)
rp (Varian)

$$S_{\text{NMR}}/V = \cos(\alpha+\phi) + i \sin(\alpha+\phi) =$$

$$\cos(\alpha)\cos(\phi) - \sin(\alpha)\sin(\phi) + i(\sin(\alpha)\cos(\phi) + \sin(\phi)\cos(\alpha)) =$$

$$(\cos(\alpha) + i \sin(\alpha))(\cos(\phi) + i \sin(\phi)) = e^{i\alpha} e^{i\phi}$$

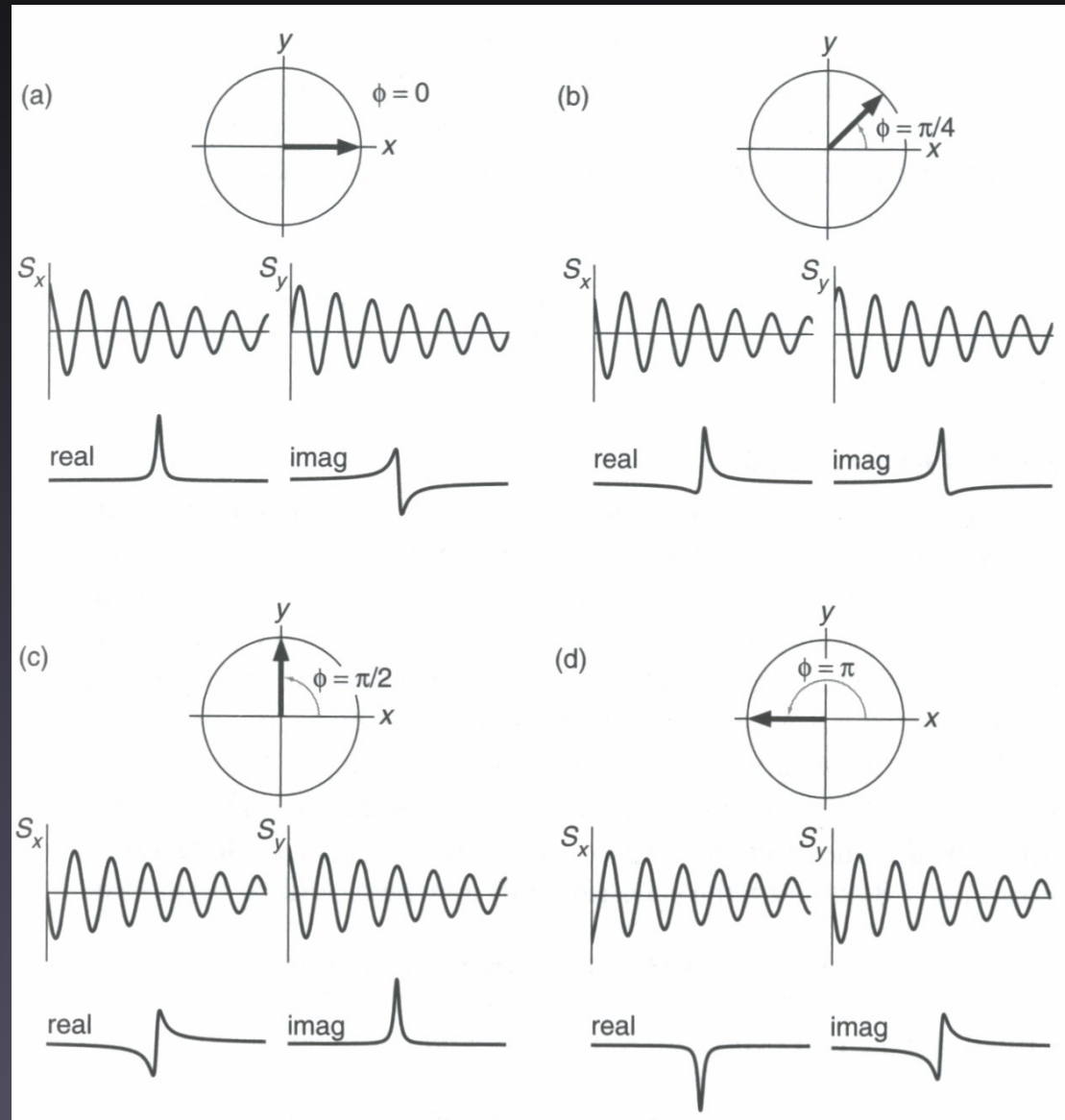
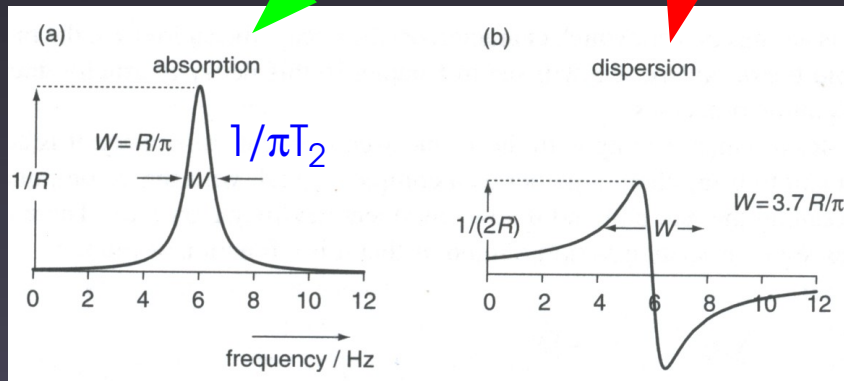
dunque

$$S_{\text{NMR}} = \underbrace{V e^{i\phi}}_A e^{i\omega t} e^{-t/T_2} \text{ o in generale } \sum_i \underbrace{V_i e^{i\phi_i}}_{A_i} e^{i\omega_i t} e^{-t/T_{2i}}$$

FT di un segnale complesso

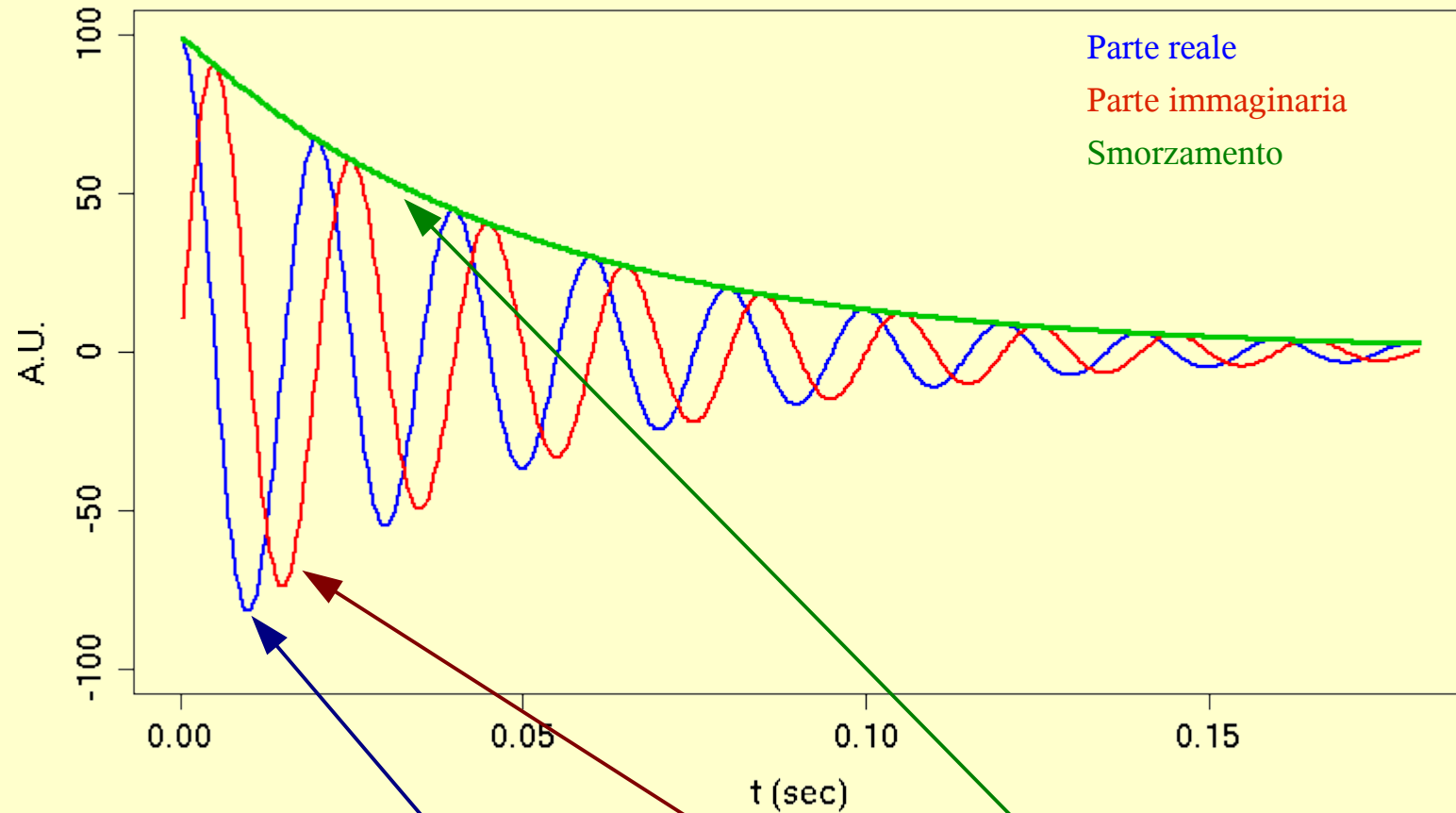
$$S_{spettro}(f) = \int_0^{+\infty} S_{FID}(t) \exp(i 2 \pi f t) dt$$

$$\begin{array}{lcl} S(t) & \xrightarrow{FT} & S(\omega) \\ S_0 \exp(i\Omega t) \exp(-Rt) & \xrightarrow{FT} & \underbrace{\frac{S_0 R}{R^2 + (\omega - \Omega)^2}}_{\text{real}} + i \underbrace{\frac{-S_0(\omega - \Omega)}{R^2 + (\omega - \Omega)^2}}_{\text{imaginary}} \end{array}$$



Come campionare la FID in modo appropriato

Anatomia del FID



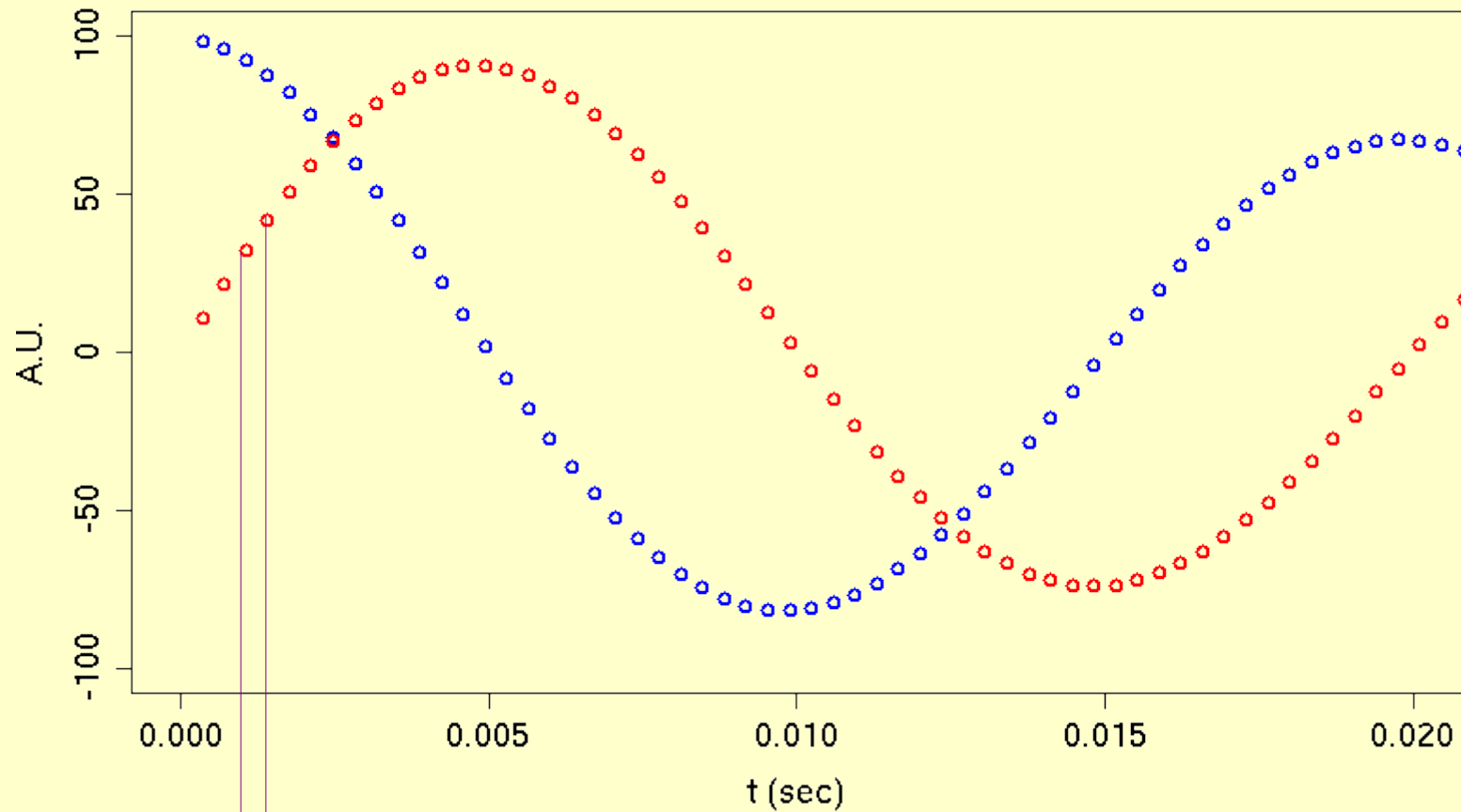
$$FID(t) = I_0 [\cos(2\pi ft + \phi) + i \sin(2\pi ft + \phi)] \exp(-t/T_2^*)$$

$t = DW * n \quad n = 0, 1, 2, \dots$

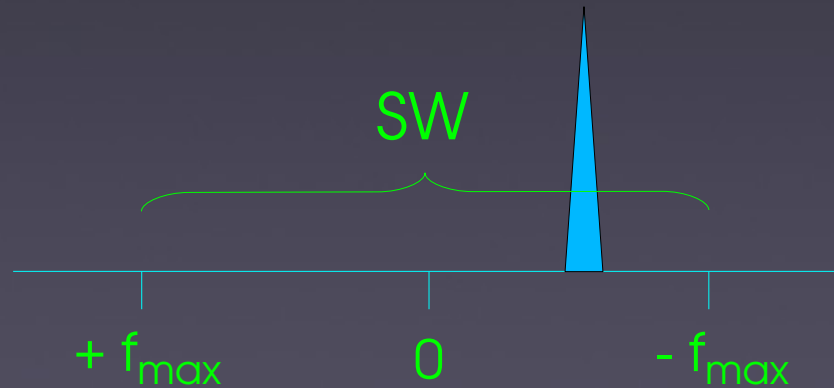
DW (dwell time)

Quindi ingrandendo...

Come campionare la FID in modo appropriato



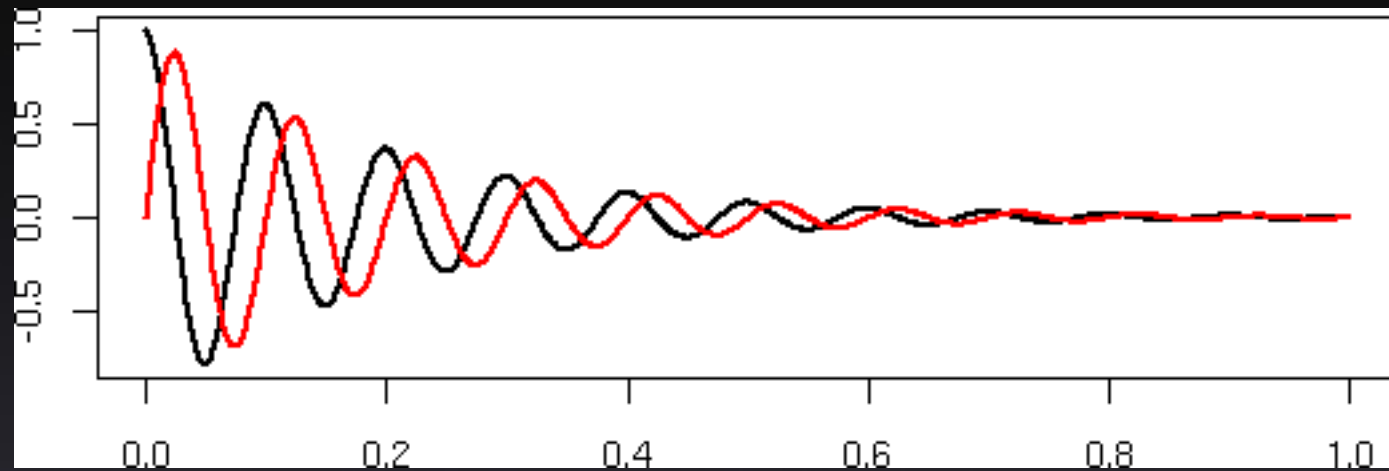
DW (non può essere $>$ di $1/SW$! Nyquist...



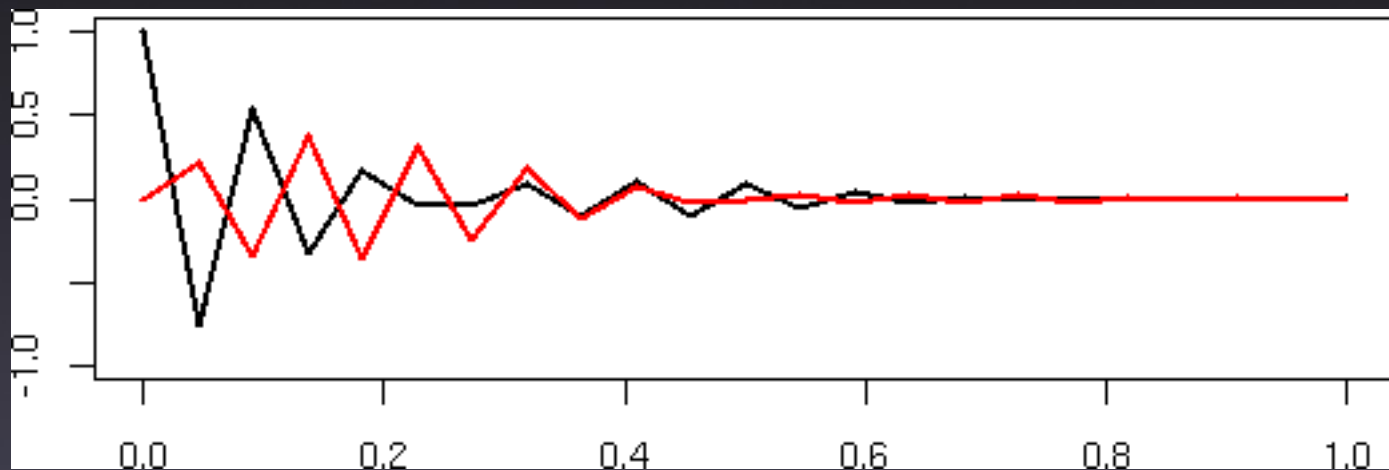
condizione di Nyquist:

$$DW = 1/SW$$

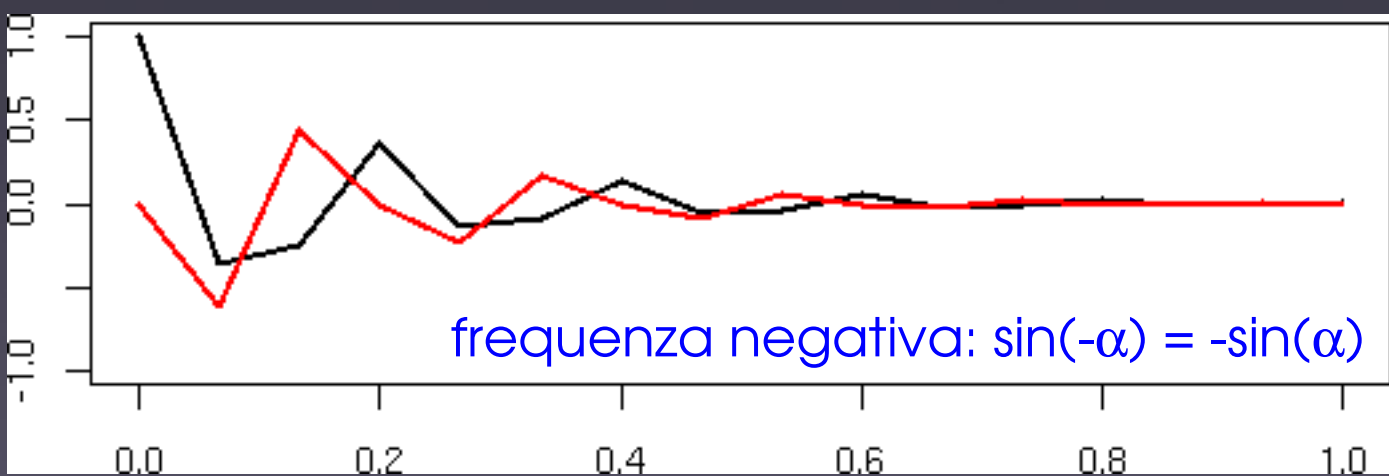
FOLDING



originale
 $f = +10 \text{ Hz}$
 $T_2 = 0.2 \text{ s}$



$f_{\max} = 11 \text{ Hz}$
 $f_c = 22 \text{ Hz}$

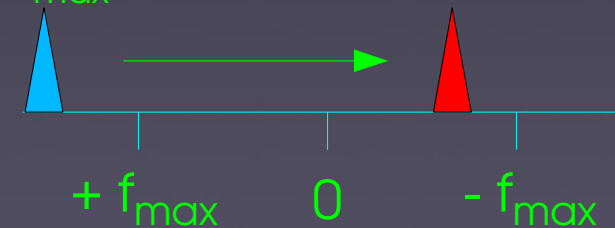


$f_{\max} = 7.5 \text{ Hz}$ $f_c = 15 \text{ Hz}$

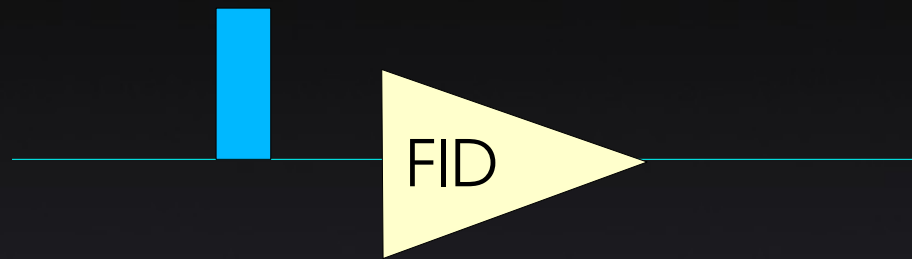
$f_{\max} + F$ ($7.5 + 2.5 = 10 \text{ Hz}$)

diviene

$-f_{\max} + F$ ($-7.5 + 2.5 = -5 \text{ Hz}$)



Campionamento e fasi: effetto del DE



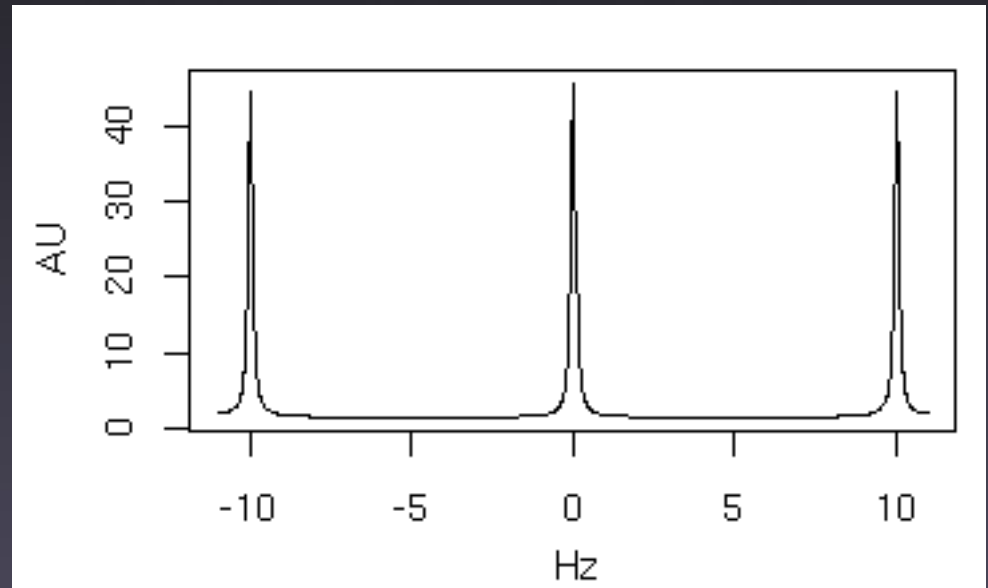
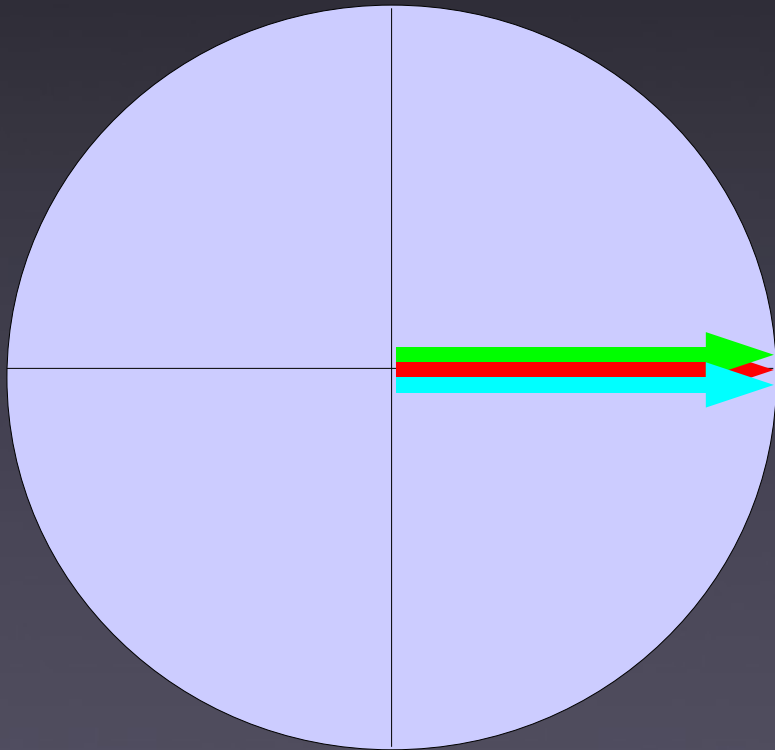
DE = dead time

qual è il suo effetto sullo spettro?

Ammettiamo di avere 3 segnali:

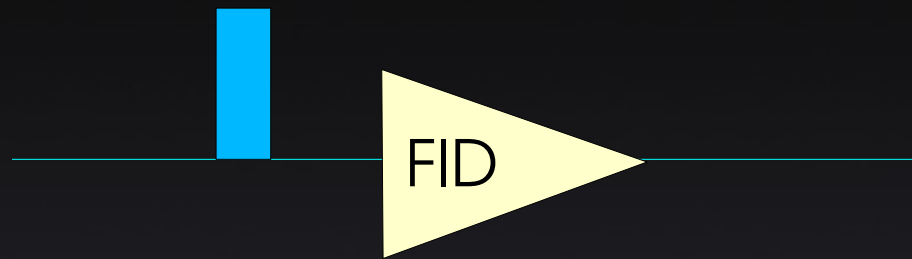
$$S_1 = -10 \text{ Hz } (-f_{\max}) \quad S_2 = 0 \text{ Hz} \quad S_3 = +10 \text{ Hz } (+f_{\max})$$

Caso 1: DE è nullo.



Il primo punto della FID è a $t=0$ ove i segnali sono in fase. Le tre righe possono essere fasate in assorbimento.

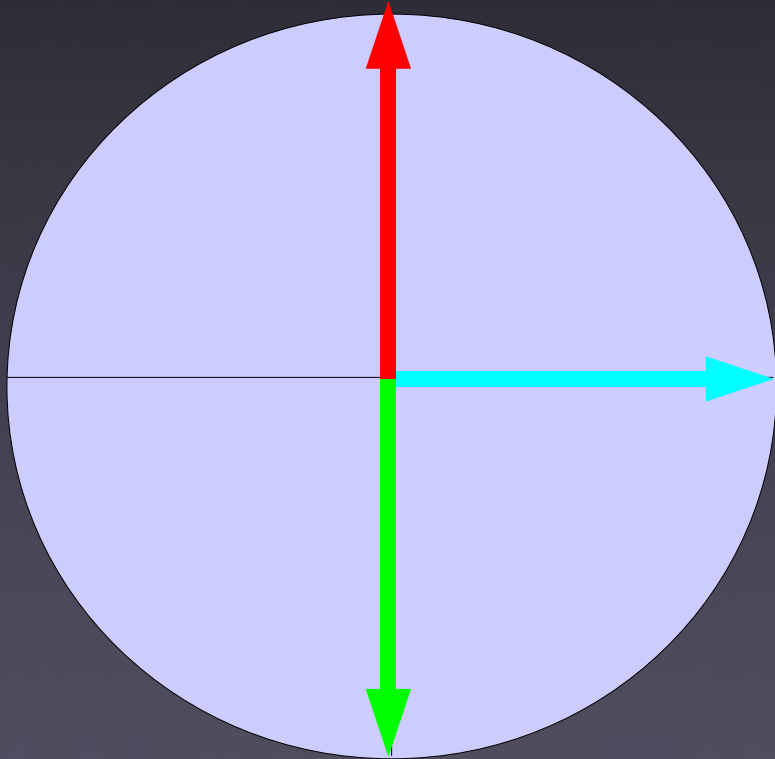
Campionamento e fasi: effetto del DE



DE = dead time

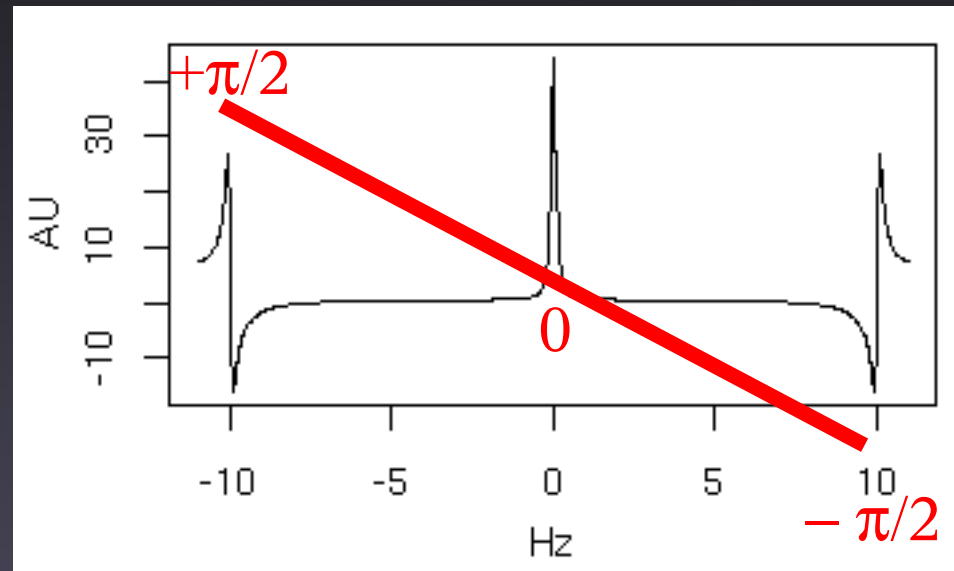
qual è il suo effetto sullo spettro?

Caso 2: $DE = DW/2$



Ammettiamo di avere 3 segnali:

$$S_1 = -10 \text{ Hz } (-f_{\max}) \quad S_2 = 0 \text{ Hz} \quad S_3 = +10 \text{ Hz } (+f_{\max})$$

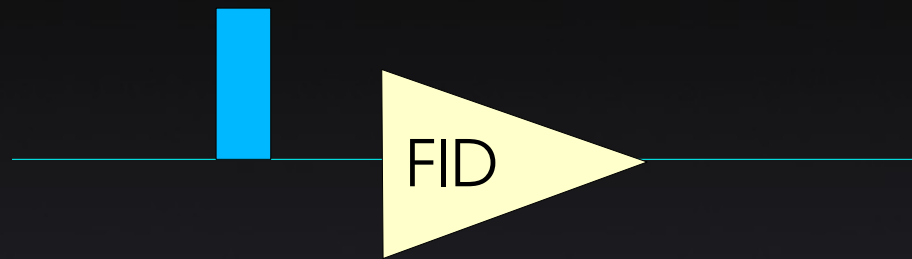


Durante DE S_1 e S_3 si sono sfasati di

$$(\pm)2\pi f_{\max} DW/2 = (\pm) 2\pi f_{\max} (1/4f_{\max}) = (\pm) \pi/2$$

è necessario applicare una fasatura dipendente dalla frequenza o di primo ordine (lp o ph1)

Campionamento e fasi: effetto del DE



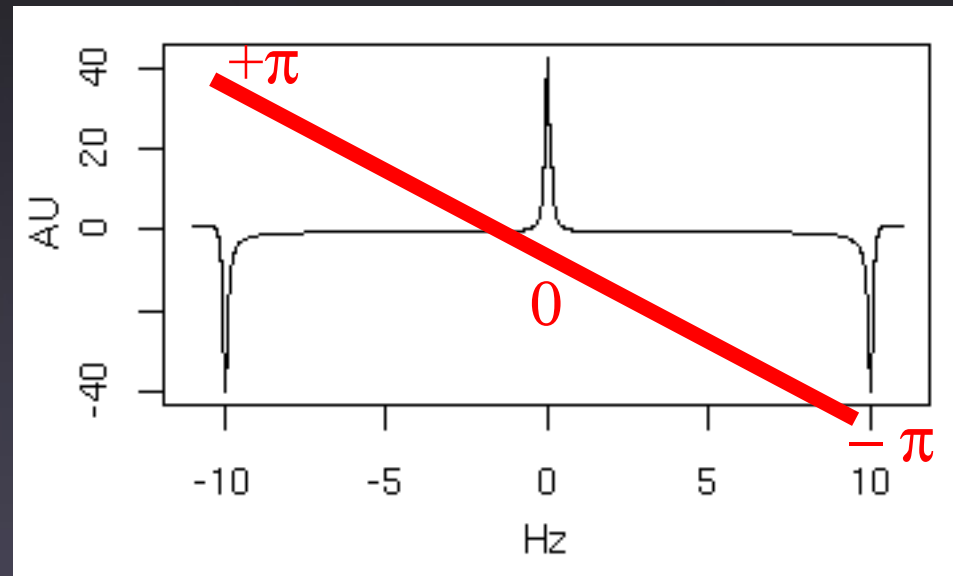
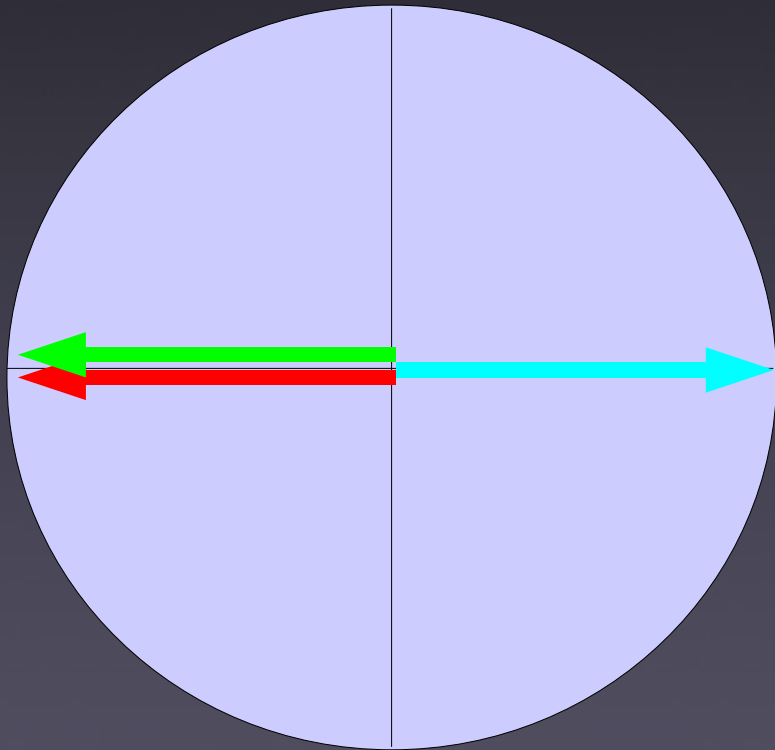
DE = dead time

qual è il suo effetto sullo spettro?

Ammettiamo di avere 3 segnali:

$$S_1 = -10 \text{ Hz } (-f_{\max}) \quad S_2 = 0 \text{ Hz} \quad S_3 = +10 \text{ Hz } (+f_{\max})$$

Caso 3: DE = DW



Durante DE S_1 e S_3 si sono sfasati di $(\pm)2\pi f_{\max} \text{ DW} = (\pm) 2\pi f_{\max} (1/2f_{\max}) = (\pm) \pi$

è necessario applicare una fasatura dipendente dalla frequenza o di primo ordine (lp o ph1)

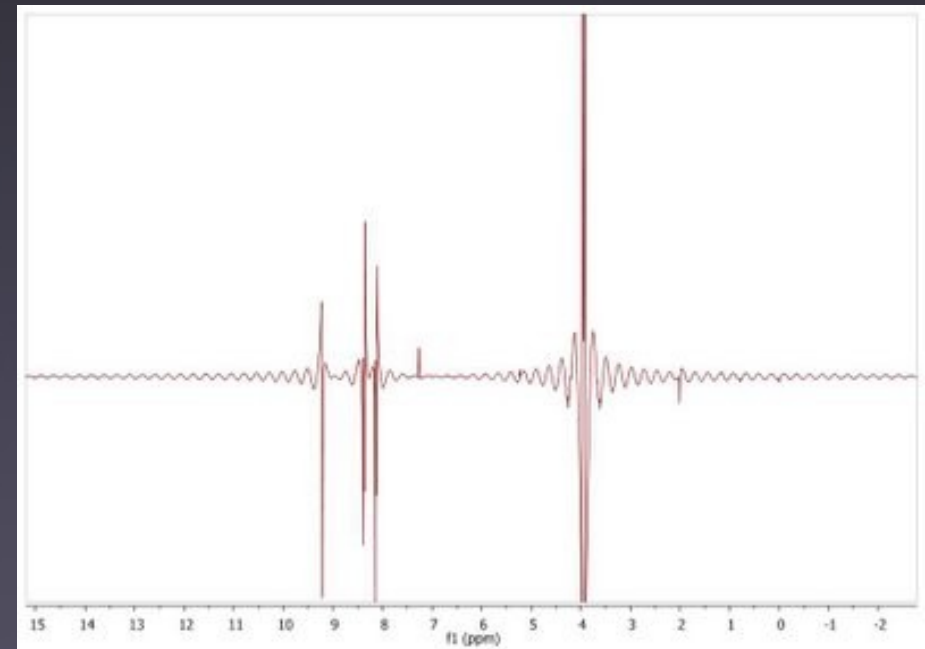
Fase di ordine 1: problemi pratici

(una discussione recente di un problema antico...)

<http://nmr-analysis.blogspot.com/2008/02/why-arent-bruker-fids-time-corrected.html>

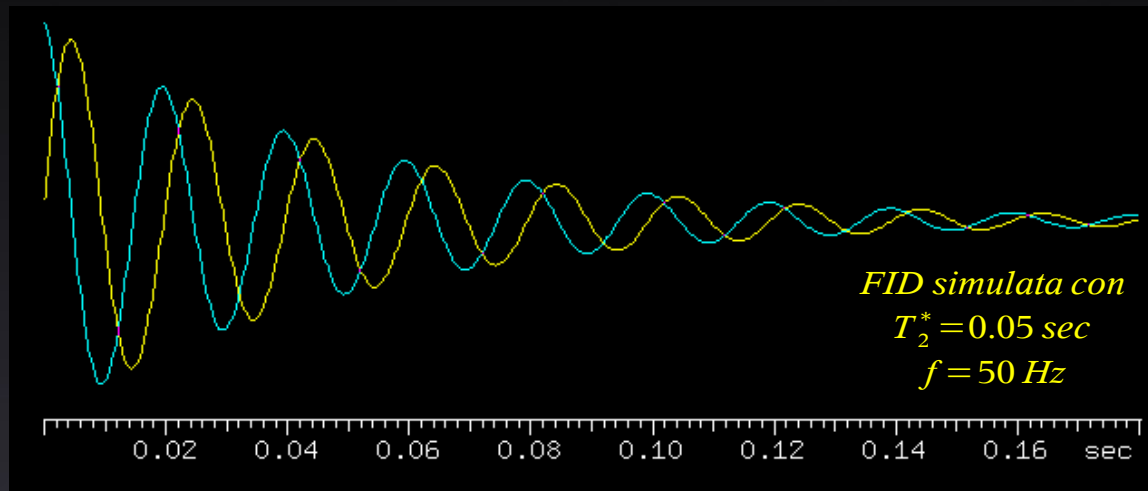
Le FID Bruker mostrano un ritardo di gruppo di circa 60-80 punti

Come visto prima, un semplice FT di tali dati crea uno sfasamento al primo ordine di $60 \times 360^\circ$ cioè $21600 - 28800^\circ$

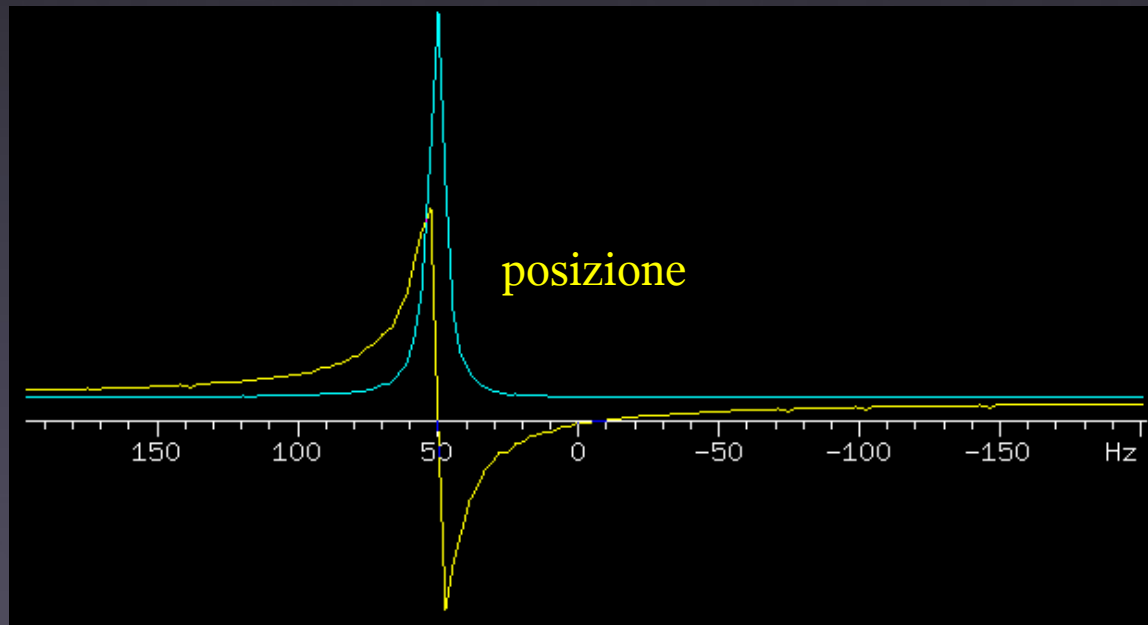


<http://www.ebyte.it/stan/blog.html>

Effetto del numero di punti

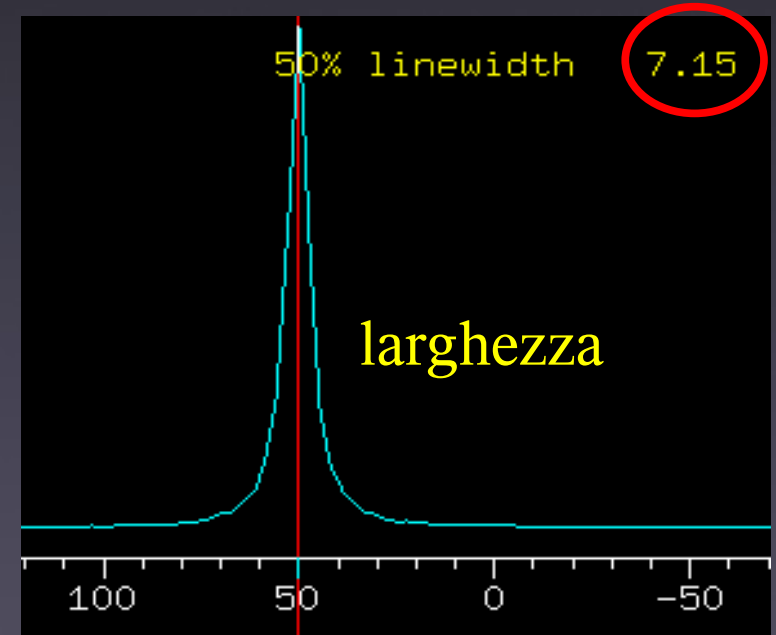


FT
↓



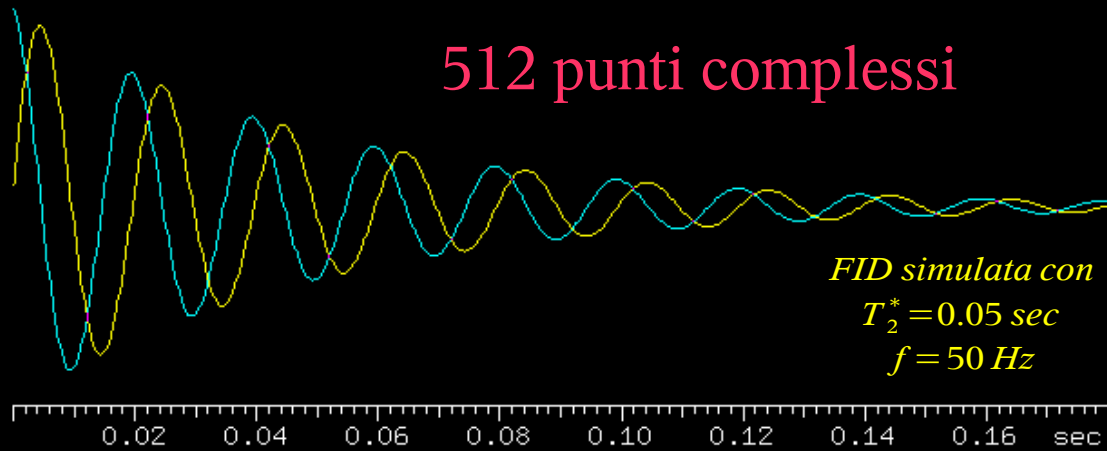
$$lw = \frac{1}{\pi T_2^*} = \frac{1}{3.14 * 0.05} = 6.4$$

sono un po' diversi, ma possono migliorare (con zero fill)



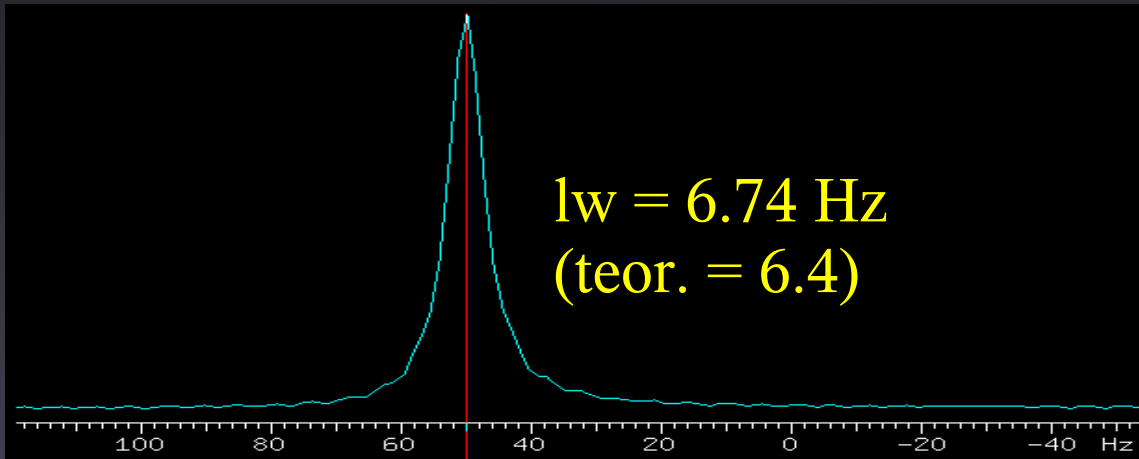
Zero fill

512 punti complessi



Aggiungiamo altri
2048-512 punti
complessi con valore
ZERO (fn=4096)

$lw = 6.74 \text{ Hz}$
(teor. = 6.4)



Poiché $SW=1/DW=2834.47 \text{ Hz}$
si ha:

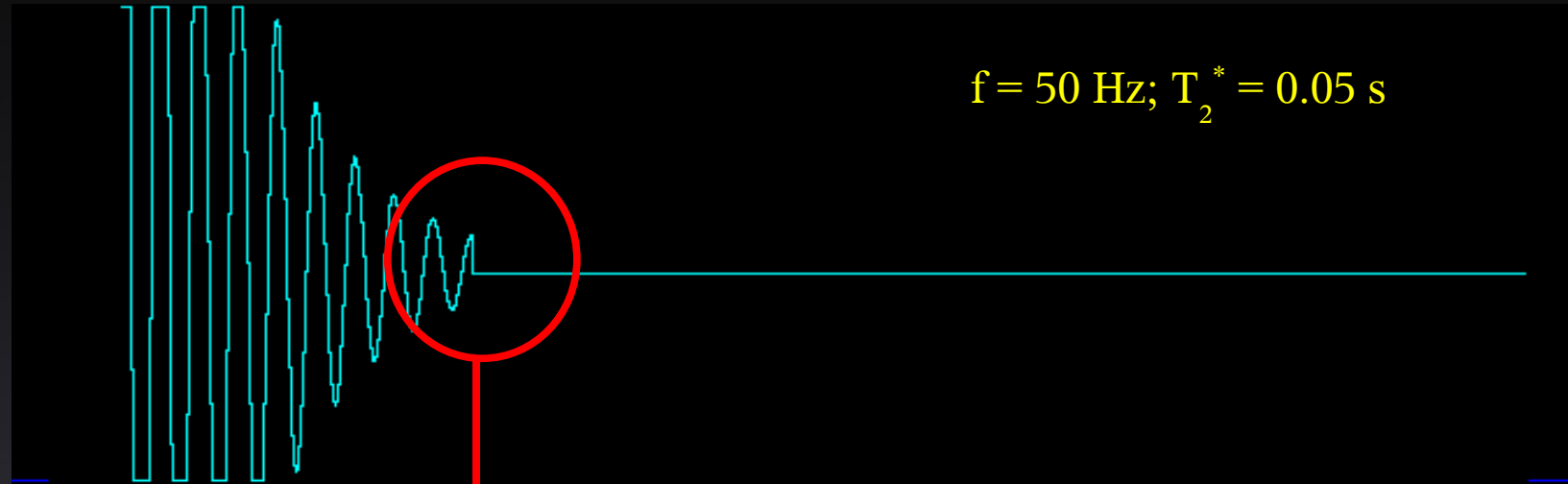
con 512 punti 5.5 Hz/punto

con 2048 punti 1.4 Hz/punto

Vantaggio: si aumenta artificialmente la risoluzione, ma...

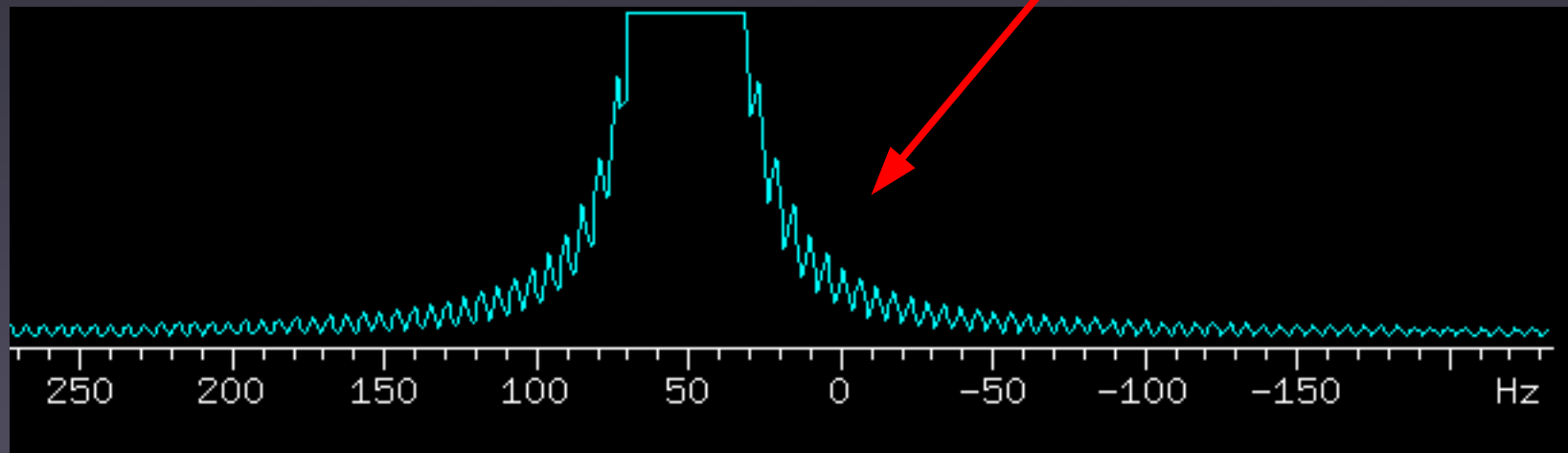
Svantaggio: si provocano delle discontinuità. Infatti...

Problemi con zero fill

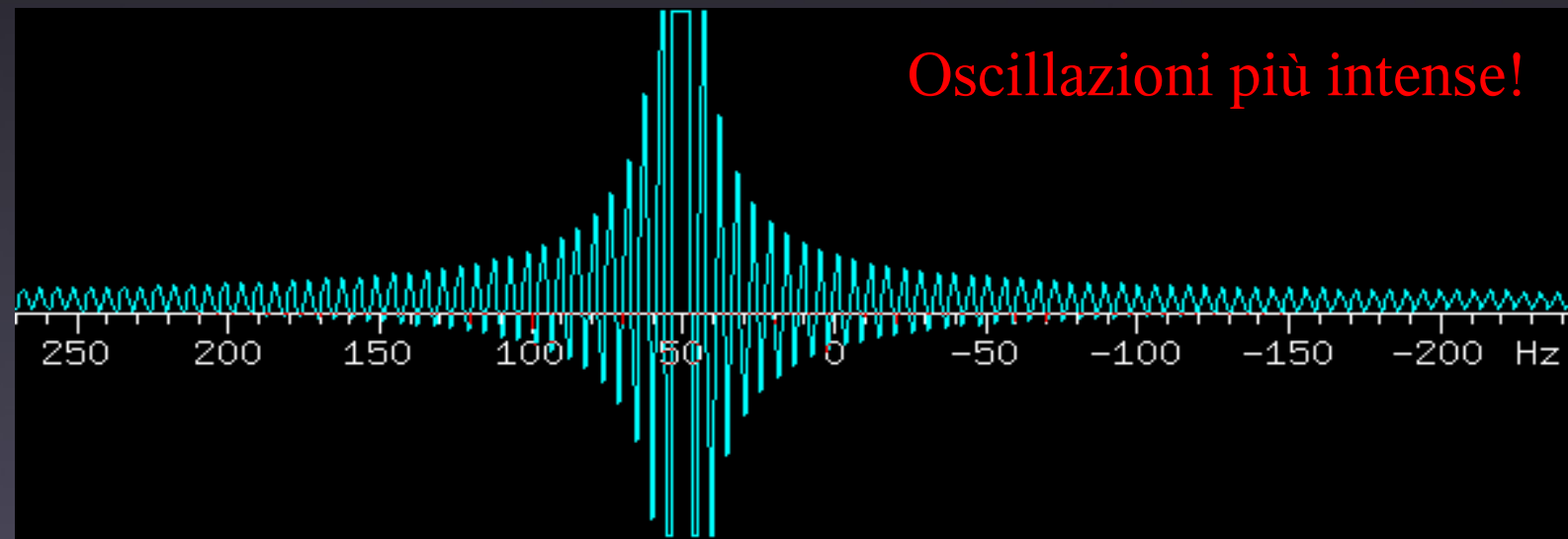
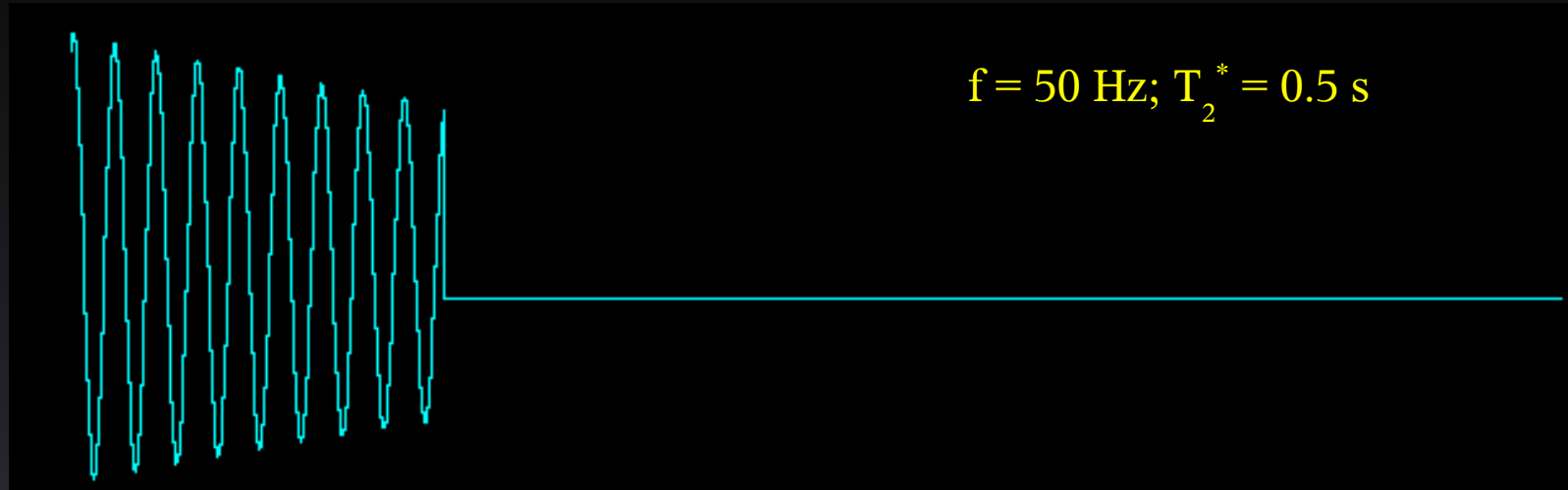


DISCONTINUITA'

Oscillazioni tipo SINC $[\sin(x)/x]$



Aumentando la discontinuità...



Perché si formano queste oscillazioni?

FT e convoluzione

La moltiplicazione nel dominio del tempo corrisponde alla convoluzione nel dominio delle frequenze...e viceversa.

$$\begin{aligned} FT [f(t) \otimes g(t)] &= FT [f(t)] \otimes FT [g(t)] \\ FT [f(t) \otimes g(t)] &= FT [f(t)] \otimes FT [g(t)] \end{aligned}$$

La usiamo tutti i giorni:
DSP in NMR ...e nei lettori CD!

La usiamo tutti i
giorni
(es: apodizzazione)!

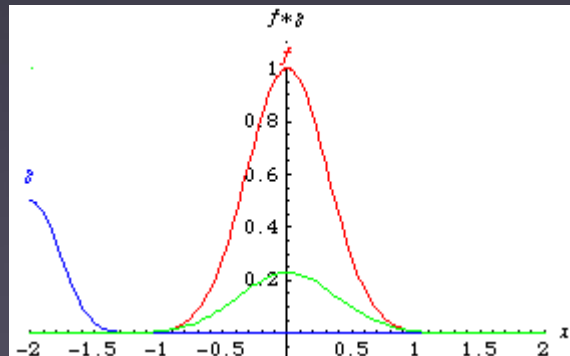
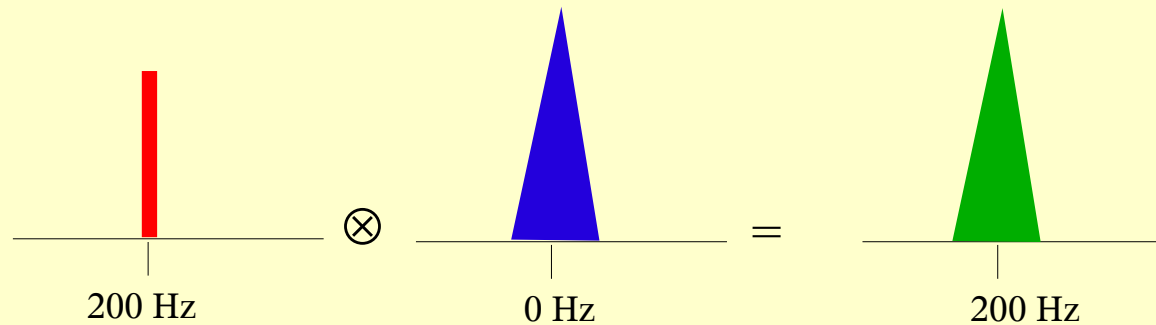
Moltiplicazione
punto a punto

Convoluzione
(cos'è ??)

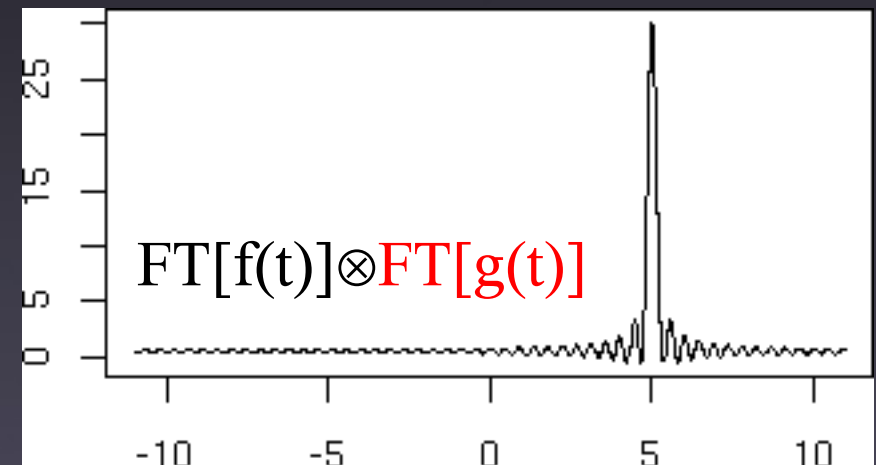
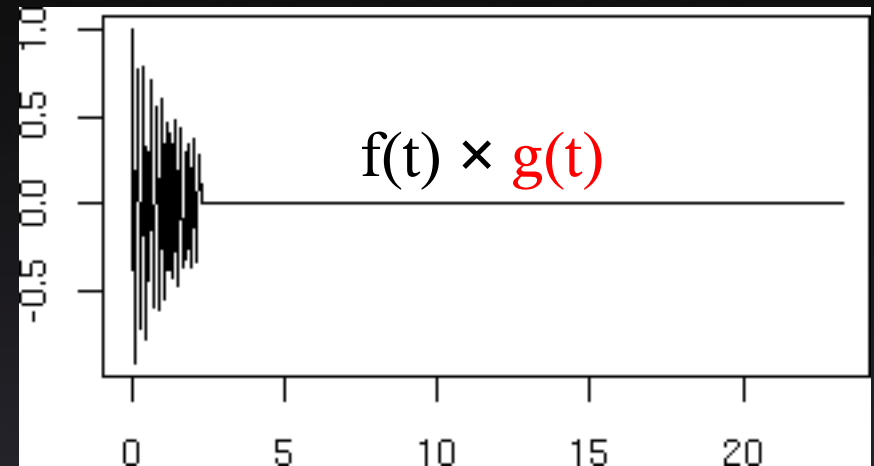
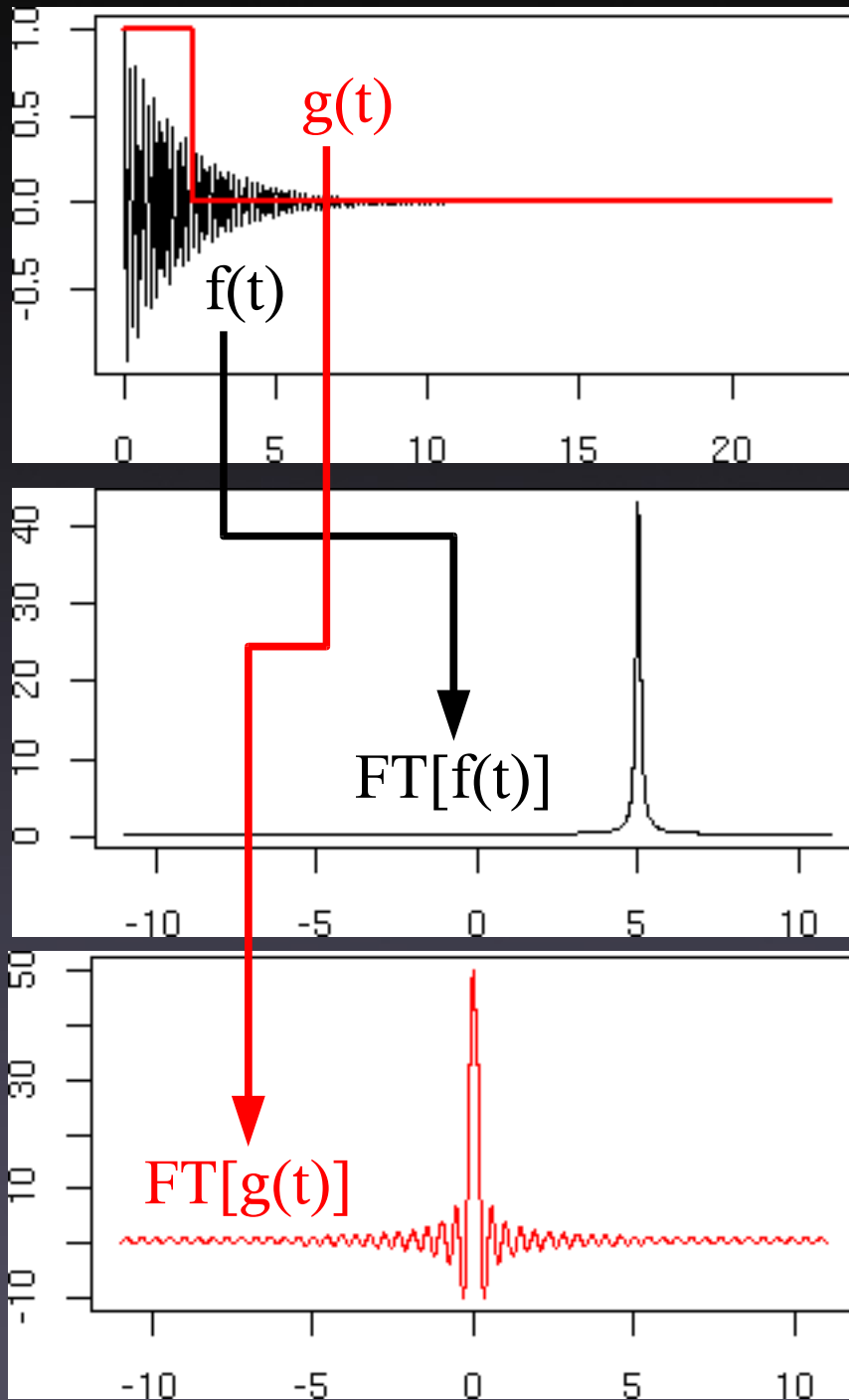
Da <http://mathworld.wolfram.com/Convolution.html>

A convolution is an integral that expresses the amount of overlap of one function g as it is shifted over another function f . It therefore "blends" one function with another.

$$C(\omega_1) = f(\omega) \otimes g(\omega) = \int_0^{\omega_1} f(\omega) g(\omega_1 - \omega) d\omega$$

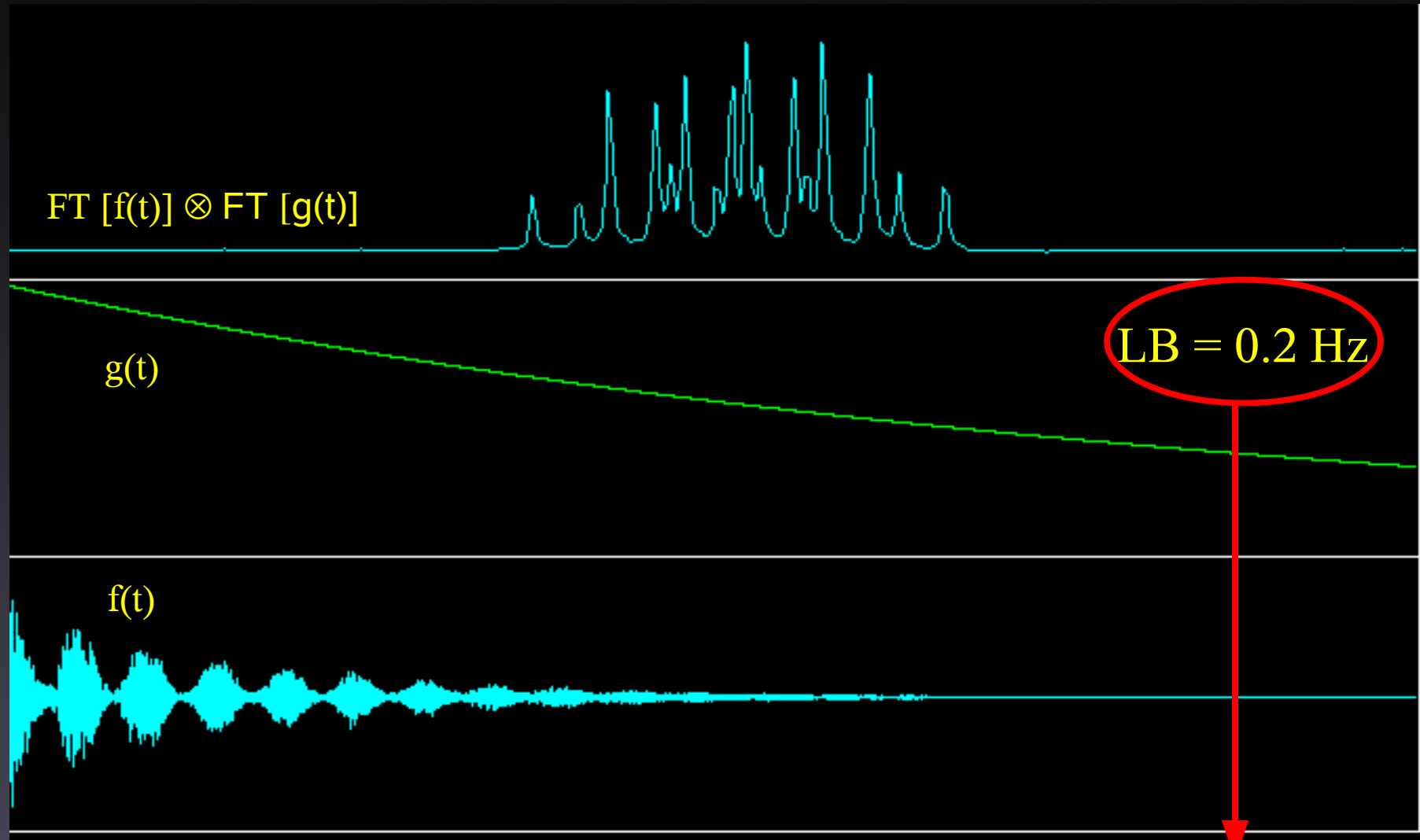


Tornando alla discontinuità...



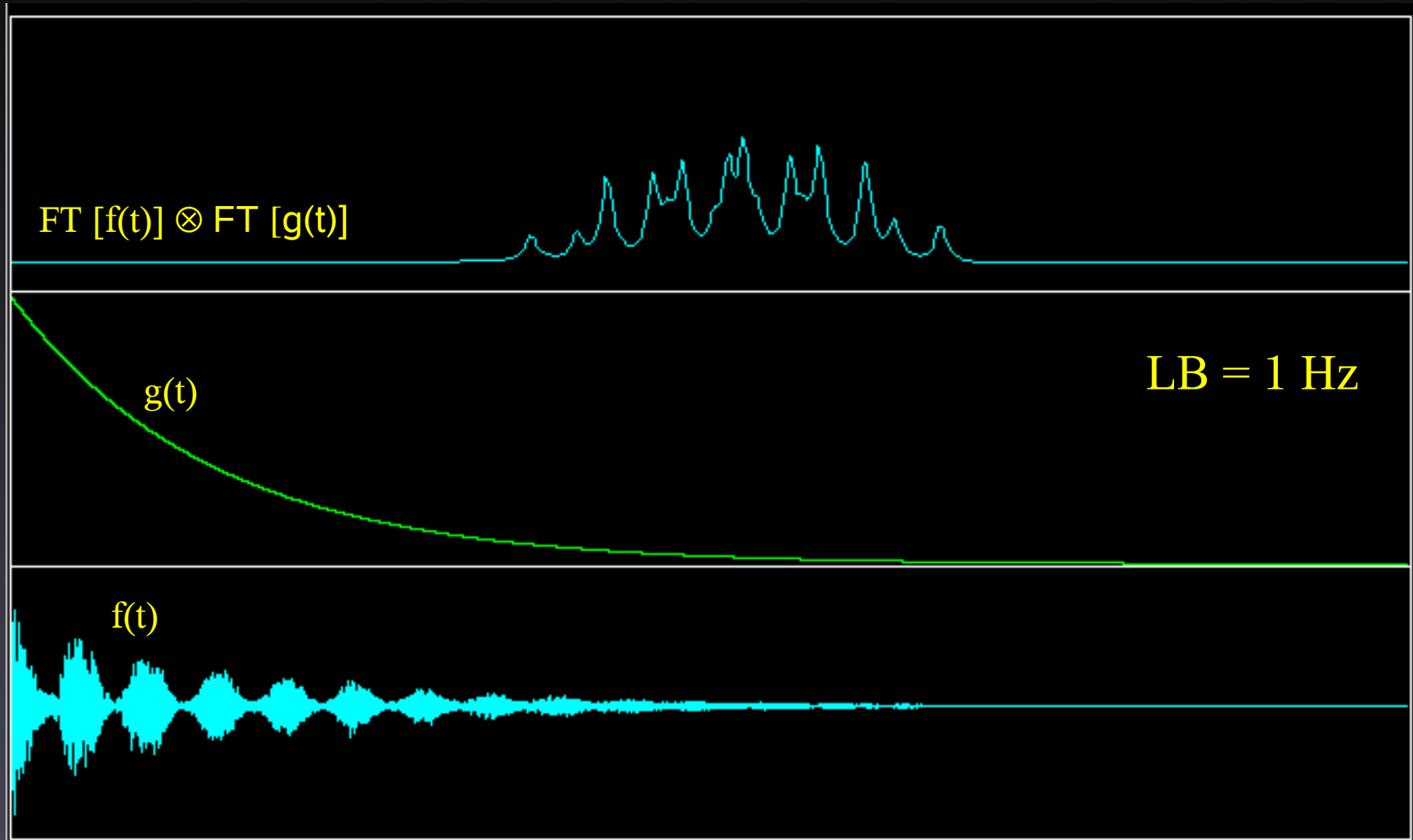
blends $f(\omega)$ with $g(\omega)$

Convoluzioni di tutti i giorni: apodizzazione

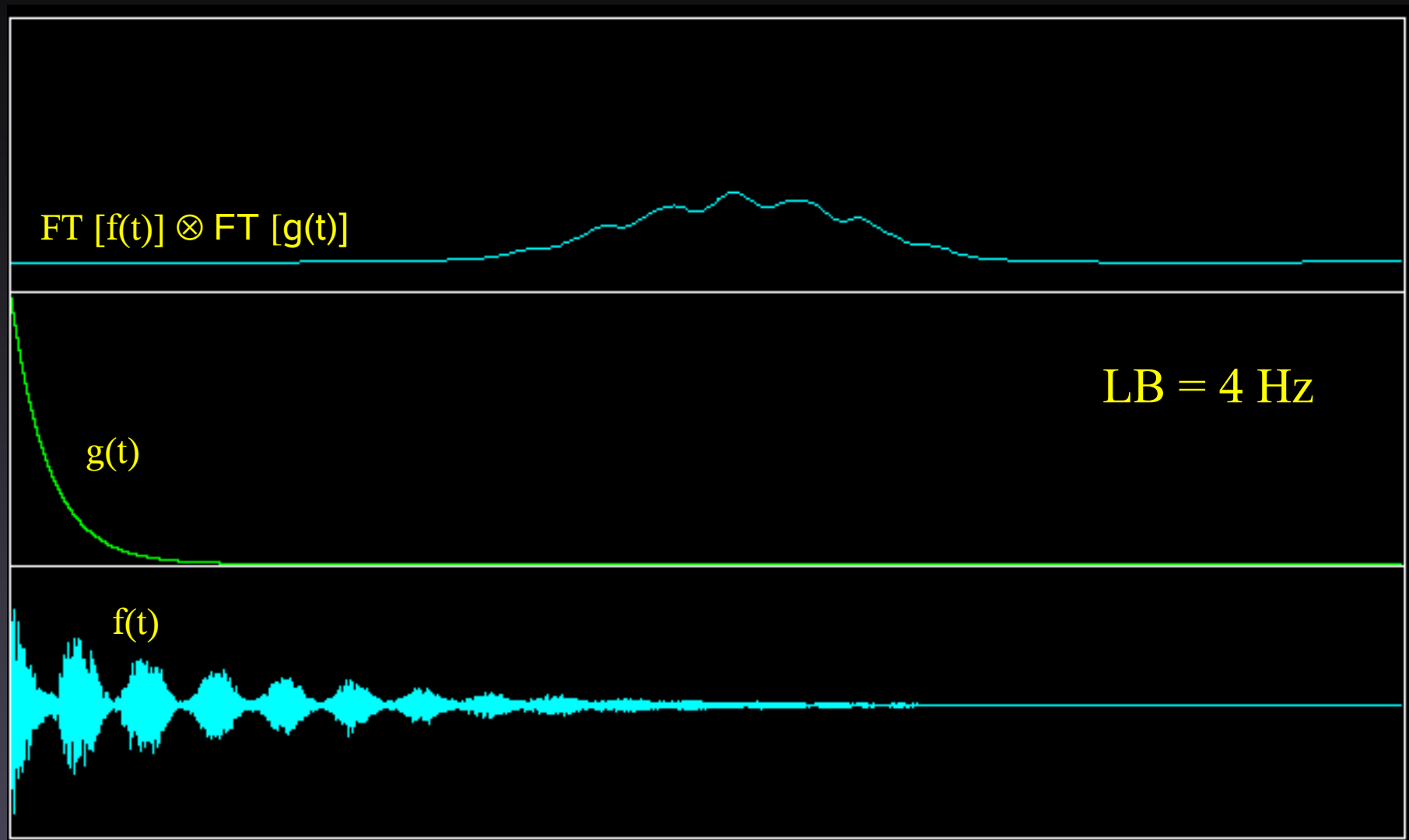


Vuol dire: caro strumento, moltiplica il FID punto a punto per quella funzione che corrisponde ad una lorenziana larga 0.2 Hz a metà altezza.

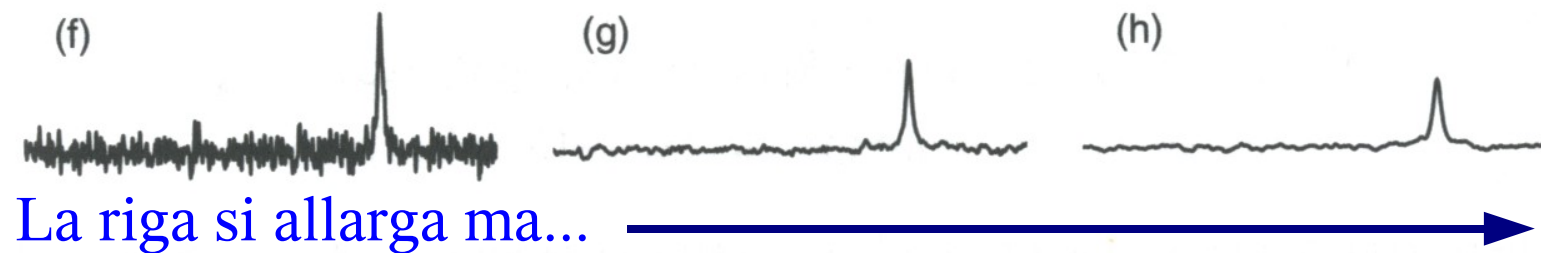
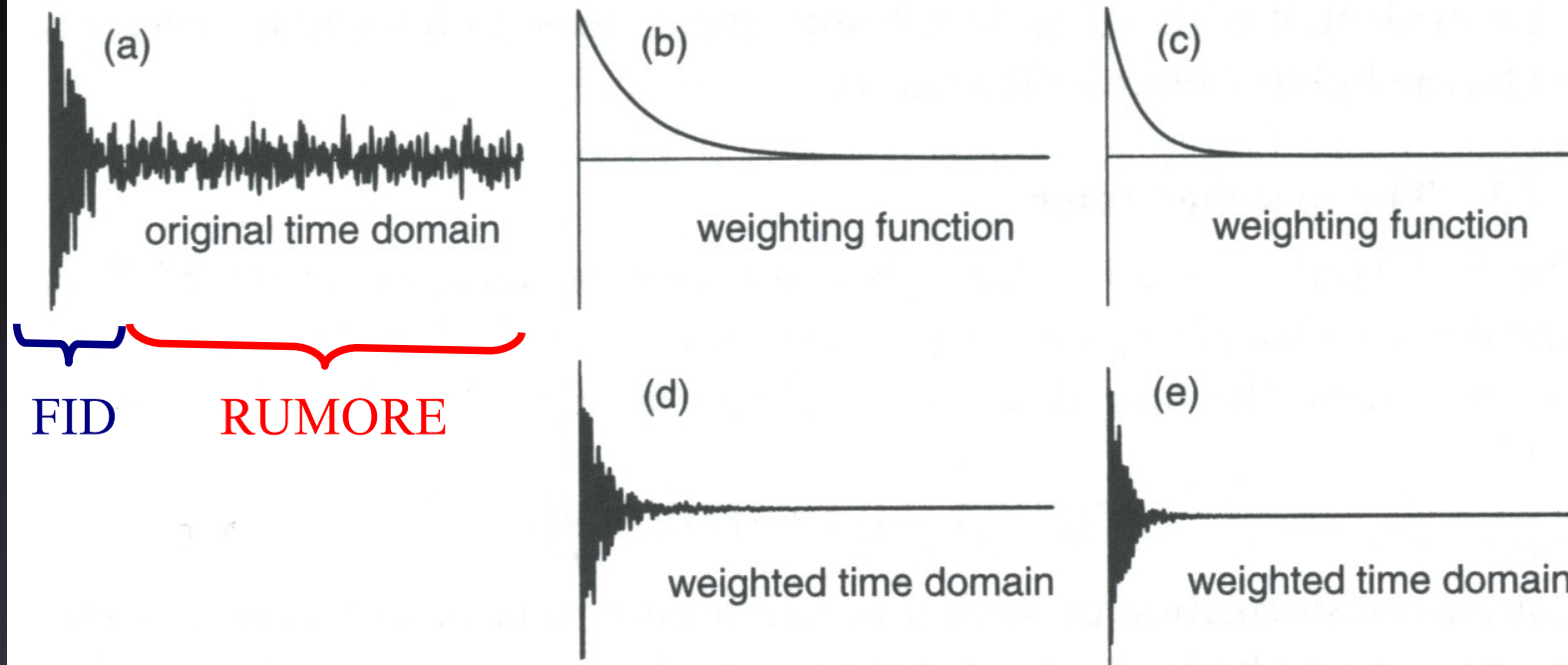
Convoluzioni di tutti i giorni: apodizzazione



Convoluzioni di tutti i giorni: apodizzazione



L'apodizzazione migliora S/N (non gratis...)

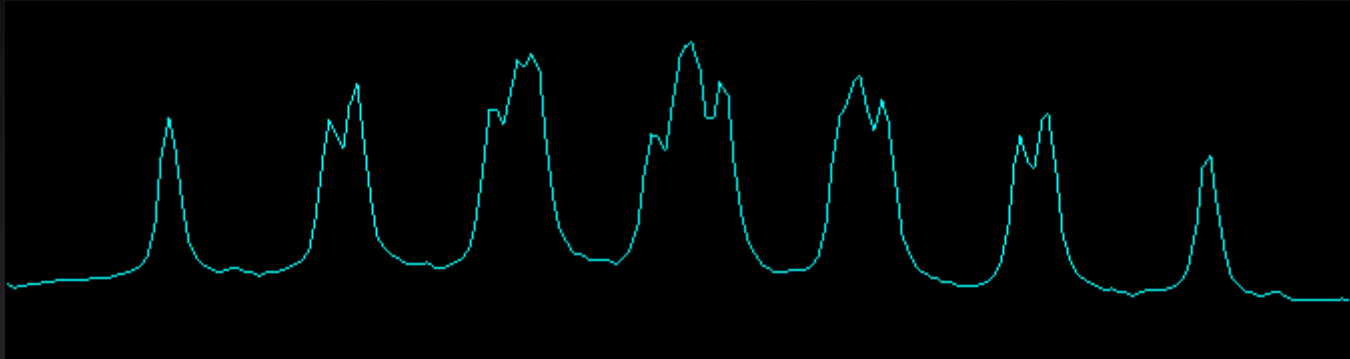


Come migliorare la risoluzione spettrale?

- 1) Righe larghe dipendono da segnali molto smorzati
- 2) Se si riuscisse a togliere un po' di smorzamento (cioè ad allargare $T2^*$) si stringerebbe la riga
- 3) Si deve trovare una funzione appropriata per la quale moltiplicare la FID

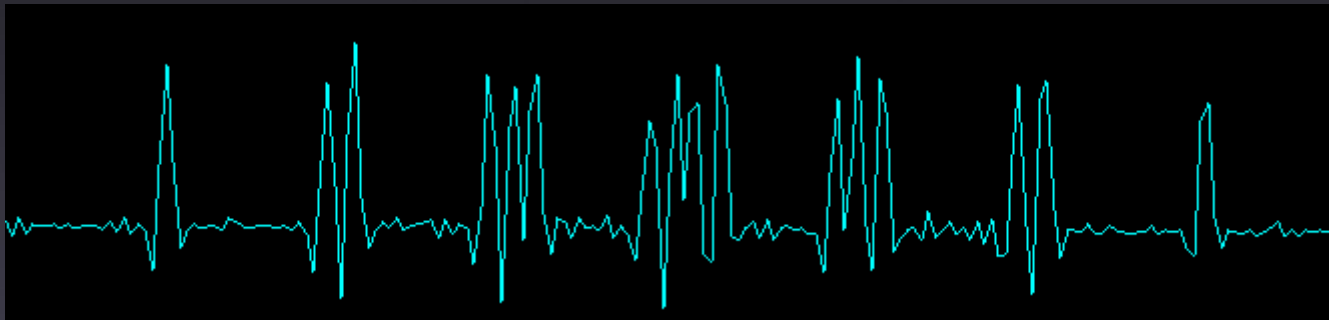
Come migliorare la risoluzione spettrale?

Osserviamo il seguente multipletto contenente 16 righe



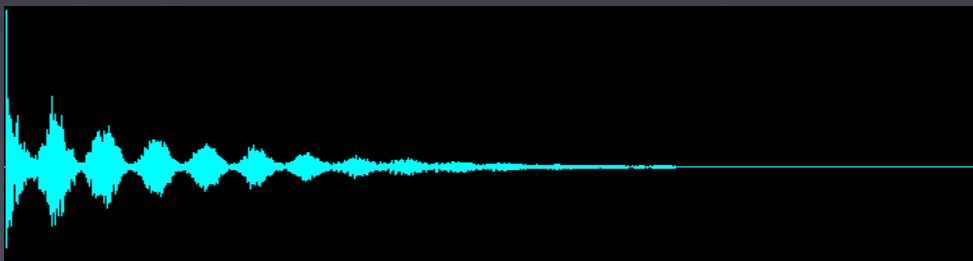
$1w$ è circa 0.6 Hz.
Significa che il segnale
è pesato per $\exp(-t*\pi*1w)$

Poniamo $LB = -0.6$ e eseguiamo wft



Ci sono correttamente
16 righe dovute a 4 J
diverse.

Cos'è successo ? Cos'è successo al FID?



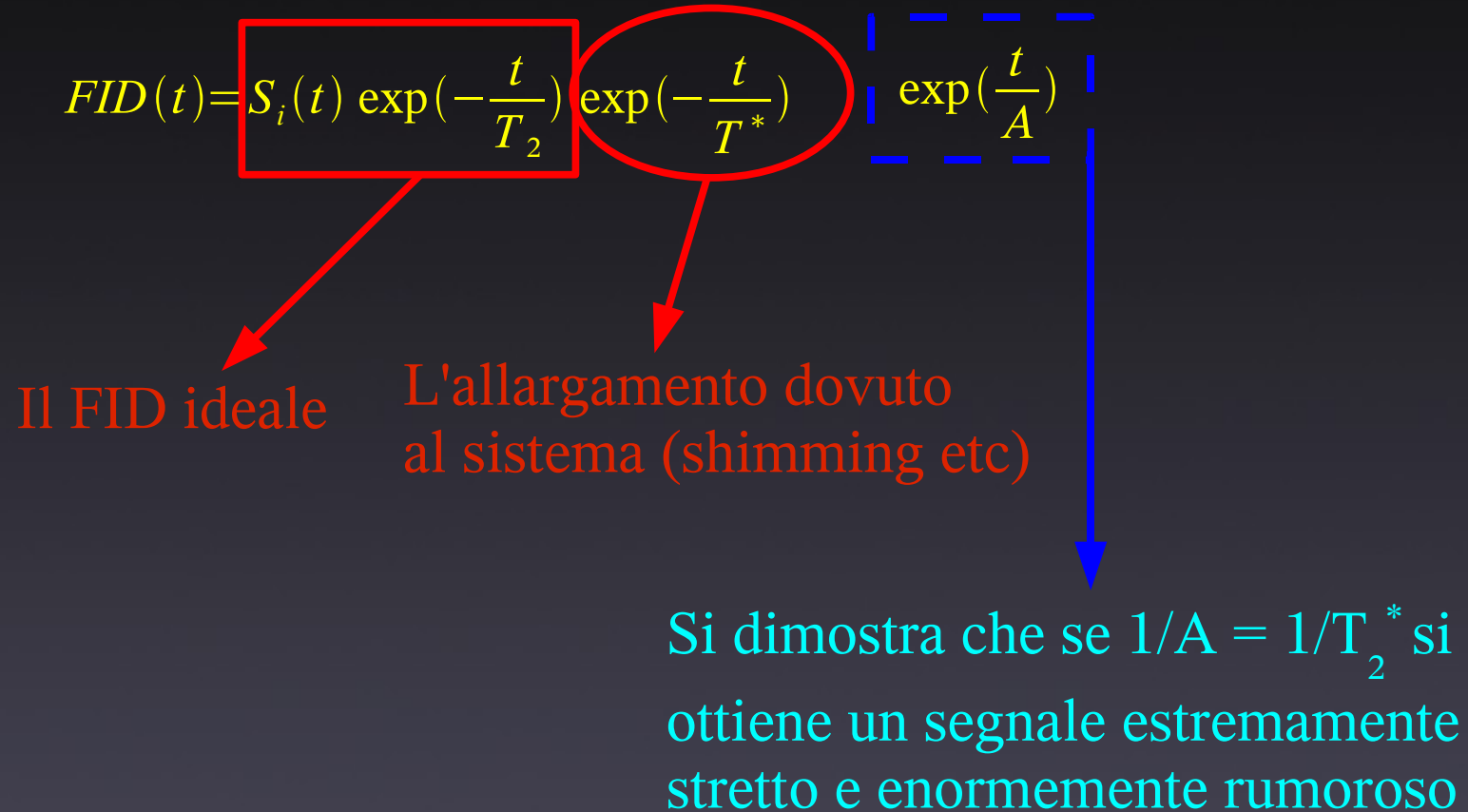
$lb='n'$



$lb = -0.6$

Come migliorare la risoluzione spettrale?

Matematicamente...o quasi



QUESTA PROCEDURA EQUIVALE AD UNA DECONVOLUZIONE
(si “toglie lorenzianità” ad una riga allargata)

Infine, come rendere lo spettro più “presentabile” ?

Come migliorare la risoluzione spettrale?

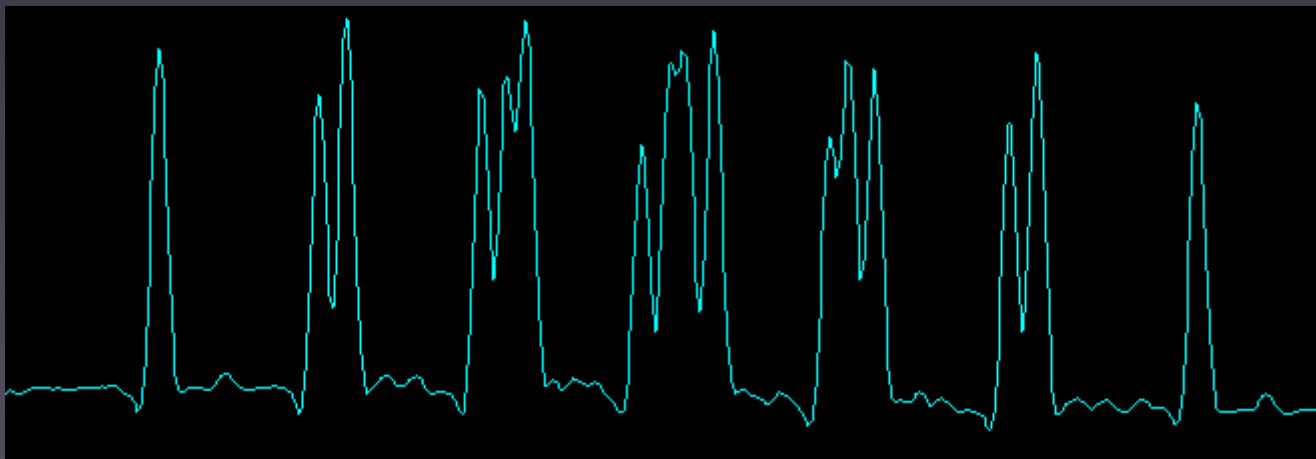
Lorentian to Gaussian transformation

Ferrige AG, Lindon JC. Resolution enhancement in FT NMR through the use of a double exponential function. J Magn Reson 1978; 31:337-340.

$$FID(t) = S_i(t) \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \exp\left(-\frac{t}{T^*}\right) \exp\left(\frac{t}{A}\right) \exp\left(-\frac{t^2}{B}\right)$$

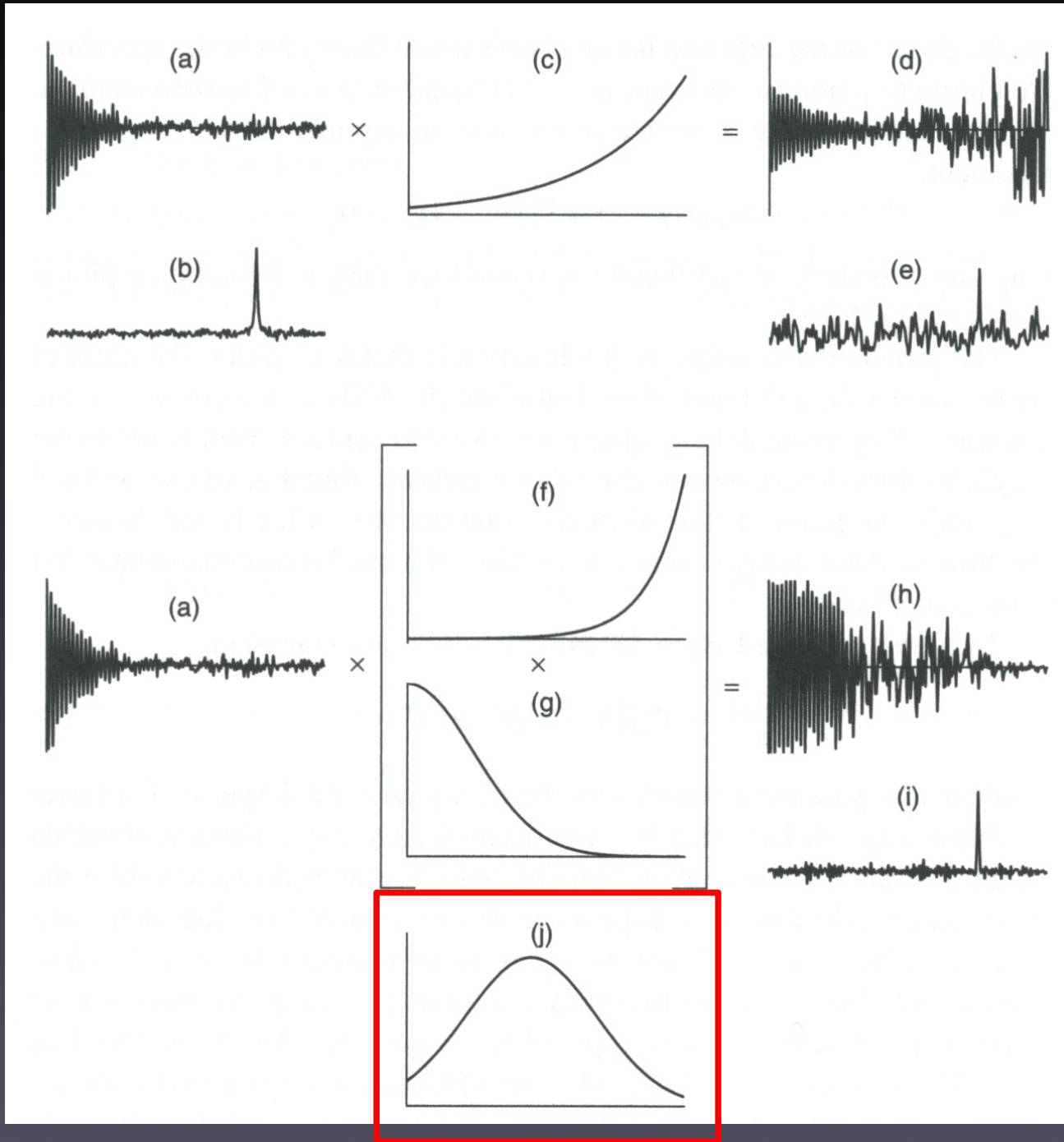
Deconvolve con una lorenziana larga $1/\pi A$

Riconvolve con una gaussiana

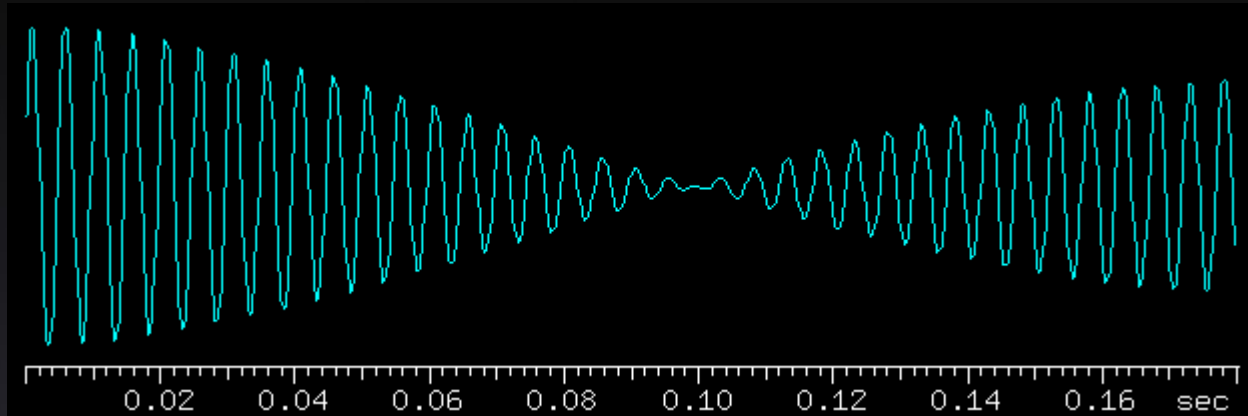


lb = -0.6
gf a = 1.5

Perché il rumore aumenta comunque?



E se la FID è tronca? (occhieggiando ai 2D)



FID generato con

$f=200$ Hz, $J=5$ Hz

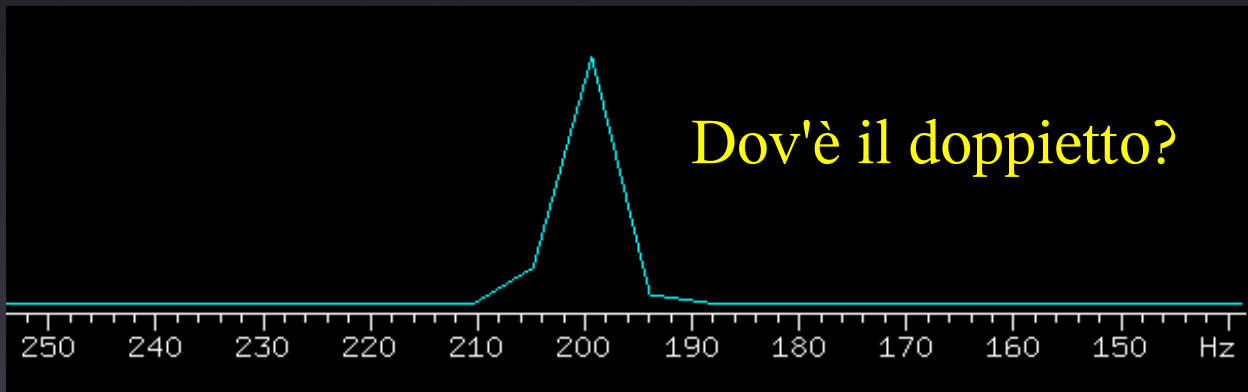
$T_2^* = 0.5$ sec

dunque: $\text{lw} = 0.64$ Hz.

$\text{np}=1024$ (512 + 512)

$\text{dw} = 352.8$ ms

$512 * 352.8 \gg 0.18$ sec



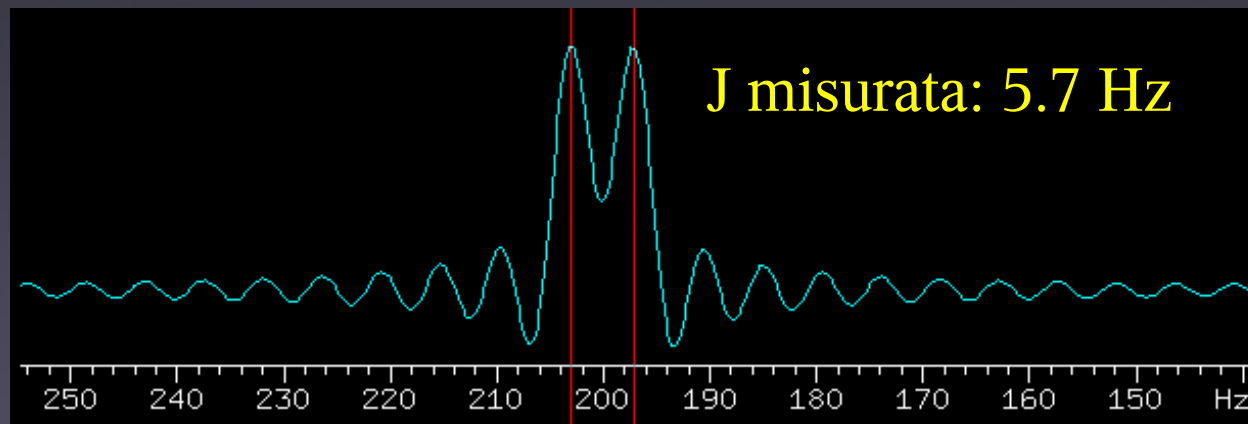
Dov'è il doppietto?

Dopo FT ($\text{fn}='n'$):

$\text{SW} = 1/\text{dw} = 2834.47$

Risoluzione:

$\text{SW}/512 = 5.5$ Hz /pt



J misurata: 5.7 Hz

Dopo FT con $\text{fn}=16384$

$\text{SW} = 1/\text{dw} = 2834.47$

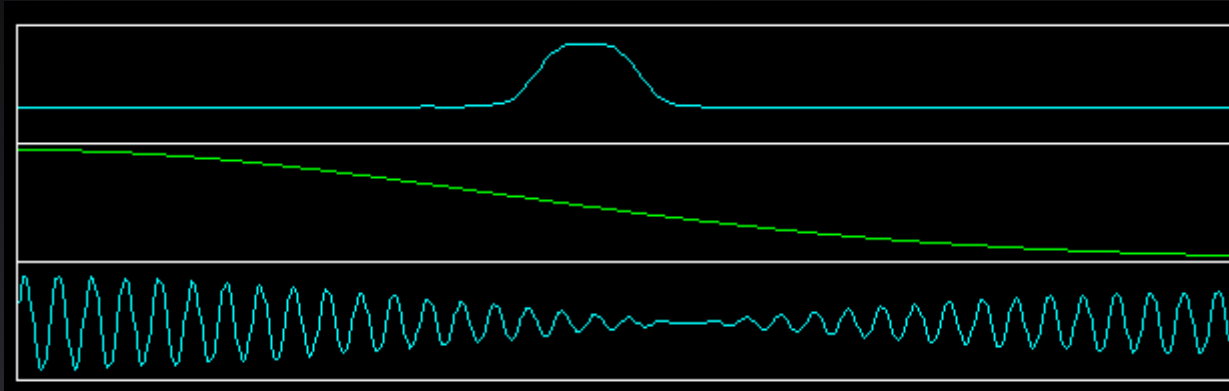
Risoluzione:

$\text{SW}/8192 = 0.35$ Hz /pt

ma...SINC!

Possiamo migliorare?

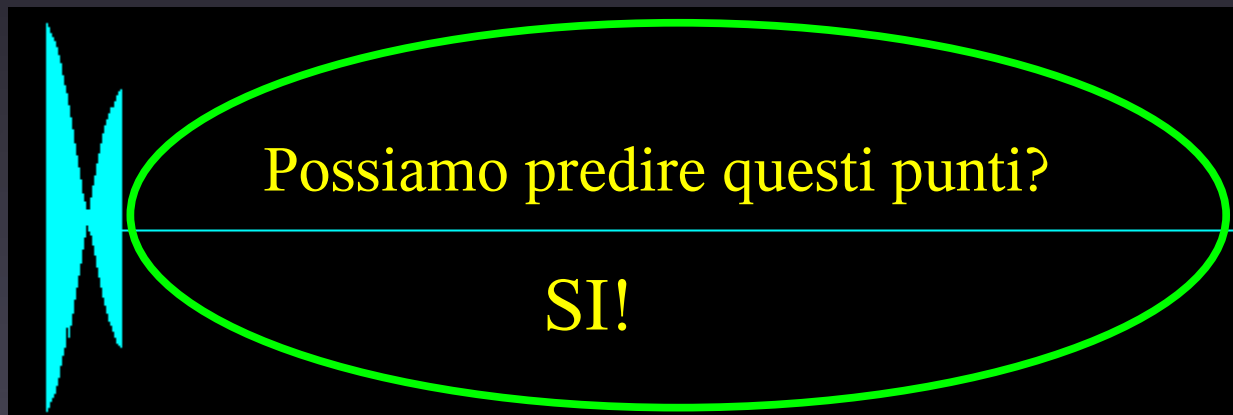
Prima strategia: apodizzazione



Si fa zero fill fino a 16384 punti dopo avere pesato con una gaussiana (perchè) ?

Meglio o peggio?

Seconda strategia: **linear prediction**. Si “creano” i punti mancanti!



$$p_n = a_1 \times p_{n-1} + a_2 \times p_{n-2} + a_3 \times p_{n-3} + \dots + a_m \times p_{n-m}$$

Si ipotizza che ogni punto dipenda dagli m precedenti
m è il numero dei coefficienti da usarsi nel calcolo

Possiamo migliorare? LP!

Linear prediction: come si fa ?

Linear Prediction	
<input type="checkbox"/> F1	<input checked="" type="checkbox"/> F2
back / forward	<input type="radio"/> b <input checked="" type="radio"/> f
coefs	8 16
basis pts	200 512
starting at	200 512
predicted pts	200 7680
starting at	201 513
Auto	Auto

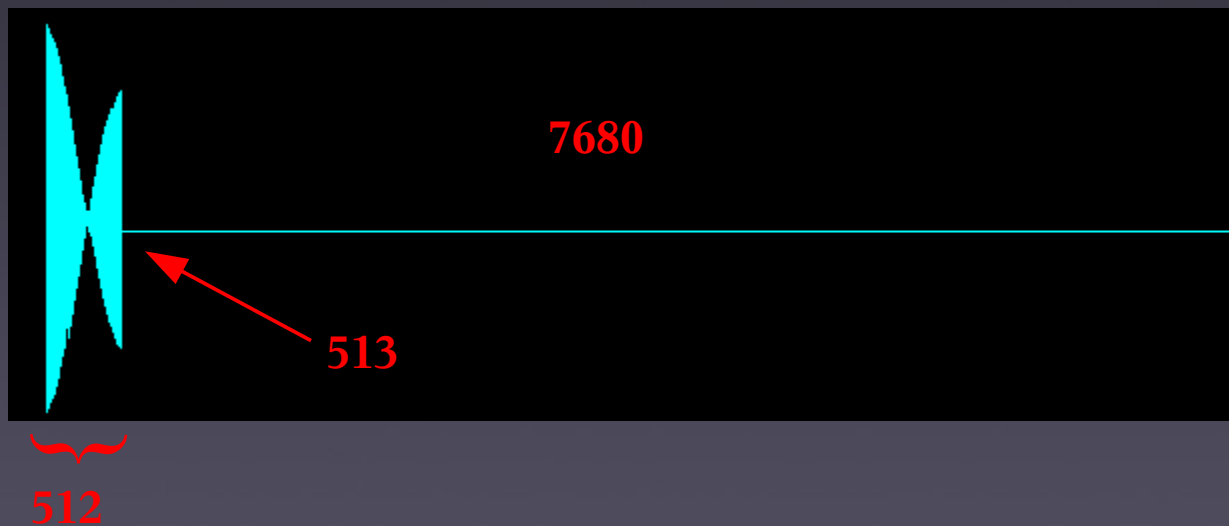
Su quale dimensione la applichiamo
(lo so: ancora di 2D non si è parlato...)

Quanti coefficienti usare (sono le a_i di prima)

Su quanti punti fare il calcolo e da dove iniziare

Quanti punti predire

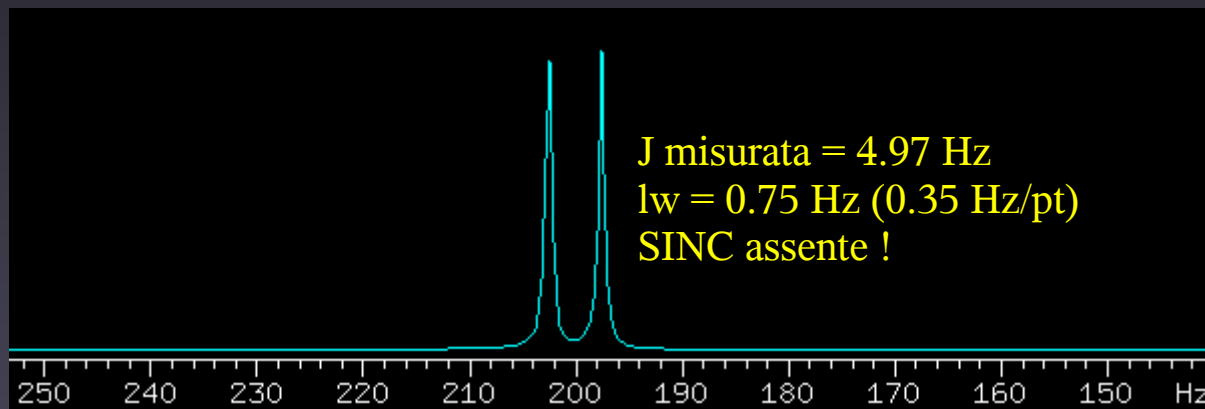
A partire da quale punto



Possiamo migliorare? Risultati della LP



proc='lp' ft



Morale:

**è possibile ottenere un buono spettro anche se il corrispondente
FID è tronco!**

BIBLIOGRAFIA

J. Keeler Understanding NMR Spectroscopy, Wiley

M. H. Levitt Spin Dynamics, Wiley

Stan Sykora, <http://www.stan.it>