

高分辨核磁共振谱的应用

高凤连¹, 蔡聪波¹, 陈妤珊², 黄悦¹, 黄联芬¹
(1.厦门大学, 福建 厦门 361005; 2.集美大学, 福建 厦门 361021)

摘要:核磁共振(NMR)谱广泛应用于化学、生物和材料科学等领域。分子间多量子相干技术(iMQCs)可以有效地在不均匀磁场中获得高分辨NMR谱,但是该方法获取高分辨谱通常需要较长的数据采集时间,在很大程度上限制了它的应用。Hadamard技术具有时间短和信噪比高的特点,该技术可以较大地缩短不均匀场下采集高分辨NMR谱的时间,因而扩展并增强iMQCs方法在不均匀场下获取高分辨谱的实用性。总结了近几年Hadamard技术结合iMQCs方法在不均匀磁场中获取高分辨NMR谱的基本原理和应用,并对其优缺点做了详细的分析和讨论。

关键词: Hadamard 技术; 高分辨核磁共振谱; 不均匀场; 相关谱

中图分类号: TN911.72-34

文献标识码: A

文章编号: 1004-373X(2014)11-0057-04

Application of Hadamard encoding technology for achieving high-resolution NMR spectroscopy in inhomogeneous fields

GAO Feng-lian¹, CAI Cong-bo¹, CHEN Yu-shan², HUANG Yue¹, HUANG Lian-fen¹
(1. Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy has been widely used in chemistry, biology and material science. Intermolecular multiple quantum coherences (iMQCs) has been proven to be effective in retrieving high-resolution spectra in inhomogeneous fields. However, relatively long acquisition time limits its practical applications. Hadamard encoding technology can be used to shorten the acquisition time and increase the signal to noise ratio. In this paper, the principle of achieving high-resolution spectroscopy in inhomogeneous fields by combining Hadamard encoding technology with iMQCs is summarized in this paper. Advantages and disadvantages of this method are analyzed and discussed.

Keywords: Hadamard encoding technology; high-resolution NMR spectroscopy; inhomogeneous field; correlation spectroscopy

0 引言

高分辨核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)谱在化学、生物和材料科学等领域具有十分重要的地位,它可以有效地确定生物组织的分子和化学结构以及化学成分等^[1-2]。非常均匀的磁场是采集高分辨NMR谱的先决条件。但是这种条件在某些特定条件下无法满足,比如在活体或者不同组织的界面。均匀性较差的磁场会导致谱峰展宽,以至于相邻谱峰交叠致使波谱信息丢失。目前,分子间多量子相干技术(Intermolecular Multiple Quantum Coherences, iMQCs)被应用在不均匀场中,它可以在间接消除不均匀磁场对谱峰的影响,从而获得高分辨NMR谱^[1-5]。但是这种技术的数据

采集十分耗时,获得一张高分辨二维NMR谱通常需要几个小时的时间^[6-7],这不仅限制了该方法的广泛应用,对使用核磁共振谱仪时间受限的研究者来说也是很不利。

Hadamard技术被成功应用于核磁共振波谱之后受到了广泛的关注^[8-9]。根据NMR谱中感兴趣的频点,利用Hadamard矩阵的行对一组以感兴趣频点为中心频率的软脉冲进行编码,得到一组可同时激发感兴趣频点的组合射频脉冲^[10],该脉冲作用于实验样品可以得到一组信息并在解码后被有效地分离,得到一组来自各个频点或来自各个通道的解码谱,解码谱包含了重建高分辨谱的所有信息。Hadamard编码和iMQCs技术相结合可以在不均匀磁场中获得高分辨NMR谱。使用Hadamard技术,不仅可以提高不均匀场下谱的分辨率,也可以有效地提高采集高分辨谱的时间效率,同时由于Hadamard解码相当于来自不同通道的信息累加,从而有效地抑制了背

景噪声,提高谱的信噪比。

近几年,Hadamard技术因其自身优势被成功地应用于不均匀磁场中获取高分辨谱。本文对Hadamard技术在不均匀磁场中获取高分辨一维和二维谱的应用进行了详细的总结。

1 Hadamard 编解码技术

组合射频脉冲 $C_n (n=1,2,\dots,N)$ 是由一组具有不同中心频点的软脉冲根据 Hadamard 矩阵行编码而得,其中 N 是 Hadamard 矩阵的阶数,软脉冲通常指的是 Gauss 脉冲。Hadamard 矩阵由 '+1' 或者 '-1' 两个元素组成,最简单的二维 Hadamard 矩阵可以表示为 H_2 ,如图 1 所示,其中 '+' 表示 '+1', '-' 表示 '-1',依次进行矩阵扩展可以得到 Hadamard 矩阵中阶数为 $2k$ (k 取整数)的家族,例如 8 阶矩阵 H_8 以及 16 阶矩阵 H_{16} 。以 4 阶 Hadamard 矩阵 H_4 为例(如图 1),假设一组 Gauss 软脉冲 $G_m (m=1,2,3,4)$,分别具有不同的中心频率点 $f_z (z=1,2,3,4)$,中心频率点 f_z 也可以称为通道,因此组合射频脉冲 C_n 也可以被认为是来自不同通道的 Gauss 软脉冲 G_m 之和^[10]。 G_m 根据 Hadamard 矩阵行进行编码后累加(矩阵中 '+' 表示 $+G_m$, '-' 表示 $-G_m$)将得到四个多频点同时激发的组合射频脉冲,其中由 4 阶 Hadamard 矩阵编码而得的组合脉冲 C_2 和 C_3 如图 2 所示。

$$H_2 = \begin{bmatrix} + & + \\ + & - \end{bmatrix} \quad H_4 = \begin{bmatrix} G_1 & G_2 & G_3 & G_4 \\ + & + & + & + \\ + & + & - & - \\ + & - & + & - \\ + & - & - & + \end{bmatrix}$$

图 1 二阶 Hadamard 矩阵 H_2 和四阶 Hadamard 矩阵 H_4

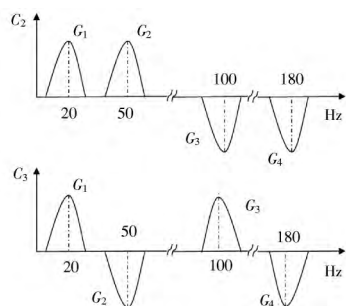


图 2 组合脉冲 C_2 和 C_3 的频域图

四个组合射频脉冲在均匀场中分别激发频谱可以采集到四路谱信号,每路谱信号经傅里叶变换后,它们具有相同的幅度谱,但是相位谱不同,矩阵中 '+' 表示的是 0° 相位, '-' 表示的是 180° 相位。经傅里叶变换后的谱按 Hadamard 列解码后就可以得到由单一通道激发的频谱。若一维核磁共振谱具有四个频点,其谱峰可分别

用 P_1, P_2, P_3, P_4 表示,对组合脉冲激发产生的谱信号进行傅里叶变换,会得到幅度谱相同而相位谱不同的四路频谱。将得到的四路频谱根据 Hadamard 矩阵列解码,可以得到与四个通道软脉冲单独激发得到的谱峰相同的效果,不仅幅度是每个通道软脉冲单独激发的频谱信号的 4 倍,信噪比也提高了 $\sqrt{2}$ 倍^[8-9]。

2 Hadamard 技术在核磁共振谱中的应用

下面三节将详细讨论 Hadamard 技术在不均匀场中采集高分辨谱的应用,其中包括一维高分辨谱,二维高分辨相关谱(CORrelation SpectroscopY, COSY)和二维定域相关谱(Localized CORrelated SpectroscopY, LCOSY)。文中所提及的实验均在 Varian Unity Plus 500 MHz NMR 谱仪下进行。探头是有效长度 1.5 cm 并配有 Z 方向自屏蔽梯度场的 5 mm HCN 三核共振探头。

2.1 基于 Hadamard 技术的高分辨一维核磁共振谱^[11]

在不均匀磁场下,传统方法采集到的一维谱谱峰通常会随着不均匀场的增大而展宽,以至于相邻峰相互交叠并掩盖了谱的高分辨信息。展宽的溶剂峰被切割为 N 片(N 是 Hadamard 矩阵的阶数)并根据 Hadamard 矩阵的行进行编码。相应地,溶剂自旋内不同区域的远程偶极场(Distant Dipole Field, DDF)也被 Hadamard 编码。在溶剂峰被切分后的每个小区域内,溶剂自旋内的磁场是一个相对均匀的场,由于 DDF 的局部特性,溶质的 iMQCs 信号仅由邻近的溶剂自旋产生的 DDF 引起。解码之后,经受不同溶剂区域影响的溶质信号将被分开,又因为在每个小切分区域内可以看成是相对均匀的磁场,因此可以认为解码谱是一个相对高分辨的谱。

图 3 中显示的是溴代正丁烷、对溴苯甲醚做溶质,二氯甲烷做溶剂(溶液中加入 0.25 mL 的氘代氯仿用来锁场)样品,利用 Hadamard 技术在不均匀磁场中获得的高分辨一维谱,其中不均匀场线宽为 850 Hz。传统方法在均匀磁场中获得的高分辨谱如图 3(a)所示,传统方法在不均匀磁场中采集到的一维谱如图 3(b)所示,图 3(c)显示的是利用 Hadamard 技术在不均匀磁场中通过解码之后获得的高分辨一维谱。

实验采用 16 阶 Hadamard 矩阵对溶剂峰进行编码。组合脉冲的作用时间为 200 ms,激发间隔为 20 Hz,不均匀场线宽为 850 Hz,总用时约 1 min。

从图 3 中可以看到,利用 Hadamard 技术采集的一维谱虽然不能显示 J 耦合信息,但是基本保留了谱的中心频率点信息,谱的线宽从 850 Hz 减少为 25 Hz,与以往方法^[45]相比,Hadamard 技术不仅缩短了采集时间,也提高了谱的分辨率。

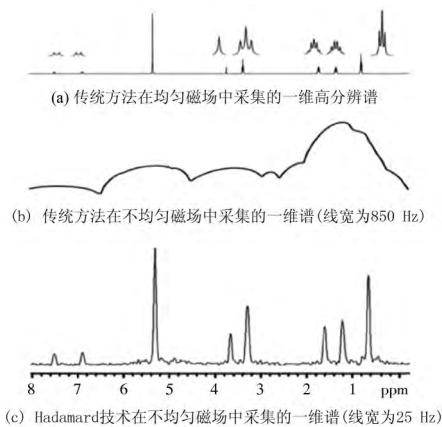


图 3 利用 Hadamard 技术在不均匀磁场中获取高分辨一维谱

2.2 基于 Hadamard 技术的高分辨二维相关谱

不均匀场下的高分辨二维相关谱通常需要三维采样并在 F_1 和 F_2 维上投影得到,这种方法需要很长的数据采集时间,一般多于几个小时。Hadamard-IDEAL-II 脉冲序列在 2011 年被提出^[12],该方法基于 Hadamard 技术,用组合脉冲在频率域的直接激发代替传统方法中 F_1 维的步进式采集,该方法用较少的扫描次数 N (N 是选用的 Hadamard 矩阵的阶数)代替传统的 F_1 维步进式采集,从而有效地降低了信号的采样时间。对 N 次扫描结果进行傅里叶变换并解码,解码后根据相关谱关于对角线对称的特性可以重建出二维高分辨相关谱。这种方法不仅缩短了数据采集时间,同时信噪比也提高了 \sqrt{N} 倍。

实验样品乙酸乙酯、丙酮和二氯甲烷混合溶液的实验结果如图 4 所示(其中区域(I),(II),(III)和(IV)被放大以便于观察和比较)^[12]。图 4(a)显示的是传统方法在不均匀磁场中采集的二维相关谱,不均匀场作用使得谱峰在对角线方向上展宽并最终导致相邻峰交叠(区域 II 的相邻谱峰相互交叠)掩盖了谱信息。Hadamard-IDEAL-II 脉冲序列得到的二维相关谱如图 4(b)所示,不仅很好地保留了高分辨信息,而且整个采集时间只需要几分钟。在谱宽较大时,传统方法会因为谱宽的增大而延长谱的采集时间,但 Hadamard-IDEAL-II 脉冲序列却不受间接维谱宽的影响,该方法的时间优势更为明显。另外结合 Hadamard 技术采集的高分辨二维相关谱其 J 耦合常数是 20 Hz,传统方法采集的二维相关谱其 J 耦合常数是 7 Hz,前者约是后者的 3 倍。这种特征对于弱耦合体系或许会有帮助。

该方法具有一定的缺陷,根据 Hadamard 编码生成组合脉冲之前,需预先知道二维相关谱中的频率点信息,这就意味着在方法开始之前需要首先获得一张一维谱。另一个缺陷就是结合 Hadamard 技术的方法受谱中频点数目 M 的影响,频点越多采样时间越久。如果频

点数目非常多 ($M > 256$),该方法采集高分辨二维谱共需要扫描 M 次,与传统方法的扫描次数相比时间优势基本消失。2013 年被提出的 HD-COSY 脉冲序列^[13]则利用 Hadamard 技术对溶剂峰进行编码,从而在不均匀场下得到高分辨二维相关谱。与 Hadamard-IDEAL-M 脉冲序列相比,该方法牺牲了一定的谱峰分辨率却换来了采样时间上的优势。HD-COSY 脉冲序列通过溶剂峰编码从而达到最终溶质峰分辨率提高的目的,类似于 2.1 节提到的不均匀场下高分辨一维谱的思想。由于该方法只对溶剂峰编码,采样总时间并不受谱中频点数目 M 取值大小的影响,另外,该序列也无须在序列开始之前采集一维谱用来确定谱中的频点位置及数目。在此文献中,实验样品分别用传统方法和 HD-COSY 方法在相同的不均匀场中采集二维相关谱,对比发现 HD-COSY 获得的高分辨二维谱中化学位移和耦合网络信息被保留,谱峰在 F_2 维的投影线宽从 300 Hz 减少到 35 Hz。文中还通过理论模拟验证了方法的正确性^[13]。

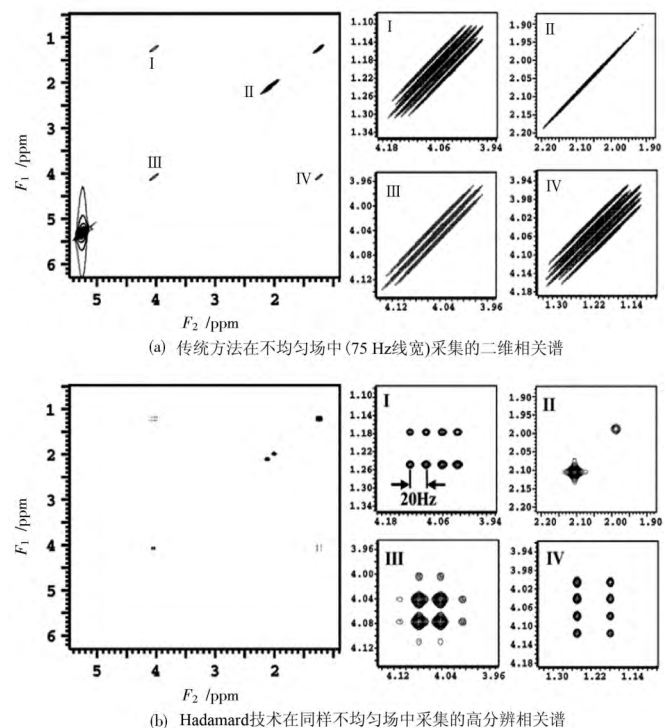


图 4 利用 Hadamard 技术获取溶质为乙酸乙酯和丙酮,溶剂为二氯甲烷的混合溶液样品的高分辨二维相关谱

2.3 基于 Hadamard 技术的高分辨二维定域相关谱

二维定域相关谱被广泛应用在疾病领域的研究,例如乳腺癌、恶性肿瘤等,但是二维定域相关谱的应用受到采集时间的限制。2013 年提出了一种 HLCOSY 序列^[14],它是在 PRESS 序列基础上结合 Hadamard 技术达到减少谱信息采集时间的目的。以溴代正丁烷和丁酮混合溶液为实验样品, Hadamard 矩阵阶数设置为 8,组合脉冲

作用时间为 70 ms。实验结果如图 5 所示^[14],图 5(a)显示的是传统方法下采集的 LCOSY,用时 68 min,图 5(b)显示的是 HLCOSY 方法采集的 LCOSY,用时 32 s。HLCOSY 方法可以在短时间内采集高分辨 LCOSY 并保留了化学位移和 J 耦合网络信息。由于丁酮样品中的单峰 (2.7 ppm) 未被激发,所以图 5(b)中 2.7 ppm 处的谱峰完全消失,验证了 Hadamard 技术可以压制感兴趣区域之外的谱峰。

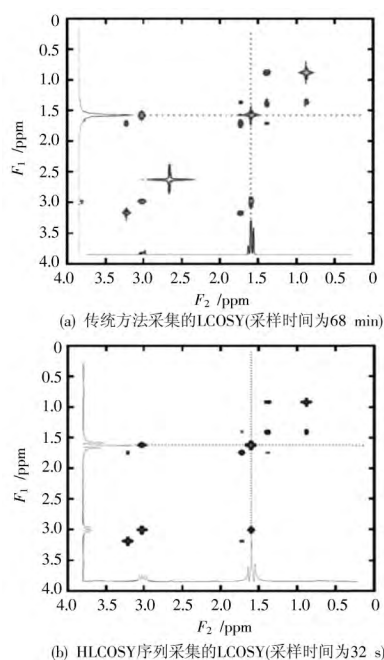


图 5 溴代正丁烷和丁酮混合溶液的二维定域相关谱

该方法的基本思想与 2011 年提出的 Hadamard-IDEAL-II 脉冲序列思想基本一致,均是利用 N 阶 Hadamard 矩阵编码得到的组合脉冲直接激发间接维的感兴趣频点,用 N 次扫描代替传统方法中 F_1 维的步进式扫描,实验时间由原来的 68 min 降低到 32 s,极大地缩短信号采集时间,拓宽定域相关谱的应用。此方法也有一定的缺点,一方面样品的一维谱中谱峰不能太过拥挤,因为较窄的频谱谱峰间隔意味着较长的组合脉冲作用时间。脉冲作用时间越长,信号的衰减越严重,不利于最后的解码和重建。另一方面谱峰不能太多,太多的谱峰会减弱时间优势。

3 结论

目前, Hadamard 技术已成功应用于较大不均匀场中获得高分辨一维谱、二维相关谱和二维定域相关谱。Hadamard 技术可以有效分离遭受不同 DDF 影响的溶质信号,从而得到高分辨的谱。另外, Hadamard 技术直接激发谱的间接维,用 N 次扫描取代传统方法中 F_1 维的步进式采集,从而有效地降低了采集二维谱的时间。该

方法虽然具有时间上的优势但是谱信息有所丢失,例如 J 耦合信息被掩藏。但是,该方法在谱图本身频点较多和拥挤的情况下,时间优势和采集到的谱图效果都会明显下降。Hadamard 技术结合 iMQCs 可以在不均匀磁场下获得高分辨谱,但仍然存在一定的局限性,这对于 Hadamard 技术的进一步研究提出了挑战。

注:本文通讯作者为黄悦,黄联芬。

参 考 文 献

- [1] CHEN X, LIN M J, CHEN Z, et al. High-resolution intermolecular zero-quantum coherence spectroscopy under inhomogeneous fields with effective solvent suppression [J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2007, 9(47): 6231-6240.
- [2] CAI C B, LIN Y Q, CAI S H, et al. High-resolution NMR spectra in inhomogeneous fields utilizing the CRAZED sequence without coherence selection gradients [J]. *Journal of Magnetic Resonance*, 2008, 193(1): 94-101.
- [3] BALLA D Z, FABER C. Localized intermolecular zero-quantum coherence spectroscopy in vivo [J]. *Concepts in Magnetic Resonance Part A*, 2008, 32A(2): 117-133.
- [4] CHEN Z, CHEN Z W, ZHONG J H, et al. High-resolution NMR spectra in inhomogeneous fields via IDEAL (intermolecular dipolar-interaction enhanced all lines) method [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(2): 446-447.
- [5] CHEN Z, CAI S H, CHEN Z W, et al. Fast acquisition of high-resolution NMR spectra in inhomogeneous fields via intermolecular double-quantum coherences [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2009, 130(8): 1-11.
- [6] HUANG Y Q, CHEN X, CAI S H, et al. High-resolution two-dimensional correlation spectroscopy in inhomogeneous fields: new application of intermolecular zero-quantum coherences [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2010, 132(13): 134507.
- [7] LIN M J, HUANG Y Q, CHEN X, et al. High-resolution 2D NMR spectra in inhomogeneous fields based on intermolecular multiple-quantum coherences with efficient acquisition schemes [J]. *Journal of Chemical Physics*, 2011, 208(1): 87-94.
- [8] KUPCE E, FREEMAN R. Multisite correlation spectroscopy with soft pulses. A new phase-encoding scheme [J]. *Journal of Magnetic Resonance Series A*, 1993, 105(3): 310-315.
- [9] BLECHTA V, FREEMAN R. Multi-site Hadamard NMR spectroscopy [J]. *Chemical Physics Letters*, 1993, 215(4): 341-346.
- [10] PATT S L. Single- and multiple-frequency-shifted laminar pulses [J]. *Journal of Magnetic Resonance*, 1992, 96(1): 94-102.
- [11] CHEN Y S, CAI S H, CAI C B, et al. High-resolution NMR spectroscopy in inhomogeneous fields via Hadamard encoded intermolecular double-quantum coherences [J]. *NMR in Biomedicine*, 2012, 25(9): 1088-1094.

(下转第 64 页)

R-square 是通过数据的变化来表征一个拟合的好坏。由上面的表达式可以知道 R-square(确定系数)的正常取值范围为[0 1],所以越接近 1,表明方程的变量对 y 的解释能力越强,这个模型对数据拟合的也较好。

根据表 1 的参数对两组信号之间的不同拟合函数的对比,可以看出傅里叶函数模型和方差小于多项式函数模型,而确定系数相对于多项式函数模型更接近 1。因此说明傅里叶拟合更加有效。也可以从图 3 定性对比看出,图 3(b)是多项式拟合,改变了信号晚期的曲线形状,图 3(a)是傅里叶拟合,在去除噪声的同时较好的保存了曲线的原始形状。

表 1 拟合模型的结果比较

| | 多项式拟合 | 傅里叶拟合 |
|----------------|-------------|-------------|
| SSE(和方差) | 2.217 1e+05 | 1.712 3e+05 |
| R-square(确定系数) | 0.996 7 | 0.997 5 |

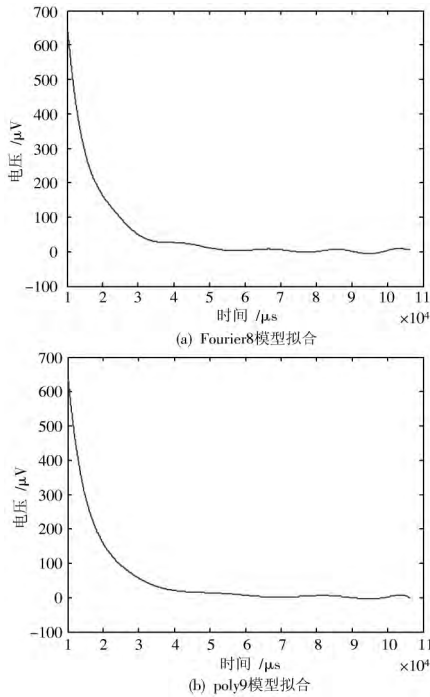


图 3 曲线拟合结果对比图

3 结 论

瞬变电磁信号具有非平稳特征,小波变换作为一种时频分析方法,非常适合瞬变电磁信号中通常夹带瞬变反常干扰信号的消噪处理。经过小波去噪后,信号依旧带有尖峰,需要对信号做进一步处理,以便使信号更加的光滑。通过小波消噪及曲线拟合处理,为 TEM 的解释工作提供了更加可靠的数据资料。在去噪过程中之所以没有直接使用拟合方法是因为原始信号中噪声复杂,因此直接拟合会将噪声纳入模型中,引起更大的误差。所以利用高分辨率的小波去噪方法将有效信号提取出来反而也能提高拟合的效果。瞬变信号的除噪,深入研究改善单一去噪法是必要的,将多种去噪方法有效结合也是行之有效的,其实际效果也是非常明显的。

注:本文通讯作者为李享元。

参 考 文 献

- [1] NABIGHIAN N M. Electromagnetic methods in applied geophysics theory volume I [M]. [S.l.]: Society of Sounding Geophysicists, 1988: 313-503.
- [2] 嵇艳鞠.浅层高分辨率瞬变电磁系统中全程二次场提取技术研究[D].长春:吉林大学,2004.
- [3] 牛之链.时间域电磁法原理[M].长沙:中南工业大学出版社,2007.
- [4] 薛国强,李貅,底青云.瞬变电磁法理论与应用研究进展[J].地球物理学进展,2007,22(4):1195-1200.
- [5] 王华军.时间域瞬变电磁法全区视电阻率的平移算法[J].地球物理学报,2008,51(6):1936-1942.
- [6] 王华军,罗延钟.中心回线瞬变电磁法 2.5 维有限单元算法[J].地球物理学报,2003,46(6):855-862.
- [7] 苏朱刘,胡文宝.中心回线方式瞬变电磁测深虚拟全区视电阻率和一维反演方法[J].石油物探,2002,41(2):216-220.
- [8] 张翠芳.小波阈值降噪效果影响因素的研究[J].西安邮电学院学报,2008,13(5):13-15.
- [9] 时圣利.瞬变电磁信号的几种去噪方法研究[D].长春:吉林大学,2008.

(上接第 60 页)

- [12] CAI C B, GAO F L, CAI S H, et al. Fast high-resolution 2D correlation spectroscopy in inhomogeneous fields via Hadamard intermolecular multiple quantum coherences technique [J]. Journal of Magnetic Resonance, 2011, 211(2): 162-169.
- [13] CHEN Y S, ZHANG Z Y, CAI C B, et al. Hadamard encoded

- 2D correlation spectroscopy in inhomogeneous fields [J]. Chemical Physics Letters, 2013, 563: 102-106.
- [14] LIN Yan-qin, ZHANG Qin-ta, CAI Shu-hui, et al. Localized two-dimensional correlated spectroscopy based on Hadamard encoding technique [C]// Proceedings of International Soc Mag Reson. Med: Submitted to Plos One, 2012: 4467-4467.

作者简介:高凤连(1985—),女,河北衡水人,助理工程师。主要研究方向为信号处理。
黄悦(1983—),女,福建厦门人,副教授。主要研究方向为数字图像处理。
黄联芬(1963—),女,福建厦门人,教授。主要研究方向为通信与信息工程。