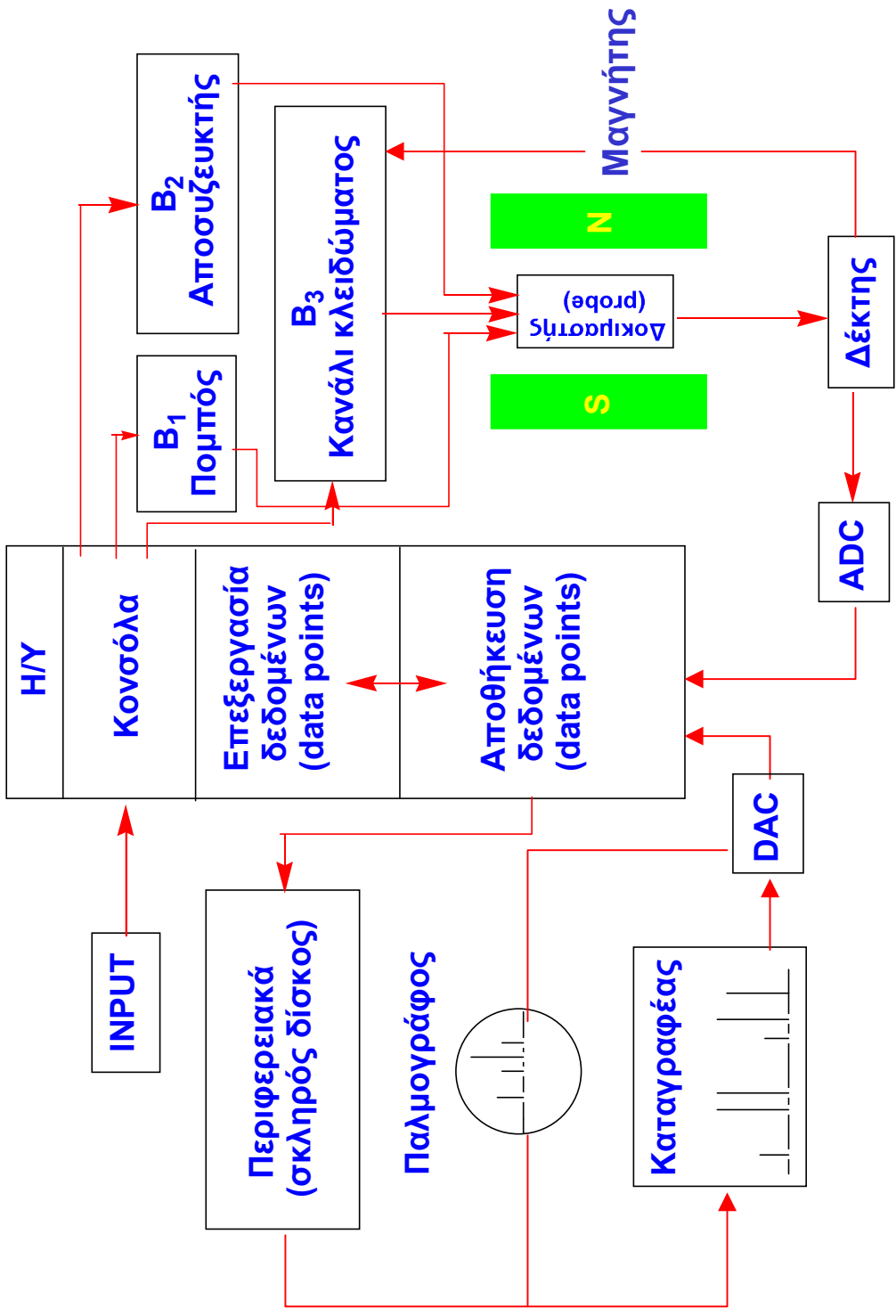


Φασματογράφος NMR

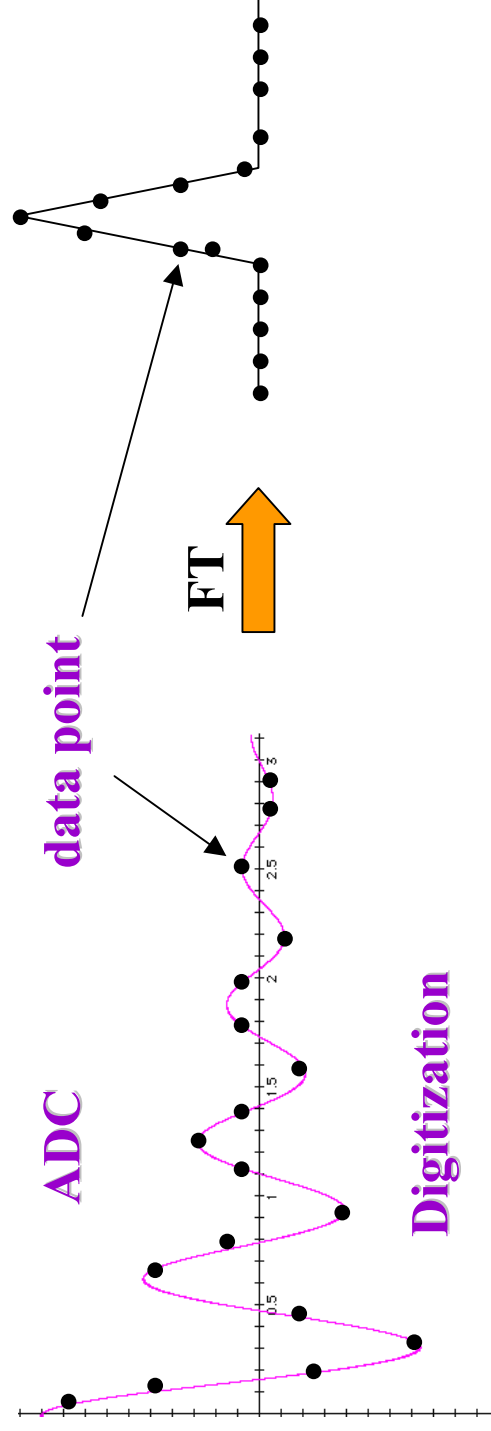


Ανίχνευση ή δειγματοληψία της FID

ADC (Analogue-to-digital converter ή Digitizer)

Ανιχνεύει ή κάνει τη δειγματοληψία (sampling ή digitization) της FID

Μετατρέπει το αναλογικό σήμα (mV) σε ψηφιακό αριθμό (bit)



- Κατά την ανίχνευση της FID συλλέγουμε δεδομένα σημεία (data points), τα οποία αποθηκεύονται σε ψηφιακή μορφή (αριθμούς) στη μνήμη του H/Y.
- Ο μέγιστος δυνατός αριθμός δεδομένων που αποθηκεύονται εξαρτάται από τη χωρητικότητα της μνήμης, η οποία εκφράζεται σε πολλαπλάσια του K ($1K = 2^{10} = 1024$ δεδομένα σημεία).

Ανίχνευση της FID (...)

- Ο χρόνος που χρειάζεται κάθε δεδομένο σημείο να αποθηκευτεί στη μνήμη ονομάζεται **χρόνος αποθήκευσης (Dwell time, t_D)**. Θεωρείται και το χρονικό διάστημα μεταξύ της λήψης δύο δεδομένων.
- Ο ολικός χρόνος δειγματοληψίας ή ανίχνευσης της **FID** ονομάζεται **χρόνος ανάκτησης ή ανίχνευσης (Acquisition time, t_{acq})**.
- Η περιοχή συχνοτήτων $\Delta\omega$ (ή $\Delta\nu$) όπου συντονίζονται οι πυρήνες ονομάζεται **φασματικό εύρος (Sweep Width, SW), $\Delta\omega = SW$** .

$$t_D = \frac{1}{2 \times SW}$$
$$t_{acq} = t_D \times N$$
$$t_{acq} = \frac{N}{2 \times SW}$$

N = αριθμός δεδομένων

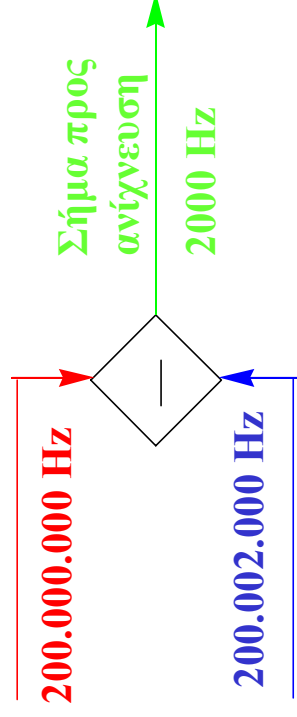
Οι τιμές των διαφόρων παραμέτρων *αλληλοεξαρτώνται*. Για παράδειγμα, ελάττωση του φασματικού εύρους οδηγεί σε αύξηση του χρόνου αποθήκευσης των δεδομένων και σε αύξηση του χρόνου ανάκτησης για αριθμό δεδομένων N . Ο χρόνος ανάκτησης αυξάνεται, επίσης, με την αύξηση του N για δοθέν φασματικό εύρος. Η ρύθμιση αυτών των παραμέτρων είναι σημαντική για τη λήψη ενός φάσματος μεγάλης ευαισθησίας και υψηλής διακριτικής ικανότητας, όπως θα δούμε παρακάτω.

Ανίχνευση της FID (...)

Είναι γνωστό, ότι στα φάσματα NMR οι χημικές μετατοπίσεις αντανακλούν διαφορές συχνοτήτων μεταξύ των κορυφών και όχι τις απόλυτες συχνοτήτες συντονισμού. Οι πρώτες είναι της τάξης των kHz και αντανακλούν την επίδραση του χημικού περιβάλλοντος στο συντονισμό των πυρήνων, ενώ οι δεύτερες είναι της τάξης των MHz.

Για παράδειγμα, ένα φάσμα ^1H NMR, το οποίο καταγράφεται στα 200 MHz αντιστοιχεί σε μια περιοχή συχνοτήτων 2-3 kHz. Επομένως, αντί να κάνουμε τη χρονοβόρα δειγματοληψία πολλών MHz, είναι πιο πρόσφορο να αφαιρέσουμε μια συχνοτητα αναφοράς από τις συχνοτητες που περιλαμβάνει η FID πριν από την ανίχνευσή της.

Συχνοτητα αναφοράς



Σήμα NMR

Ραδιοσυχνότητα

ακουστική
συχνότητα

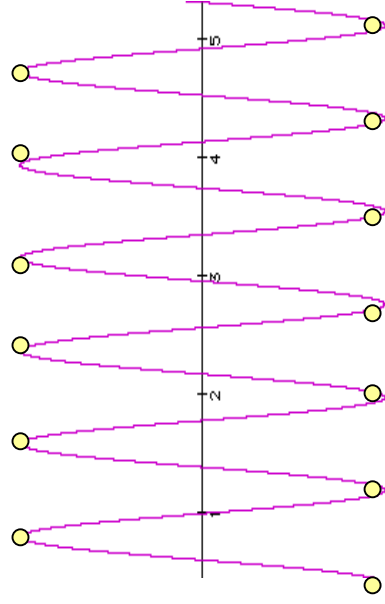
Ανίχνευση της FID (Συνθήκη του Nyquist)

Ερώτηση: Πόσα δεδομένα μπορούμε να συλλέξουμε ή διαφορετικά, ποια θα πρέπει να είναι η ταχύτητα δειγματοληψίας της FID;

Απάντηση: Αυτή εξαρτάται από τη μεγαλύτερη συχνότητα της FID, ή πιο γενικά από την περιοχή συχνοτήτων $\Delta\omega$ όπου συντονίζονται οι πυρήνες, δηλαδή από το φασματικό εύρος.

Συνθήκη του Nyquist: Για να κάνουμε επαρκή δειγματοληψία της FID, θα πρέπει να συλλέξουμε τα δεδομένα με ταχύτητα διπλάσια του φασματικού εύρους.

SW = 5000 Hz (κύκλοι/s) \Rightarrow ταχύτητα δειγματοληψίας = 10.000 Hz



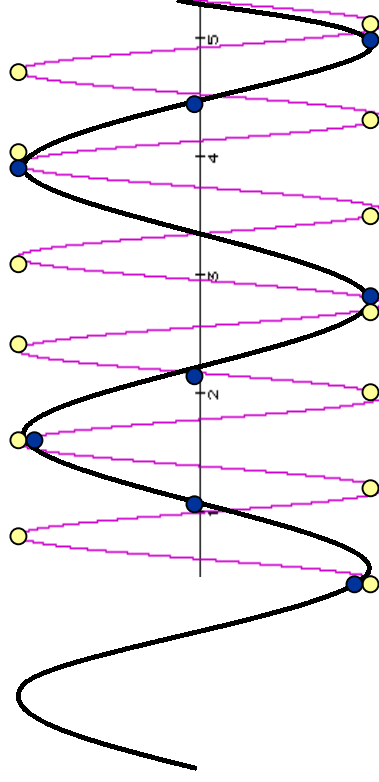
Συλλογή 2 δεδομένων στα σημεία \circ ανά μήκος κύματος.

Αναδίπλωση κορυφών (Folding ή Aliasing)

Ερώτηση: Τι θα συμβεί αν η δειγματοληψία της FID γίνει πιο αργά, δηλαδή με ταχύτητα μικρότερη από τη συχνότητα του Nyquist; Αν μ' άλλα λόγια η συχνότητα μιας κορυφής στο φάσμα βρίσκεται σε συχνότητα μεγαλύτερη από το φασματικό εύρος που καλύπτει η συνθήκη του Nyquist.

Συχνότητα Nyquist = $2 \times SW$

Συχνότητα κορυφής = $SW + \delta\omega$

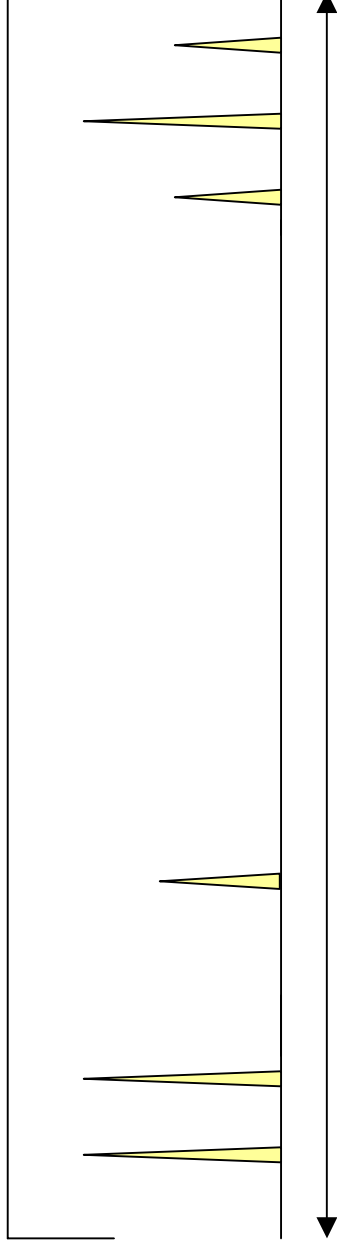


Η ανίχνευση στα σημεία \circ γίνεται με τη συχνότητα Nyquist. Η ανίχνευση στα σημεία \bullet γίνεται με ταχύτητα μισή της συχνότητας Nyquist (συλλογή ενός δεδομένου ανά μήκος κύματος).

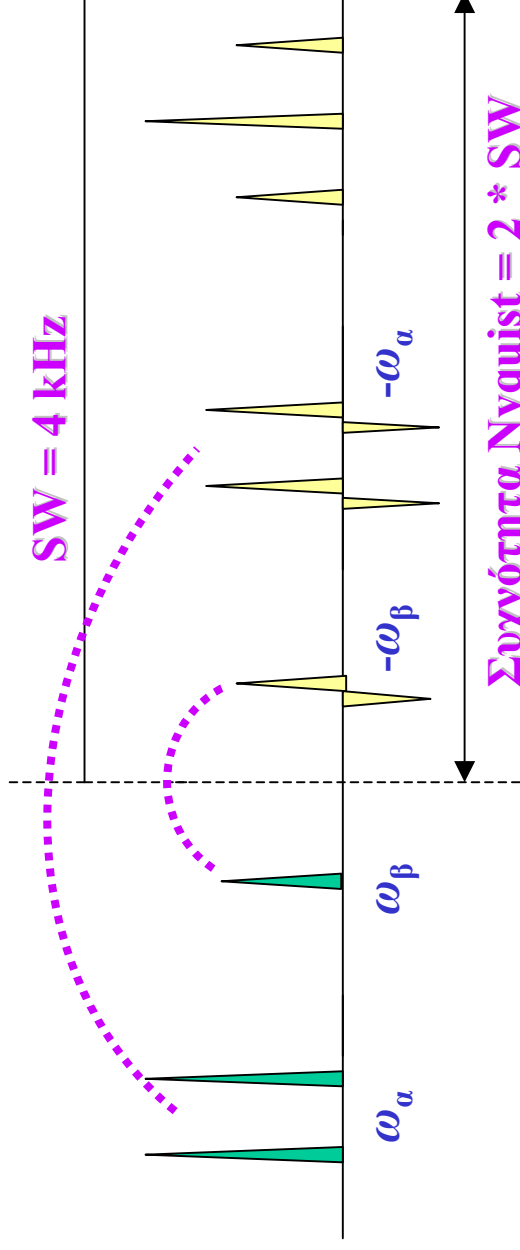
Ο Η/Υ αναγνωρίζει τα σημεία δειγματοληψίας από την περιοχή $SW + \delta\omega$ ως να προέρχονται από την περιοχή $SW - \delta\omega$. Η κορυφή εμφανίζεται αναδιπλωμένη στο φάσμα στη θέση $-\delta\omega$ με διαφορετική φάση από τις υπόλοιπες κορυφές. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται **αναδίπλωση**.

Αναδίπλωση κορυφών (...)

SW = 6 kHz



Συχνότητα Nyquist = 2 * SW

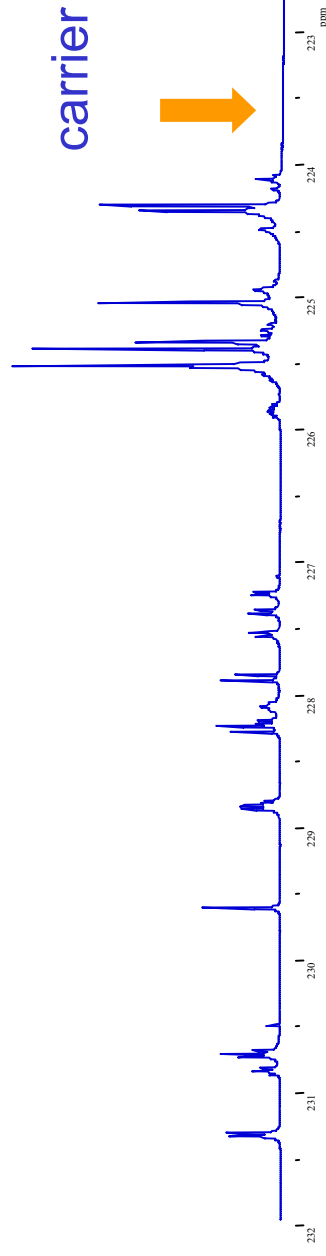


Συχνότητα Nyquist = 2 * SW

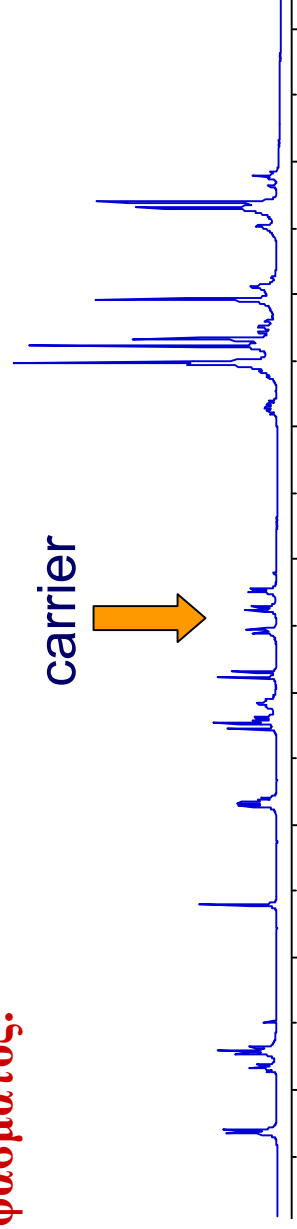
Όταν το φασματικό εύρος γίνει μικρότερο (4 kHz), οι κορυφές ω_α και ω_β βρίσκονται εκτός και αναδιπλώνονται στο φάσμα με λάθος φάση. Αυτό συμβαίνει γιατί η δειγματοληψία, η οποία γίνεται με τη συχνότητα Nyquist (8 kHz) δεν αναγνωρίζει τις δύο κορυφές. Ο Η/Υ όμως, επεξεργάζεται τα δεδομένα αυτών των κορυφών σαν να έχουν συχνότητες $-\omega_\alpha$ και $-\omega_\beta$.

Απλή Ανίχνευση

Παλαιότερα η εφαρμογή του παλμού B_1 (carrier) γινόταν, στην αρχή ή στο τέλος του φάσματος (συχνότητα του B_1 μεγαλύτερη ή μικρότερη, αντίστοιχα, από όλες τις άλλες συχνότητες). Αυτό γινόταν για να αποφύγουμε να έχουμε συχνότητες ταχύτερες ή βραδύτερες από τη συχνότητα του carrier. Έτσι, ο Η/Υ "γνώριζε" πάντα το πρόσημο των συχνότητων στην FID.



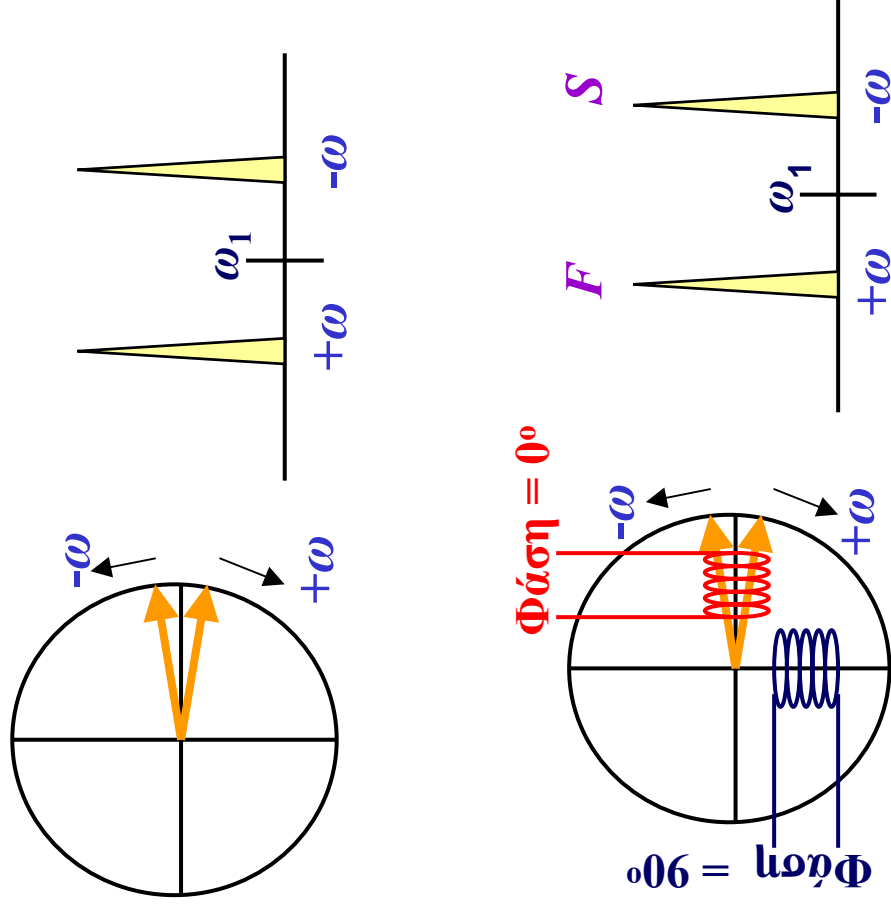
Παρουσιάζονται δύο προβλήματα. Πρώτον, ο θόρυβος δεν ανιχνεύεται κατάλληλα και αναδιπλώνεται στο φάσμα. Δεύτερον, για τη διέγερση συχνότητων μακριά από τον carrier, χρειαζόμαστε πολύ ισχυρούς και ομοιογενείς παλμούς, τους οποίους δεν έχουμε πάντα στη διάθεσή μας. Μια λύση είναι η τοποθέτηση του carrier στη μέση του φάσματος.



Ανίχνευση Quadrature

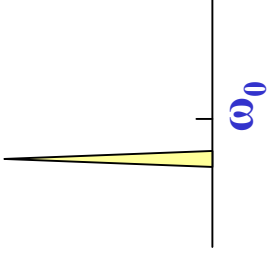
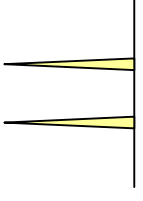
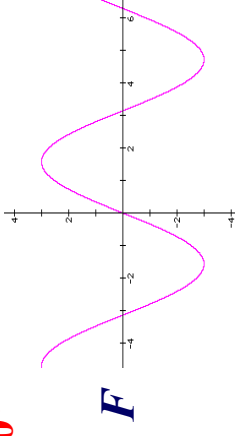
Αν τοποθετήσουμε το B_1 στο μέσον του φάσματος, τότε ο H/Y δεν μπορεί να διακρίνει τις ταχύτερες ($+ω$) από τις βραδύτερες συχνότητες ($-ω$) σε σχέση με τη συχνότητα του B_1 .

Το πρόβλημα λύνεται αν τοποθετήσουμε δύο δέκτες σε θέση 90° (δηλαδή με διαφορά φάσης 90°) τον ένα από τον άλλο. Ο ένας δέκτης τοποθετείται κατά μήκος του άξονα y και ανιχνεύει τη συνιμητονοειδή FID ($\cos\omega t$) και ο άλλος κατά μήκος του άξονα x και ανιχνεύει την ημιτονοειδή FID ($\sin\omega t$). Αυτός ο τρόπος ανίχνευσης ονομάζεται quadrature.

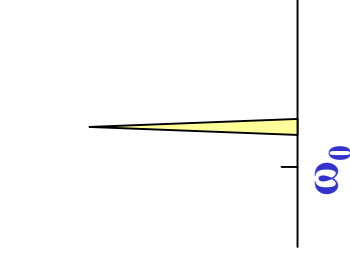
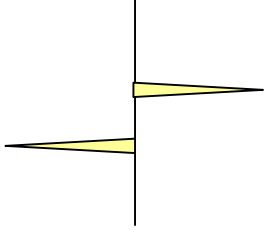
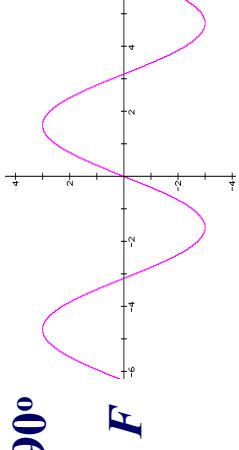


Ανίχνευση Quadrature (...)

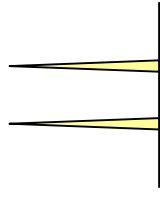
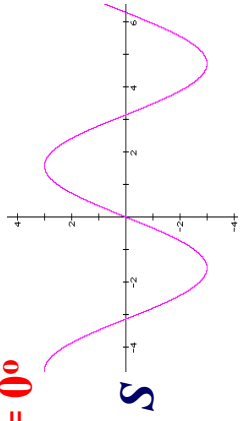
Φάση = 0°



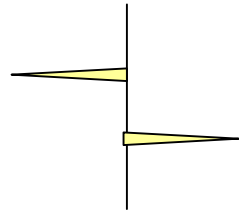
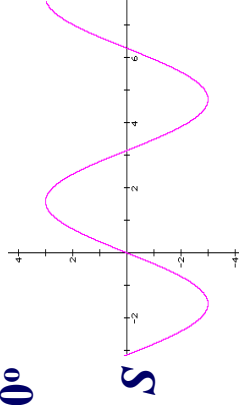
Φάση = 90°



Φάση = 0°



Φάση = 90°



Χρόνος ανάκτησης και διακριτική ικανότητα

Η διακριτική ικανότητα είναι από τις πλέον σημαντικές παραμέτρους κατά τη λήψη φασμάτων NMR διότι καθορίζει κατά πόσον οι κορυφές ξεχωρίζουν μεταξύ τους. Ανεπαρκής διακριτική ικανότητα μπορεί να οδηγήσει σε επικαλύψεις κορυφών, ή στην αδυναμία να παρατηρήσουμε μικρές συζεύξεις.

Η διακριτική ικανότητα ανάγεται στο εύρος της κορυφής στο μέσο ύψος ($\Delta\omega_{1/2}$). Όσο πιο μικρό αυτό το εύρος, τόσο πιο καλή είναι η διακριτική ικανότητα. Το εύρος εξαρτάται από τη φυσική αποδιέγερση του πυρήνα και την ανομοιογένεια του πεδίου B_0 . Ο τελευταίος παράγοντας της ανομοιογένειας καθίσταται σχεδόν αμελητέος με τη σύγχρονη οργανολογία NMR.

Ένας τρίτος παράγοντας που επιδρά στη διακριτική ικανότητα είναι ο χρόνος ανάκτησης, t_{acq} , ο ολικός χρόνος δειγματοληψίας της FID. Ο χρόνος ανάκτησης συνδέεται με τη (ψηφιακή) διακριτική ικανότητα (DR).

$$t_{acq} = \frac{N}{2 \times SW}$$

Στην εξίσωση της DR, χρησιμοποιήσαμε το ήμισυ του αριθμού των δεδομένων (SI = N/2), τα οποία μετά το μετασχηματισμό Φουριέ παρέχουν το πραγματικό φάσμα (τα υπόλοιπα N/2 δεδομένα παρέχουν το φανταστικό φάσμα).

$$DR = \frac{SW}{N/2} = \frac{2 \times SW}{SI} = \frac{1}{t_{acq}}$$

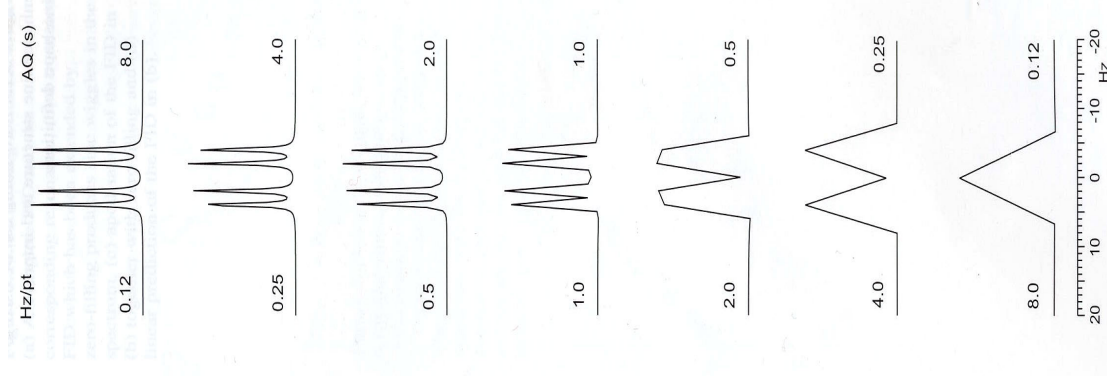
Χρόνος ανάκτησης και διακριτική ικανότητα (...)

$$DR = \frac{SW}{N/2} = \frac{2 \times SW}{SI} = \frac{1}{t_{acq}}$$

Η DR εκφράζεται σε Hz/data point (Hz/pt)

Η διακριτική ικανότητα αυξάνεται (η DR ελαττώνεται) όταν αυξάνεται ο χρόνος ανάκτησης, ο οποίος με τη σειρά του αυξάνεται όταν αυξάνεται ο αριθμός των δεδομένων σημείων, ή όταν ελαττώνεται το φασματικό εύρος. Επομένως, το φάσμα παρουσιάζει μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα όταν η δειγματοληψία της FID γίνεται σε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Στα φάσματα πρωτονίου, ανιχνεύονται μικρές διαφορές συχνοτήτων (<1 Hz). Επομένως, χρησιμοποιούνται χρόνοι ανάκτησης 2-4 s, οι οποίοι αντιστοιχούν σε DR 0.5-0.25 Hz/data point



Ψηφιακό φίλτράρισμα της FID

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι επεξεργασίας των δεδομένων σημείων πριν από το μετασχηματισμό Φουριέ της FID, σε μια προσπάθεια να αυξησουμε, είτε την ευαισθησία, είτε τη διακριτική ικανότητα του πειράματος, έτσι ώστε να εξαχθούν από το φάσμα περισσότερες πληροφορίες.

Η επεξεργασία της FID γίνεται ψηφιακά (ψηφιακό φίλτράρισμα), χρησιμοποιώντας μαθηματικές συναρτήσεις, τις λεγόμενες **weighting functions** ή **window functions**, ή φίλτρα. Κατά το ψηφιακό φίλτράρισμα, κάθε δεδομένο της FID πολλαπλασιάζεται με την κατάλληλη μαθηματική συνάρτηση.

Υπάρχουν πολλές τέτοιες συναρτήσεις, από τις οποίες ένας πολύ μικρός αριθμός χρησιμοποιείται.

Εκθετικές συναρτήσεις

$$g(t) = e^{+kt}$$

Αυξάνεται η διακριτική ικανότητα

$$g(t) = e^{-\lambda t}$$

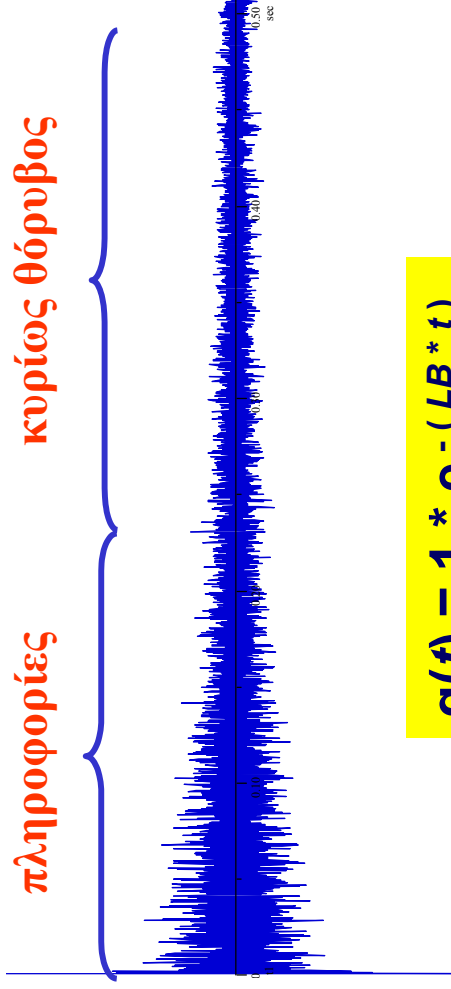
Αυξάνεται η ευαισθησία

Gaussian/Lorentzian

$$g(t) = e^{kt - vt^2}$$

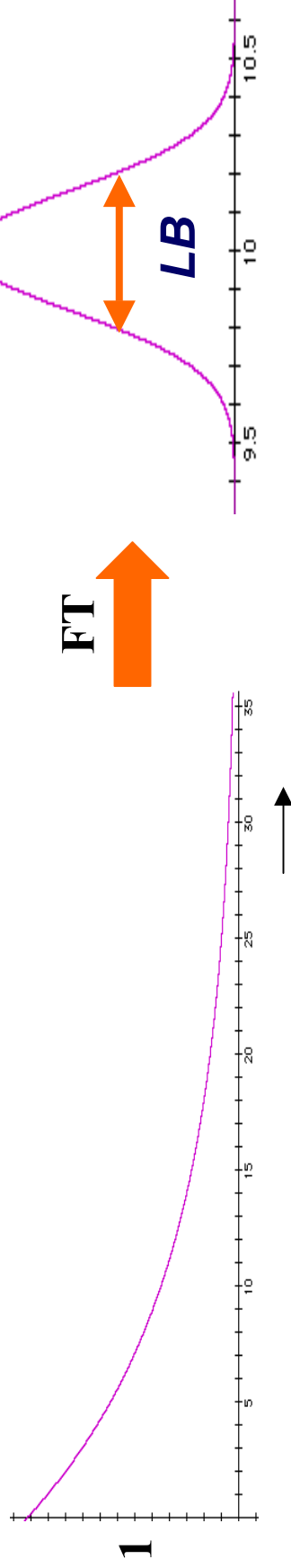
Αυξάνεται η ευαισθησία και η διακριτική ικανότητα

Αύξηση της ευαισθησίας



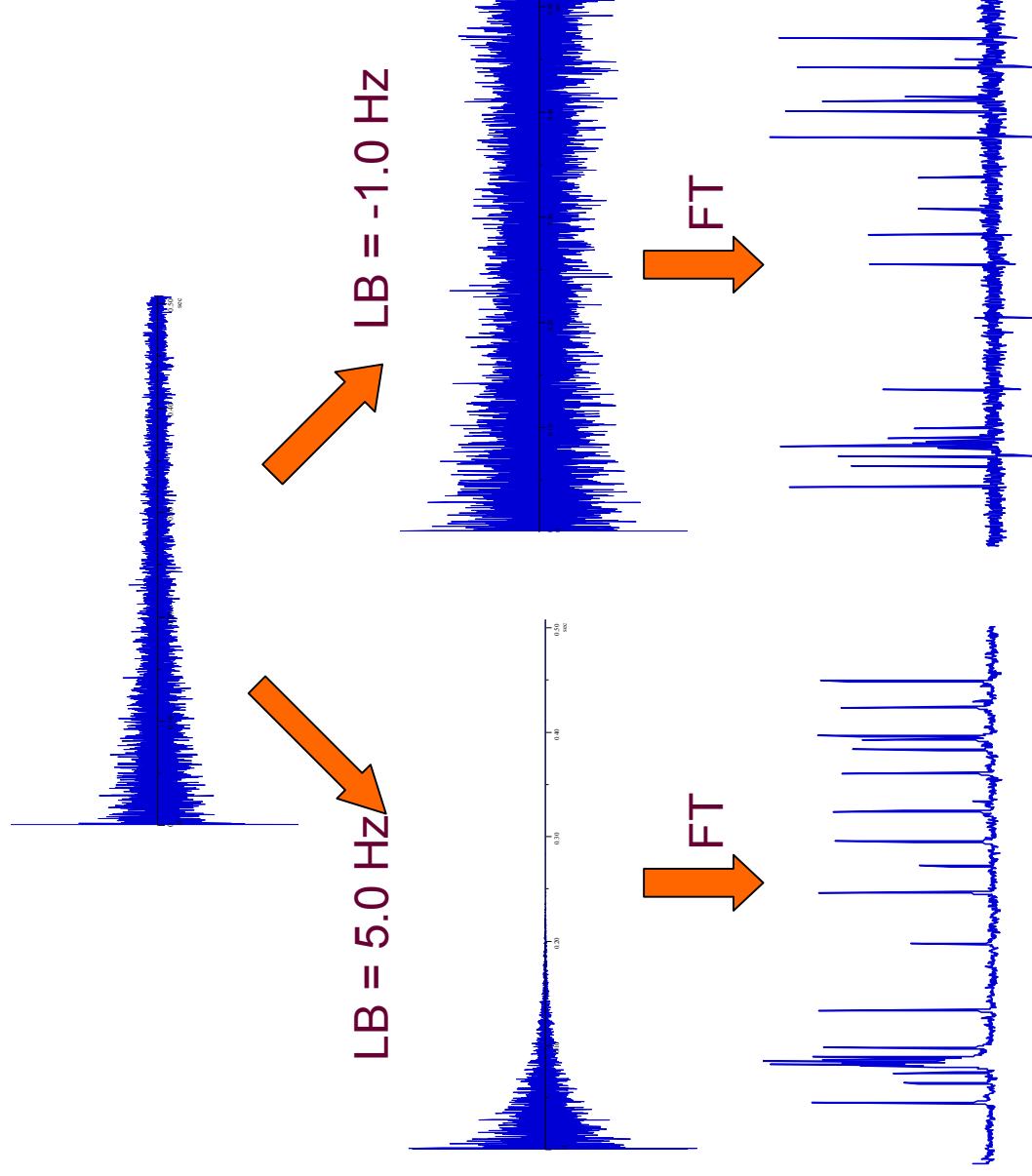
$$g(t) = 1 * e^{- (LB * t)}$$

Η αληθινή πληροφορία (το φάσμα) περιέχεται στο πρώτο τμήμα της **FID**. Καθώς η M_{xy} αποσβαίνει, έχουμε όλο και περισσότερο θόρυβο. Επομένως, θα πρέπει με κάποιο τρόπο να φιλτράρουμε το θόρυβο, ή να 'ακρωτηριάσουμε' την **FID**.



Ο μετασχηματισμός αυτής της συνάρτησης είναι μια λορεντζιανή καμπύλη με εύρος στο μέσο ύψος ανάλογο της ταχύτητας απόσβεσης (παράμετρος **LB** σε **Hz**).

Αύξηση της ευαισθησίας και της διακριτικής ικανότητας

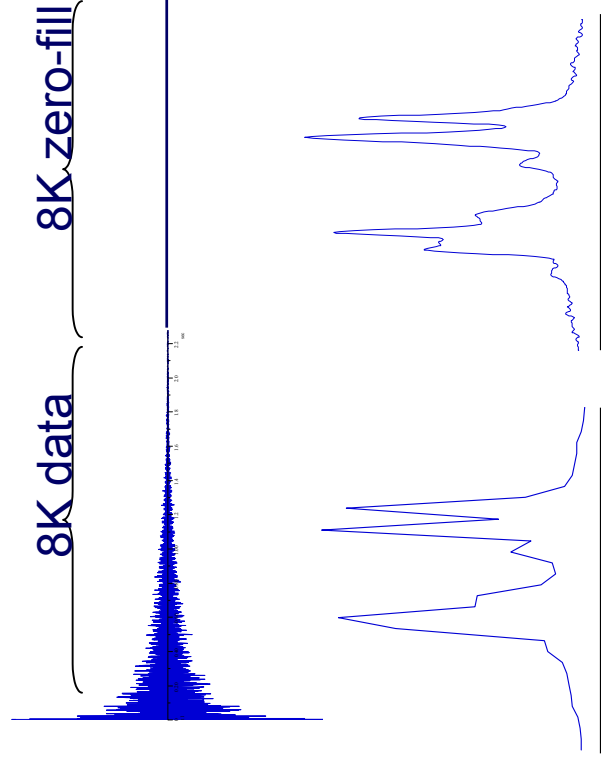


Εάν στην προηγούμενη συνάρτηση χρησιμοποιήσουμε LB με αντίθετο πρόσημο, ο εκθετικός όρος αυξάνεται, αντί να ελαττώνεται. Το λαμβανόμενο σήμα μετά την εφαρμογή της συνάρτησης έχει στενότερο εύρος. Μ' άλλα λόγια αυξάνεται η διακριτική ικανότητα, αλλά ελαττώνεται ο λόγος S/N , δηλαδή η ευαισθησία.

Προσθήκη μηδενικών (Zero-Filling)

Αναφέρθηκε προηγουμένως, ότι η δειγματοληψία της **FID** σε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα αυξάνει τη διακριτική ικανότητα. Επίσης, οι πολλές επαναλήψεις του πειράματος οδηγούν στην αύξηση της ευαισθησίας. Αυτό είναι σωστό στην περίπτωση που η **FID** μηδενίζεται στο τέλος του χρόνου ανάκτησης. Στην αντίθετη περίπτωση, οι συνεχείς επαναλήψεις προσθέτουν θόρυβο στο φάσμα, εφόσον ο θόρυβος δεν αποσβένει χρονικά όπως η **FID**.

Στην περίπτωση που η **FID** έχει μηδενισθεί στο τέλος του χρόνου ανάκτησης, μπορούμε να αυξήσουμε τεχνητά τη **DR** προσθέτοντας δεδομένα σημεία (μηδενικά) στο τέλος της **FID**. Το τεχνασμα αυτό ονομάζεται **προσθήκη μηδενικών (zero filling)**. Μ' άλλα λόγια εκείνο που κάνουμε είναι να αυξήσουμε τα δεδομένα σημεία στην **FID** πριν από το μετασχηματισμό Φουριέ. Ο αριθμός των μηδενικών είναι συνήθως ίσος με πολλαπλάσια του **K** (π.χ. **4K**, **8K**). Πάντως, η μέθοδος αυτή δεν βοηθά, εάν το πείραμα δεν είναι καλής ποιότητας (π. χ. κακή διακριτική ικανότητα, ή κακή ευαισθησία).



8K FID

16K FID

Γραμμική πρόβλεψη (Linear Prediction)

Ένα άλλο τέχνασμα αύξησης της **DR** είναι η πρόβλεψη της τιμής των χαμένων δεδομένων μιας "ακρωτηριασμένης" (δεν έχει μηδενισθεί στο τέλος του χρόνου ανάκτησης) **FID** χρησιμοποιώντας προηγούμενα γνωστά δεδομένα της (υπό τη μορφή γραμμικού συνδυασμού). Με αυτό το τέχνασμα επιμηκύνουμε με αυθεντικό τρόπο την **FID**, χωρίς τη χρήση φίλτρων ή την προσθήκη μηδενικών στο τέλος της.

$$d_n = a_1 d_{n-1} + a_2 d_{n-2} + a_3 d_{n-3} + a_4 d_{n-4} + \dots$$

d_n = άγνωστο δεδομένο

d_{n-1}, d_{n-2}, \dots = γνωστά δεδομένα

Η γραμμική πρόβλεψη δεν είναι τόσο αποτελεσματική για πειράματα **1D** και χρησιμοποιείται σπάνια Αντίθετα είναι πολύτιμη για την επεξεργασία δεδομένων σε πειράματα **2D** ή **3D NMR**, όπου η **FID** είναι πάντα ακρωτηριασμένη.

Η γραμμική πρόβλεψη είναι ανώτερη από την προσθήκη μηδενικών και παρέχει πολύ καλύτερη προσέγγιση των αληθινών δεδομένων από την απλή προσάρτηση μηδενικών. Επίσης, αποκαθιστά κατεστραμμένα ή/και παραμορφωμένα δεδομένα.

Περιορισμοί:

- σήματα υψηλής ευαισθησίας (S/N)
- τα γνωστά δεδομένα πρέπει να είναι πολύ περισσότερα από τις συνιστώσες της **FID**.