

辐射阻尼引起二维核磁共振 NOESY 谱中的伪信号^{*}

郭建新 毛希安

(中国科学院武汉物理研究所波谱与原子分子物理国家重点实验室, 武汉 430071)

(1995 年 10 月 16 日收到)

讨论水溶液样品 NOESY 谱 ω_1 维上出现的谐波, 用辐射阻尼线形理论对实验进行了分析, 证明了这些谐波是由辐射阻尼造成的伪信号. 同时分析了这种伪信号在不同混合时间时的线形特征, 与实验结果符合相当好, 给出了实验上消除这种伪信号的方法.

PACC: 3325; 7660; 7690

1 引 言

辐射阻尼^[1]是指在一定条件下制备的相位高度协调同步的核自旋体系以超辐射方式恢复到平衡态的机制. Bloembergen 和 Bloom^[2,3]给出这种情况下描述宏观磁化矢量运动的动力学方程. 随着谱仪向高磁场、高 Q 值探头方向发展, 辐射阻尼效应越来越受到人们的重视^[4-9]. 辐射阻尼在二维实验中的效应正不断地得到揭示. Warren 等^[10]最近发现, 即使对最简单的样品水作最简单的二维相关谱(COSY)实验, 如果存在射频偏置, 在 ω_1 维上将出现一系列谐波. 然而对这些谐波的解释却有争议. 我们在已建立的辐射阻尼线形理论^[4,5]的基础上, 阐明了 COSY 谱中的这些谐波是由辐射阻尼造成的伪信号^[11], 而不是由分子间相互作用产生的多量子信号.

核磁共振二维谱技术的日臻完善使得它成为研究水溶液中生物分子结构的一种必不可少的手段, 尤其是核间 Overhauser 增强谱(NOESY)提供了计算溶液中分子空间构象的约束参数^[12,13], 而显得更加重要, 但是各种各样的伪信号却严重地影响着谱图的正确解析. 最近 Bain 等^[14]综述了各种伪信号的产生机制及其在谱图中的表现, 但并没有涉及到人们关注的辐射阻尼效应. 水溶液样品在现代高场谱仪上进行实验时辐射阻尼的影响却是相当严重的. 鉴于 NOESY 谱在解析水溶液中分子空间构象方面的重要性, 本文在讨论 COSY 实验的基础上^[11]对 NOESY 实验进行了深入的分析. 为了讨论方便, 样品仍选用最简单的水, 因为实际的水溶液样品中溶质分子的含量非常小, 溶质分子是不可能产生可观察到的辐射阻尼效应的.

本文首先讨论水的 NOESY 谱上的谐波, 从理论上说明它们是由辐射阻尼造成的伪信

^{*} 国家自然科学基金资助的课题.

号, 然后分析伪信号随混合时间的变化特征, 最后给出实验上怎样消除这种伪信号. 本文的结果对于认识辐射阻尼在生物样品二维实验中的效应具有重要意义.

2 NOESY 谱中的谐波

图 1 给出在 Bruker ARX-500 核磁共振谱仪上对水作质子 NOESY 实验所得到的结果. 实验中采用的是通常的 NOESY 序列 $\{\pi/2 - t_1 - \pi/2 - \tau_m - \pi/2 - \text{FID}\}$, 单次采样, 并且所有脉冲和接收机相位都为 X. ω_1 维实行的是正交检测, 射频偏置 $\Delta\omega$ 在二维上都取为 167 Hz. 在 $\omega_2 = \Delta\omega$ 的切片(图 1 左侧)上可以清楚地看到每一级谐波, 谐波之间的间隔为 $\Delta\omega$. 为了清楚地看出这些谐波的特征, 实验中没有进行任何相位循环累加, 以免某些阶次的谐波被消除掉. 傅里叶变换时我们在二维上都乘以相移 $\pi/6$ 的正弦窗函数对 FID 信号进行处理, 最终结果用绝对值方式表示.

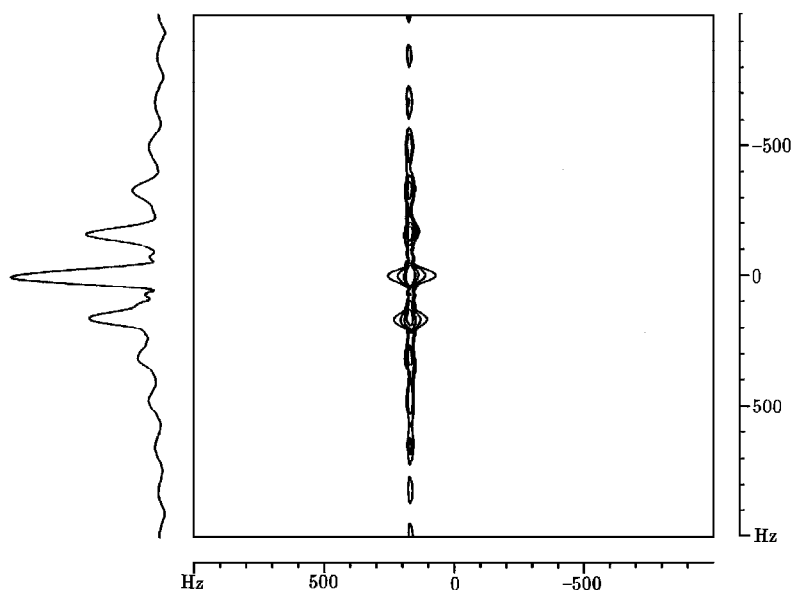


图 1 80% $\text{H}_2\text{O}/20\% \text{D}_2\text{O}$ 样品的质子 NOESY 谱. 实验在 Bruker ARX-500 核磁共振谱仪上进行, 混合时间 1 ms, 射频偏置在二维上都取 167 Hz, t_1 维采样点数为 64, 傅里叶变换前在二维上都乘以相移 $\pi/6$ 的正弦窗函数. 左侧显示 $\omega_2 = \Delta\omega$ 的切片, 在 $\Delta\omega$ 整数倍的位置上出现一系列用常规 NMR 理论难以解释、并被误解为分子间相互作用产生的谐波

3 谐波的理论解释

水分子中的两个质子是磁等价的, 不存在磁不等价核之间的耦合, 整个体系可看作是一个自旋为 1/2 的自旋系统, 因而在静磁场中应该只有一个共振频率. 对其作 NOESY 实验所得到的 FID 信号按通用的 NMR 理论应为

$$s(t_1, t_2) = M_0 \exp(-\tau_m/T_2^*) \sin(\Delta\omega t_1) \exp(-t_1/T_2^*) \exp[(i\Delta\omega - 1/T_2^*)t_2], \quad (1)$$

其中 T_2^* 为有效横向弛豫时间. 该 FID 关于 t_1, t_2 的傅里叶变换谱在 $\omega_2 = \Delta\omega$ 的切片上只会有一峰, 不可能产生任何谐波.

但是(1)式并未考虑辐射阻尼效应. 对于样品水而言, 辐射阻尼足够强, 以至于可以略去弛豫的影响. 我们用密度算符方法仔细分析在辐射阻尼影响下的 NOESY 实验. 平衡态时的密度算符可用 I_x 表示, 第一个 $(\pi/2)_x$ 脉冲作用后将变为 I_y . 在演化期 I_y 将以(2)式进行演化^[4]:

$$I_y \xrightarrow{t_1} I_x \sin(\Delta\omega t_1) \sin \theta_1 + I_y \cos(\Delta\omega t_1) \sin \theta_1 + I_z \cos \theta_1, \quad (2)$$

其中 θ_1 为

$$\theta_1 = 2 \arctan[\tan(\theta_0/2) \exp(-t_1/T_r)] = 2 \arctan[\exp(-t_1/T_r)]. \quad (3)$$

由于辐射阻尼的作用, θ_1 将从 $\pi/2$ 开始随着 t_1 的增大而逐渐变小, 当 t_1 大于 $5T_r$ 时, θ_1 将趋近于零. 注意因我们在讨论中略去了弛豫的影响, 磁化矢量在演化期间将不可能有任何散相而始终保持相干. 第二个 $(\pi/2)_x$ 脉冲作用后的密度算符变为

$$I_x \sin(\Delta\omega t_1) \sin \theta_1 + I_y \cos \theta_1 - I_x \cos(\Delta\omega t_1) \sin \theta_1. \quad (4)$$

此时磁化矢量处在一个新的方向角, 记为 (θ_2, ϕ_2) . 根据(4)式, 可得到

$$\theta_2 = \arccos[-\cos(\Delta\omega t_1) \sin \theta_1], \quad (5)$$

$$\cos \phi_2 = \cos \theta_1 / \sin \theta_2, \quad (6a)$$

$$\sin \phi_2 = \sin(\Delta\omega t_1) \sin \theta_1 / \sin \theta_2, \quad (6b)$$

于是可将(4)式用意义更明确的形式表示为

$$I_x \sin \phi_2 \sin \theta_2 + I_y \cos \phi_2 \sin \theta_2 + I_z \cos \theta_2. \quad (7)$$

当经过混合时间 τ_m 后, 体系的密度算符形式上也可以表示为

$$I_x \sin \phi_3 \sin \theta_3 + I_y \cos \phi_3 \sin \theta_3 + I_z \cos \theta_3, \quad (8)$$

易推得

$$\theta_3 = 2 \arctan[\tan(\theta_2/2) \exp(-\tau_m/T_r)], \quad (9)$$

$$\phi_3 = \phi_2 + \Delta\omega\tau_m. \quad (10)$$

最后一个 $(\pi/2)_x$ 脉冲作用后体系的密度算符变为

$$I_x \sin \phi_3 \sin \theta_3 + I_y \cos \theta_3 - I_x \cos \phi_3 \sin \theta_3. \quad (11)$$

若用新的方向角 (θ_4, ϕ_4) 表示, (11)式可改写为

$$I_x \sin \phi_4 \sin \theta_4 + I_y \cos \phi_4 \sin \theta_4 + I_z \cos \theta_4, \quad (12)$$

其中

$$\theta_4 = \arccos[-\cos \phi_3 \sin \theta_3], \quad (13)$$

$$\cos \phi_4 = \cos \theta_3 / \sin \theta_4, \quad (14a)$$

$$\sin \phi_4 = \sin \phi_3 \sin \theta_3 / \sin \theta_4. \quad (14b)$$

检测到的 FID 信号只与 θ_4 和 ϕ_4 有关, 这样可以写出强辐射阻尼条件下二维 NOESY 实验 FID 信号的解析表达式(其中取 I_y 分量为实部, I_x 分量为虚部)为

$$s(t_1, t_2) = M_0 \exp[i(\Delta\omega t_2 + \phi_4)] \operatorname{sech}\{t_2/T_r - \ln[\tan(\theta_4/2)]\}. \quad (15)$$

FID 信号的表达式仍是一个双曲正割函数,与一维 FID 信号的表达式形式上完全相同,演化期间辐射阻尼的影响包含在参数 θ_4 和 ϕ_4 中.

根据已知的线形公式^[4],对 t_2 作傅里叶变换得到的 $s(t_1, \omega_2)$ 为

$$s(t_1, \omega_2) = \begin{cases} 2 M_0 \exp(i \phi_4) \sum_{n=0}^{\infty} (-1)^n \frac{(2n+1)/T_r}{[(2n+1)/T_r]^2 + (\omega_2 - \Delta\omega)^2} [\tan(\theta_4/2)]^{2n+1} \\ \quad (\theta_4 < \pi/2), \\ 2 M_0 \exp(i \phi_4) \sum_{n=0}^{\infty} (-1)^n \frac{(2n+1)/T_r}{[(2n+1)/T_r]^2 \pm (\omega_2 - \Delta\omega)^2} \\ \quad \times \{2 \cos\{(\omega_2 - \Delta\omega) T_r \ln[\tan(\theta_4/2)]\} - [\cot(\theta_4/2)]^{2n+1}\} \quad (\theta_4 \geq \pi/2). \end{cases} \quad (16)$$

自变量 t_1 隐含在参数 θ_4 和 ϕ_4 中.由于 θ_4 和 ϕ_4 是关于 t_1 的复杂函数,(16)式关于 t_1 的傅里叶变换 $s(\omega_1, \omega_2)$ 的解析式求解相当困难.当然可以借助计算机求出它的数值解,但是对(16)式在整个 ω_2 区间上关于 t_1 进行傅里叶变换并没有必要,因为谐波仅出现在 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上.因而可以令 $\omega_2 = \Delta\omega$,并由(16)式得

$$s(t_1, \omega_2 = \Delta\omega) = M_0 T_r \theta_4 \exp(i \phi_4). \quad (17)$$

这就是我们希望得到的 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上的 FID 信号,其实部和虚部分别如图 2(a)和(b)所示,看上去和通常的一维 FID 信号还是有区别的,明显地可断定它包含多个频率.图 2(c)是(17)式的傅里叶变换谱,为了和实验结果相比较,也采用绝对值方式.从中看出它和图 1 左侧的实验谱无论是谐波的位置、个数,还是每一级谐波的峰强和线宽都完全一致.

需要指出的是,如果实验时谱宽取得太小而高次谐波又比较强,辐射阻尼造成的这些谐波甚至会反折过来(与正常谱峰的反折规则完全相同),使得谐波不一定都出现在 $\omega_1 = \pm n\Delta\omega$ 处.

如果实验中不设立化学位移偏置,即 $\Delta\omega$ 为零,此时从(17)式可得到

$$\begin{aligned} s(t_1, \omega_2 = 0) &= M_0 T_r \theta_4 \exp(i \phi_4) \\ &= M_0 T_r \arccos(-\sin \theta_3) \\ &= M_0 T_r \left\{ \pi/2 + 2 \arctan \left[\frac{1 + \exp(-t_1/T_r)}{1 - \exp(-t_1/T_r)} \exp(-\tau_m/T_r) \right] \right\}. \end{aligned} \quad (18)$$

很显然,(18)式的傅里叶变换谱将不再含有任何谐波.

通过以上讨论可知图 1 中所出现的谐波是由于在演化期间辐射阻尼影响了 θ_1 的值而造成的,因为检测到的 FID 信号在辐射阻尼作用下仅与 θ_4 和 ϕ_4 有关,而 θ_4 和 ϕ_4 的值在 τ_m 一定时只由 θ_1 和 $\Delta\omega t_1$ 决定,显然 $\Delta\omega t_1$ 不受辐射阻尼的影响.当辐射阻尼效应可以略去时,若不计纵向弛豫的作用, θ_1 在演化期间将始终保持为 $\pi/2$ 而不随 t_1 变化,因而 FID 信号将如(1)式所示只包含单一频率.若计入纵向弛豫的影响,检测到的 FID 信号将包含一部分演化期及混合期恢复的磁化矢量的纵向分量的贡献,傅里叶变换后会在 $\omega_1 = 0$ 处多出一条峰(称作轴峰,也有人将其不恰当地称作零量子信号),但是不可能在 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上出现一系列的谐波.在我们的分析中可以看出混合期根本不存在不等价核之间的 NOE 交叉弛豫,因而只能把这些谐波视为辐射阻尼造成的一种伪信号,它并不能提供任何新的结构信息.

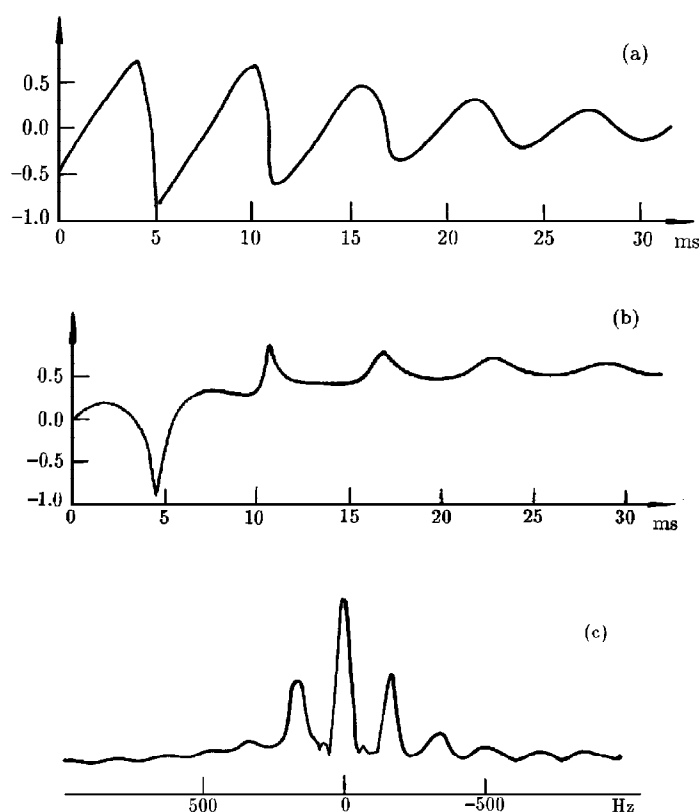


图2 辐射阻尼线形理论对 NOESY 实验的计算结果 (a)和(b)分别为(17)式所示的 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上 FID 信号的实部和虚部,其中纵坐标的单位为 $\pi T_r M_0$; (c)为该 FID 信号的傅里叶变换谱,变换前亦用相移 $\pi/6$ 的正弦窗函数进行处理.计算时取辐射阻尼时间常数 $T_r = 0.013$ s,谐波的个数、位置以及每一级谐波的线宽和幅度都与图 1 左侧 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片谱完全一致

4 谐波随混合时间的变化

为了更清楚地看出辐射阻尼对二维 NOESY 谱的影响,我们考察了取不同的混合时间 τ_m 时这些伪信号的变化情况.在常规的 NOESY 实验中,混合时间的取值范围一般从几百微秒到几百毫秒.计算表明各级谐波的幅度随 τ_m 的增大表现为一振荡衰减过程,当 $\tau_m > 5 T_r$ 时,除了在 $\omega_1 = 0$ 处留下一个由混合期间磁化强度的纵向分量造成的很强的轴峰外,所有的谐波都将消失掉.通常用水溶液样品实验时,辐射阻尼时间常数 T_r 约为十几毫秒,因而这些谐波只对混合时间比较短的 NOESY 谱影响显著.图 3 为混合时间 τ_m 从 0.5 ms 逐渐增大到 50 ms 所计算出的 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上谱图.为了验证理论计算的结果,我们又对水作了不同的混合时间实验. $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上的谱如图 4 所示,这些实验谱完全证实了图 3 中的理论预测,

进一步表明用辐射阻尼线形理论对 NOESY 谱中出现的谐波所进行的解释是成功的.

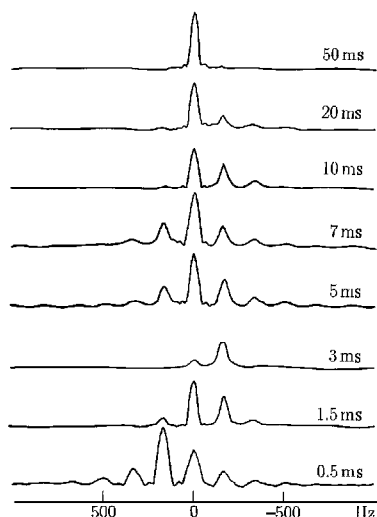


图3 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片谱的各级谐波随 τ_m 变化的计算结果 τ_m 从 0.5 ms 依次增大到 50 ms, 可以看出各级谐波的幅度随 τ_m 增大的变化趋势为一振荡衰减, 当 τ_m 大于 50 ms 后, 除轴峰外所有的谐波完全消失

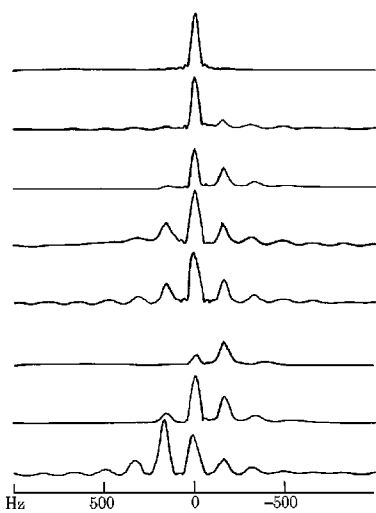


图4 改变混合时间 τ_m 所得的 $\omega_2 = \Delta\omega$ 切片上的实验谱 τ_m 依次选取与计算时相同的值进行实验, 每一条谱线都与对应的理论计算谱很好地符合, 进一步表明用辐射阻尼线形理论对 NOESY 实验中的谐波给予的解释是成功的

5 伪信号的消除

如果实验中 $\tau_m \gg 5 T_r$, 由上面的讨论可知辐射阻尼造成的谐波将消失, 因而在图谱解析时完全不必考虑如何去排除这种伪信号. 但有时为了研究交叉弛豫快的部分而必须作短混合时间实验, 实验上如何消除这种伪信号就显得非常重要.

可以采用预饱和去水峰技术, 使辐射阻尼大大减弱, 从而消除掉这些伪信号, 但同时却使得和水分子中的质子交换很快的基团(如氨基、羟基等)上的质子信号被饱和掉, 因而许多情况下不得不放弃这种方法. 谱图处理时的对称化操作对消除这些伪信号是很有效的, 因为它们关于对角线并不对称. 但是若在和一些伪信号对称的位置碰巧有谱峰存在, 对称化操作就不能消除所有的伪信号, 必然带来谱图解析的困难. 由上面的讨论我们知道, 若 $\Delta\omega$ 为零, 在 $\omega_2 = \Delta\omega$ 的切片上将不再有任何谐波出现, 因此实验时除非有特殊的要求, 将水峰准确地设置在正共振的位置是一个非常简单有效的方法.

各种 NMR 新技术的不断涌现必将提供更多消除这种伪信号的方法, 如梯度场方法、Q 开关探头等. 无论采用何种方法, 只要消除了实验中辐射阻尼的影响, 辐射阻尼引起的伪信号必将被消除.

[1] R. H. Dicke, *Phys. Rev.*, **93**(1954), 99.

- [2] N. Bloembergen and R. V. Pound, *Phys. Rev.*, **95**(1954), 8.
- [3] S. Bloom, *J. Appl. Phys.*, **28**(1957), 800.
- [4] Xi-an Mao and Chao-hui Ye, *J. Chem. Phys.*, **99**(1993), 7455.
- [5] Xi-an Mao, Jian-xin Guo and Chao-hui Ye, *Phys. Rev.*, **B49**(1994), 15702.
- [6] Jian-xin Guo and Xi-an Mao, *Phys. Rev.*, **B50**(1994), 13461.
- [7] W. S. Warren, S. L. Hames and J. L. Bates, *J. Chem. Phys.*, **91**(1989), 5895.
- [8] M. Gueron, P. Plateau and M. Decors, *Prog. NMR Spectr.*, **23**(1989), 135.
- [9] G. Otting and E. Liepinsh, *J. Biomol. NMR*, **5**(1995), 420.
- [10] M. A. McCoy and W. S. Warren, *J. Chem. Phys.*, **93**(1990), 858.
- [11] Xi-an Mao and Jian-xin Guo, *J. Phys.*, **D29**(1996), 1595.
- [12] J. W. Keepers and T. L. James, *J. Magn. Reson.*, **57**(1984), 404.
- [13] R. Boelens, T. M. G. Koning and R. Kaptein, *J. Mol. Struct.*, **173**(1988), 299.
- [14] A. D. Bain, I. W. Burton and W. F. Reynolds, *Prog. NMR Spectr.*, **26**(1994), 59.

ARTIFACTS IN 2D NMR NOESY SPECTRA OF WATER DUE TO RADIATION DAMPING

GUO JIAN-XIN MAO XI-AN

(State Key Laboratory of Magnetic Resonance and Atomic and Molecular Physics,
Wuhan Institute of Physics, Academia Sinica, Wuhan 430071)

(Received 16 October 1995)

ABSTRACT

Harmonic peaks appearing in ω_1 dimension of the NOESY spectra on liquid water are discussed. The NOESY experiment is analyzed by using radiation damping line shape theory and the result shows that these harmonic peaks are artifacts induced by radiation damping. It is also shown that the line shapes of the artifacts are dependent on the mixing time, in good agreement with the experimental results. Some methods for eliminating these artifacts are proposed.

PACC: 3325; 7660; 7690