



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“NUEVO ALGORITMO PARA EL ANÁLISIS AUTOMÁTICO DEL MÉTODO
MODIFICADO DE LA DUPLICACIÓN DE J”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

Gustavo Samuel Guerrero Cortes



MÉXICO, D.F.

AÑO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Francisco Rojo Callejas
VOCAL: Adolfo García Osuna
SECRETARIO: José Federico del Rio Portilla
1er. SUPLENTE: Araceli Patricia Peña Álvarez
2° SUPLENTE: Silvia Citlalli Gama Gonzalez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE BIOQUÍMICA 1
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE BIOMACROMOLÉCULAS
INSTITUTO DE QUÍMICA, U.N.A.M.

ASESOR DEL TEMA:

DR. JOSÉ FEDERICO DEL RIO PORTILLA

SUSTENTANTE:

GUSTAVO SAMUEL GUERRERO CORTES

A quien corresponda

Agradecimientos

Gracias y gracias.¹

¹ Considerando que en estos tiempos modernos la gente ya no tiene tiempo para nada, decidí reducir la sección más leída de la tesis a su mínima expresión. La cantidad de tiempo ahorrado debería ser suficiente para algún momento de reflexión o algo.

Si en todo caso se pregunta a quienes van dirigidas las palabras contenidas en esta sección y si debería sentirse incluido posiblemente la respuesta sea no (o tiene problemas de autoestima) ya que aquellas personas que deben sentirse incluidas deben saberlo de forma implícita por la relación que hayan tenido conmigo en el pasado.

Por otro lado están las personas a las cuales nunca les llegarán esas palabras ya que no hay medios para que llegue esta información a donde sea que estén. Espero que estas personas hayan sabido que estas palabras también serían dirigidas a ellas inclusive antes de haberlas escrito.

A todos los que no estén incluidos en los dos conjuntos anteriores también podrán merecer estas palabras de continuar leyendo el presente texto.

Índice

1	Objetivo.....	1
2	Propiedades de los espectros de la RMN en una dimensión.....	2
2.1	Los núcleos atómicos y el espín	2
2.2	Comportamiento magnético y RMN.....	3
2.3	Alteraciones al comportamiento magnético	4
3	Aspectos matemáticos.....	6
3.1	Convolución	6
3.2	Elección de la función Delta.....	7
3.2.1	Ajustes posibles de la función delta.....	9
3.3	Gráficas de integrales absolutas	11
4	Método para la determinación de constantes de acoplamiento	15
4.1	Otros métodos para la obtención de constantes de acoplamiento	15
4.2	Aspectos computacionales	15
4.2.1	Selección del lenguaje de cómputo	15
4.2.2	Paralelización	16
4.2.3	El programa (Blue Katze).....	16
4.3	El algoritmo	17
4.3.1	Separación de zonas y el ajuste de la ventana espectral.....	18
4.3.2	Obtención de mínimos y análisis	20
5	Experimentos	23
5.1	Análisis de las propiedades.....	23
5.1.1	Señal de prueba	23
5.1.2	Triplete simplificado.....	24

5.1.3	Doble de dobles real	30
5.1.4	Fenómenos que alteran el valor de la constante de acoplamiento	35
5.2	Pruebas sintéticas	36
5.2.1	Obtención de la señal.....	36
5.2.2	Cambio de ancho de pico sin ruido.....	37
5.2.3	Efectos de la ventana espectral	46
5.2.4	Efectos del ruido	47
5.3	Espectros Reales	49
5.3.1	Estricnina.....	49
5.3.2	Norborneno.....	54
5.4	Tiempo de Cómputo	56
6	Conclusiones	58
7	Bibliografía	59
8	Apéndices.....	61
8.1	Determinación de las constantes de acoplamiento empleando Blue Katze	61

Tabla de Figuras

Figura 2-1: Representación de la forma de un FID	3
Figura 2-2: Comportamiento de la señal en función de las constantes acopladas	5
Figura 3-1: Convoluciones.....	7
Figura 3-2: Principio del uso de la convolución	8
Figura 3-3: Forma de la función delta	8
Figura 3-4: Resultado función delta	9
Figura 3-5: Crecimiento función delta	10
Figura 3-6: Función de prueba sin acoplamiento	11
Figura 3-7: Gráfica de la integral del valor absoluto de la convolución con $m = 1$ de una señal de prueba sin acoplamiento.....	12
Figura 3-8: Gráfica de la integral del valor absoluto de la convolución con $m = 4$ de una señal de prueba sin acoplamiento.....	12
Figura 3-9: Gráfica de la integral del valor absoluto de la convolución con $m = 16$ de una señal de prueba sin acoplamiento.....	13
Figura 4-1: Diagrama de flujo del algoritmo.	17
Figura 4-2: Porcentaje de representación en función de la multiplicidad de la función delta.....	18
Figura 4-3: Múltiplos de delta requeridos para describir por completo las secciones en función del porcentaje del valor de j con respecto a la ventana espectral	19
Figura 4-4: Forma truncada de los múltiplos de delta requeridos en función de la ventana espectral.....	19
Figura 4-5: Ajuste de la ventana espectral para el método automático	20
Figura 5-1: Función de prueba y Lorentziana	23
Figura 5-2: Triplete de prueba	24
Figura 5-3: Gráfica integral absoluta de convolución del triplete simplificado 1	25
Figura 5-4: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=1$ y $J=1.0$	25
Figura 5-5: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=2$ y $J= 0.5$	26
Figura 5-6: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=3$ y $J= 0.34$	27
Figura 5-7: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=4$ y $J= 0.25$	27
Figura 5-8: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=2$ y $J=1$	28
Figura 5-9: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=4$ y $J= 0.34$	29
Figura 5-10: Valor cercano a constante de acoplamiento	29
Figura 5-11: Doble deconvolución triplete simplificado	30

Figura 5-12: Señal doble de doble real	31
Figura 5-13: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 9.31\text{Hz}$	31
Figura 5-14: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 5.18\text{Hz}$	32
Figura 5-15: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 5.18\text{Hz}$ y con $J= 9.31\text{Hz}$	32
Figura 5-16: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 9.40\text{Hz}$	33
Figura 5-17: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 9.59\text{Hz}$	33
Figura 5-18: Gráfica de valores absolutos con J y sin J previa	35
Figura 5-19: Triplete de prueba	36
Figura 5-20: Número de constantes de acoplamiento distintas encontradas en función del ancho de pico en una señal sin constantes de acoplamiento	38
Figura 5-21: Valores de las constantes de acoplamiento encontradas en función del ancho de pico en una señal sin constantes de acoplamiento.....	38
Figura 5-22: Función de prueba sin constante de acoplamiento y ancho de pico con valor de 5 Hz	39
Figura 5-23: Gráfica de la deconvolución de la función de prueba sin constantes de acoplamiento con J de prueba de 1Hz	40
Figura 5-24: Gráfica de la deconvolución de la función de prueba sin constantes de acoplamiento con 2 J s de prueba de 1Hz	40
Figura 5-25: Gráfica de la deconvolución de la función de prueba sin constantes de acoplamiento con 3 J s de prueba de 1Hz	41
Figura 5-26: Número de constantes de acoplamiento distintas encontradas en función del ancho de pico con una constante de acoplamiento	42
Figura 5-27: Valores de distintas constantes de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con una constante de acoplamiento	42
Figura 5-28: Multiplicidad de la constante de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con una constante de acoplamiento	43
Figura 5-29: Número de constantes de acoplamiento distintas encontradas en función del ancho de pico con tres constantes de acoplamiento.....	44
Figura 5-30: Valores de distintas constantes de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con una constante de acoplamiento	45
Figura 5-31: Multiplicidad de la constante de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con tres constantes de acoplamiento.....	45
Figura 5-32: Forma de la señal en la cual se hicieron las pruebas.....	46

Figura 5-33: Mínimos cercanos encontrados en función de la ventana espectral	46
Figura 5-34: Promedio de mínimos totales en la gráfica de integral absoluta de convolución en función del valor de SNR	48
Figura 5-35: Porcentaje de valores de constantes de acoplamiento encontradas en función del ancho de pico con diferentes valores de señal ruido	48
Figura 5-36: Desviación estándar del valor de la constante de acoplamiento encontrada en función de la SNR.....	49
Figura 5-37: Estructura de la estricnina	50
Figura 5-38: Espectro HNMR de la estricnina	50
Tabla 5-1: Resultados estricnina	54
Figura 5-39: Estructura del Norborneno	54
Figura 5-40: Espectro norborneno	55
Tabla 5-2: Resultados Norborneno	56
Figura 5-41: Tiempo de cómputo en función de la cantidad de puntos.....	57

1 Objetivo

El objetivo del presente texto es mostrar un nuevo procedimiento, basado en el método de duplicación de J en el dominio de las frecuencias, para la obtención de las constantes de acoplamiento de una señal obtenida a través de un espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en una sola dimensión que permita obtener los valores de forma automatizada y que sea de bajo costo computacional.

2 Propiedades de los espectros de la RMN en una dimensión

2.1 Los núcleos atómicos y el espín

Los núcleos de los átomos tienen cuatro propiedades principales: masa, carga eléctrica, sus propiedades magnéticas y espín. Mientras que las tres primeras presentan un análogo en el mundo macroscópico, el espín no lo posee (Levit 2001). Dichas propiedades se conocen principalmente por el manejo de la mecánica cuántica y se han confirmado a través de resultados experimentales.

Los núcleos están formados por protones y neutrones (excepto el hidrógeno el cual es únicamente un protón), los cuales junto con los electrones, son considerados fermiones debido a que los valores de espín que poseen son fraccionarios. Esto provoca que existan semejanzas entre las propiedades de estas partículas como el que cumplan el principio de exclusión de Pauli, pero también que se les pueda asignar un valor de espín al núcleo.

Dado que las partículas individuales (protones y neutrones) tienen dos estados posibles (positivo y negativo) existen tantas posibilidades de valor de espín para el núcleo como combinaciones de todas las partículas con sus estados existen. Sin embargo, estos estados posibles tienen diferentes valores de energía de estabilización, lo que provoca que predomine el estado basal y sea éste el que se asocie al espín del núcleo (Levit 2001).

Existen reglas sencillas que predicen el valor de espín en función de su número atómico y masa atómica; sin embargo, es mejor conocido mediante resultados experimentales. Se sabe que los núcleos pueden tomar valores enteros, fraccionarios o cero.

El estado basal puede estar conformado por distintos estados degenerados. La cantidad de estados degenerados se conoce a través de la ecuación (2.1.1) donde L son los estados posibles e I representa el valor del espín nuclear.

$$L = (2I + 1) \quad (2.1.1)$$

Estos estados degenerados pierden su degeneración al ser sometidos a un campo magnético (efecto Zeeman) y la diferencia de energía entre los niveles se incrementa en función de la magnitud del campo magnético y la constante giro magnética del núcleo en cuestión.

2.2 Comportamiento magnético y RMN

El comportamiento magnético de la materia se debe principalmente a tres causas. El magnetismo asociado a los espines de los electrones, al campo generado por el movimiento de los electrones y a las propiedades magnéticas de los espines del núcleo. Este último caso es el que interesa para poder explicar el fenómeno de resonancia magnética (Levit 2001).

Para los núcleos atómicos con espín diferente de cero, es posible asociar un dipolo magnético. Por ejemplo, en una sustancia diamagnética la orientación promedio de dichos dipolos es suficientemente aleatoria para que el campo magnético sea cercano a cero.

Al someter a los átomos a un campo magnético los dipolos girarán con respecto a la normal de éste con un cierto ángulo, fenómeno conocido como precesión. El ángulo del dipolo con respecto al campo magnético varía y se encontrará prácticamente en cualquier valor. Dependiendo de la cantidad de energía en el sistema (temperatura) el campo puede inducir una orientación preferente y así generar un vector magnético promedio de la población de átomos.

Es posible orientar el campo magnético promedio empleando ondas electromagnéticas de la longitud de onda adecuadas y forzar a que se encuentren en una orientación específica. Si posteriormente se mide el comportamiento del vector magnético promedio (su magnitud y dirección) con un detector que se encuentre perpendicular al campo magnético inicial se observará una aparente relajación debido a que las componentes magnéticas se reorientan con respecto al campo magnético original.

A la señal resultante se le conoce como decaimiento libre inducido (FID, por sus siglas en inglés) y tiene una forma semejante a la siguiente:

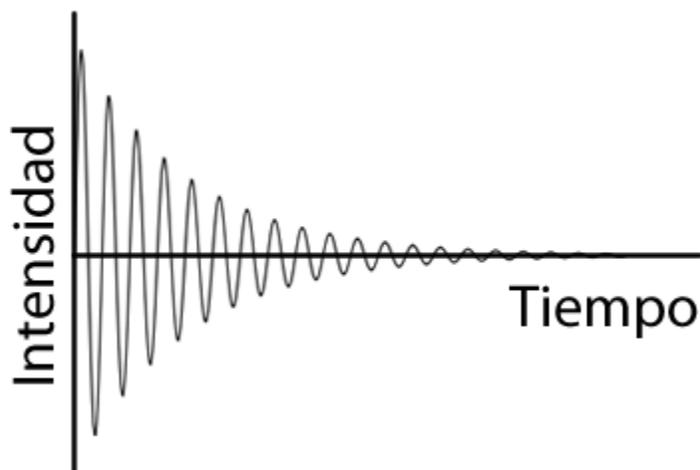


Figura 2-1: Representación de la forma de un FID

En la práctica los espectros que se analizan son aquellos que se le han aplicado una transformada de Fourier y de la cual se toma la parte real.

2.3 Alteraciones al comportamiento magnético

Existen diversos fenómenos que modifican el comportamiento de los átomos, en este caso se describen dos: el desplazamiento químico y el acoplamiento espín-espín.

El origen magnético de la materia proviene del espín de los electrones, el espín del núcleo y el movimiento de los electrones. En el caso de las moléculas un determinado átomo se encontrará enlazado a otros y esto provoca que la densidad electrónica sea distinta con respecto a la del átomo en estado libre. Esta alteración también se hace notar en el campo magnético local y en consecuencia se comporta de manera distinta al someterse a un campo magnético externo. Como resultado final una señal asociada a un determinado átomo se encuentra en una posición distinta (desplazada) con respecto a la original. Este es el fenómeno de desplazamiento químico.

El segundo fenómeno de interés proviene de la interacción que existe entre los espines de los núcleos y existen dos contribuciones importantes. La primera contribución es la interacción que existe por su posición de un espín con respecto a otro debido a los campos magnéticos; sin embargo, para los líquidos isotrópicos este fenómeno desaparece debido a los movimientos moleculares. La segunda contribución se genera de forma indirecta debido a la interacción de los espines nucleares con los electrones internucleares que permiten la transmisión de información magnética entre los distintos núcleos. A diferencia de la interacción que proviene de la interacción directa, la indirecta no se afecta en líquidos anisotrópicos lo que provoca que se manifieste en los espectros de RMN de sustancias en disolución.

El resultado de este acoplamiento es una aparente separación de las poblaciones de átomos que determinan la forma de la señal, produciendo una “duplicación” de señales con menor intensidad que la señal no acoplada. La integral de las nuevas señales corresponderán al valor de la señal de no haber sido duplicada y el centro relativo de las señales corresponde a la misma posición que el centro de la señal original. Esta duplicación ocurrirá por cada interacción de tipo acoplamiento y dado a que este se puede llevar a cabo a más de un enlace de distancia da como resultado una gran cantidad de señales distintas. Para acoplamientos de primer orden el método de diagrama de árbol ilustra el comportamiento de las señales obtenidas.

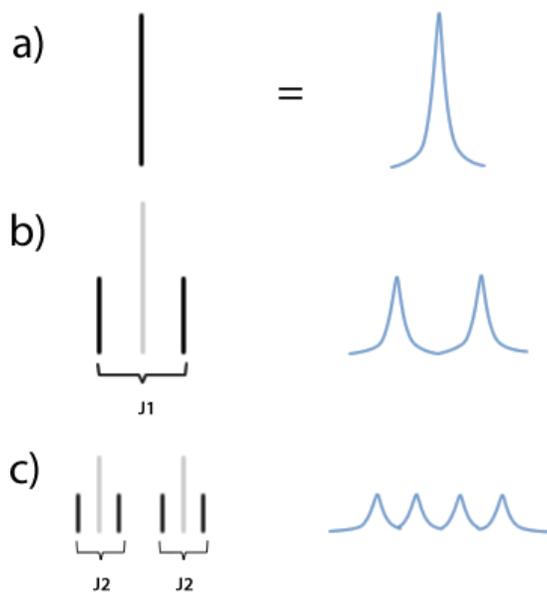


Figura 2-2: Comportamiento de la señal en función de las constantes acopladas

a) Representación de una señal de RMN. b) Representación de una señal con una constante de acoplamiento. Se puede observar como disminuye el tamaño de la señal y la separación entre el máximo de ambas corresponde al valor de la constante de acoplamiento. c) Representación del comportamiento al agregar otra señal de acoplamiento de menor tamaño a la primera ya agregada. El comportamiento es equivalente y se siguen formando una mayor cantidad de señales.

M. Karplus encontró una relación matemática empírica entre los ángulos diedros de ^1H acoplados a tres enlaces de distancia. La tendencia de esta ecuación nos dice que el valor de la constante de acoplamiento se reduce conforme el ángulo formado se acerca a 90 grados. Este comportamiento nos sirve para poder determinar la estructura preferencial de porciones de las moléculas, dando como resultado una herramienta para la determinación de la estructura de la misma.

3 Aspectos matemáticos

3.1 Convolución

La operación más importante del procedimiento que se describe en este texto es la operación de convolución.

La operación de convolución se encuentra definida para funciones continuas y discretas; sin embargo, debido a que los datos experimentales que serán analizados se encuentran en forma discreta, sólo se describirá este último.

La definición de la convolución discreta es la siguiente:

$$(f * g)[n] \stackrel{\text{def}}{=} \sum_{m=-\infty}^{\infty} f[m]g[n-m] = \sum_{m=-\infty}^{\infty} f[n-m]g[m] \quad (3.1.1)$$

Dos características muy importantes sobre la convolución son sus propiedades conmutativa y asociativa, las cuales facilitarán la obtención de los resultados deseados. A continuación se ilustra el comportamiento de la convolución en funciones discretas. Cada punto representa el valor numérico donde en el eje y se encuentra su valor y en el eje x su posición dentro de la función.

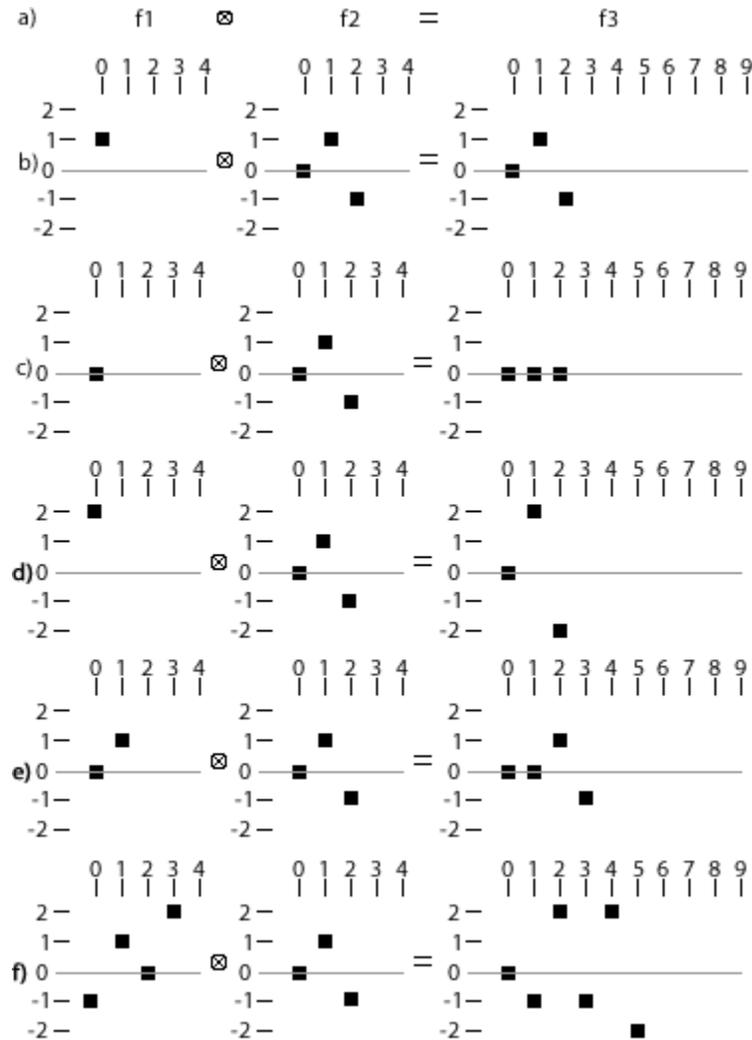


Figura 3-1: Convoluciones

a) Representación de la operación de convolución, b) Operador unidad: la función (F2) queda sin alterar. c) Operador vacío: anula los valores de la ecuación convirtiéndolos en cero. d) Como afecta la función el cambio de valor: dado que la operación principal es la multiplicación tiene propiedades semejantes. e) Operaciones conjuntas: cada punto de F1 realiza la operación y el segundo punto es desplazado. f) Resultado de aplicar varias operaciones.

A pesar de realizar las operaciones sobre la misma función (f2) la función que aplica la operación (f1) determina en gran medida la forma del resultado.

3.2 Elección de la función Delta

El comportamiento de un determinado núcleo al interactuar con el ambiente químico (específicamente formar acoplamientos) produce un comportamiento equivalente al aplicar una operación de convolución sobre la señal. Bajo este principio se estaría buscando una función, que

dependiendo de un valor de constante propuesta, fuera posible deconvolucionar la señal dando como resultado la señal original (aquella donde no fue aplicado un acoplamiento).

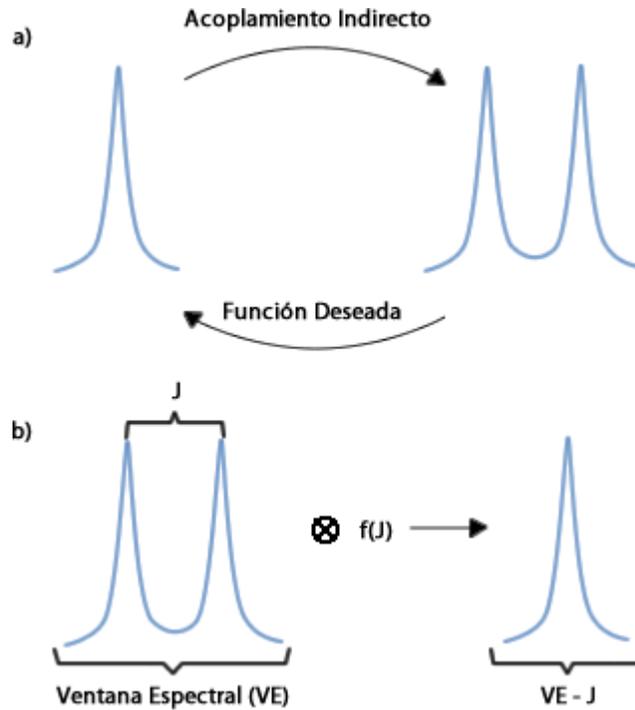


Figura 3-2: Principio del uso de la convolución

- a) Representación del comportamiento de las señales. b) La diferencia que debe existir entre la señal que se busca tratar y la señal deseada que represente la señal deconvolucionada.

Se han encontrado diversas funciones que pueden realizar, en parte, el comportamiento que se describió anteriormente. A estas funciones se les ha llamado funciones delta. La función delta que mejores resultados ha arrojado para señales que sólo presentan acoplamientos de primer orden es la siguiente.

$$\delta(J) = \begin{array}{c} J \quad J \quad J \\ \text{---} \text{---} \text{---} \\ | \quad | \quad | \\ \text{---} \end{array} = \begin{array}{c} | \quad | \quad | \\ \text{---} \end{array}$$

Figura 3-3: Forma de la función delta

La función delta puede ser representada de forma discontinua debido a que sus valores cero no contribuyen en la función final. Los valores que toman son valores -1 y 1 espaciados una distancia J (distancia que representa el espaciado propuesto en una constante de acoplamiento). Esta función no genera la deconvolución sencilla que se estaba buscando, en su lugar genera el siguiente patrón.

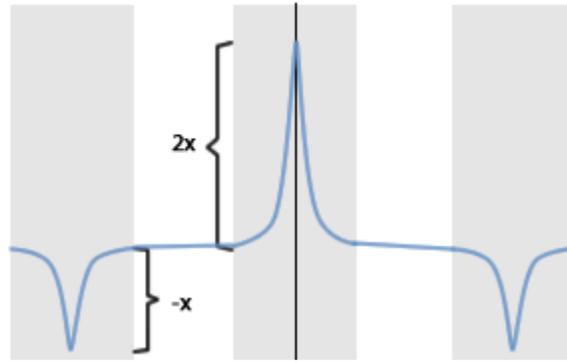


Figura 3-4: Resultado función delta

Es importante notar que en estos momentos se está trabajando con una función centro-simétrica que se convoluciona sobre la función delta (que a su vez es centro-simétrica) dando como resultado una función centro simétrica.

Es posible observar que la función da 5 regiones diferenciables. La primera corresponde a la función deconvolucionada invertida, la segunda representa una zona de “ruido”, la tercera representa la función deconvolucionada con el doble de área (y altura del pico máximo con respecto a la primera) y la cuarta y quinta áreas son equivalentes a la segunda y primera respectivamente.

La zona de ruido se encuentra constituida por “residuos” de la función y su tamaño es variable como se verá posteriormente.

La ecuación que describe hacer una sola convolución tiene la siguiente forma.

$$f_{deConvolucionada}(J) = f_{Señal} \otimes f_{Delta}(J) \quad (3.2.1)$$

3.2.1 Ajustes posibles de la función delta

El empleo de la operación convolución con una función delta dará como resultado una función de mayor longitud a la original. Es posible saber la longitud de la función final a través de la siguiente ecuación:

$$tdConv(J) = J \cdot (4-1) + tFOrig \quad (3.2.2)$$

Donde $tdConv$ representa el tamaño de la función deconvolucionada, J representa la constante de acoplamiento empleada y $tFOrig$ representa el tamaño de la función original. Por otro lado es posible saber que el tamaño mínimo requerido (con un intervalo de ruido con longitud cero) de la función deconvolucionada para que al menos se puedan apreciar la primera tercera y quinta zona es:

$$tDConvMin(J) = 3 \cdot (tFOrig - J) \quad (3.2.3)$$

Tomando en cuenta ambas ecuaciones, se observa que existen valores de J que producen un tamaño menor al mínimo necesario para observar con claridad las distintas zonas. Sin embargo, es posible obtener las zonas a través de la modificación de la función delta.

Para ello podemos plantear lo siguiente:

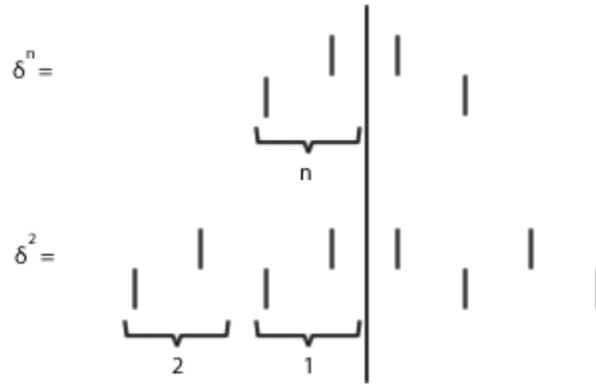


Figura 3-5: Crecimiento función delta

Para que siga creciendo de forma centro simétrica es necesario que la función crezca de forma uniforme en ambas direcciones.

Al crecer la función delta es posible alterar el tamaño de la función de deconvolución evitando que exista un traslape entre las secciones. Si la función de deconvolución ya presentaba las cinco zonas distinguibles, al incrementar la cantidad de deltas sólo modifica el comportamiento en la sección de “ruido” y las secciones donde se encuentra la forma deconvolucionada permanecen sin modificación.

Bajo estas condiciones las ecuaciones que describen el tamaño de la convolución y el mínimo de múltiplos de la función delta para una determinada J son las siguientes:

$$tdConv(J, n) = J \cdot (4 \cdot nMin - 1) + tFOrig \quad (3.2.4)$$

$$nMin = \left\lceil \frac{1}{2} \cdot \left(\frac{tFOrig}{J} - 1 \right) \right\rceil_2 \quad (3.2.5)$$

Por otro lado la operación de deconvolución tomando en cuenta el cambio de múltiplos de J tiene la siguiente forma.

$$fdeConvolucionada(J, m) = fSeñal \otimes fDelta(J, m) \quad (3.2.6)$$

Donde m siempre será un valor entero positivo.

² Nota: Este símbolo es la representación matemática de la función techo, que busca el número entero real más cercano siguiente.

3.3 Gráficas de integrales absolutas

Si se realiza la integral de la función deconvolucionada esta dará cero debido a que la función delta tiene la misma cantidad de contribuciones positivas y negativas. Sin embargo, al realizar la integral absoluta ésta dará un valor diferente de cero si la constante de acoplamiento de prueba es diferente de cero.

La ecuación que describe dicha operación es la siguiente.

$$fIntValAbs(J, m) = \int |fSeñal \otimes fDelta(J, m)| \quad (3.3.1)$$

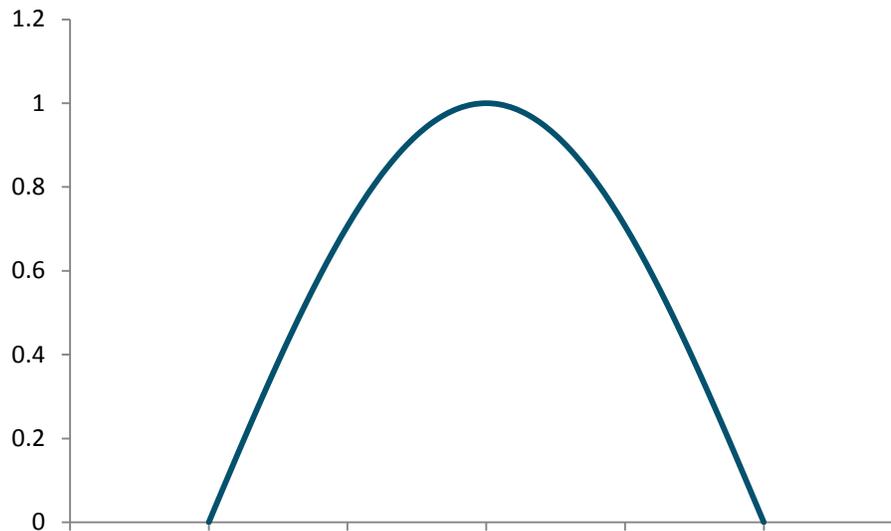


Figura 3-6: Función de prueba sin acoplamiento

El valor de la integral de esta gráfica es de 25.4517.

Tomando en cuenta la función de prueba anterior y realizando un barrido del valor de la integral absoluta en todo el intervalo de la ventana espectral a m constante, se obtienen las siguientes gráficas:

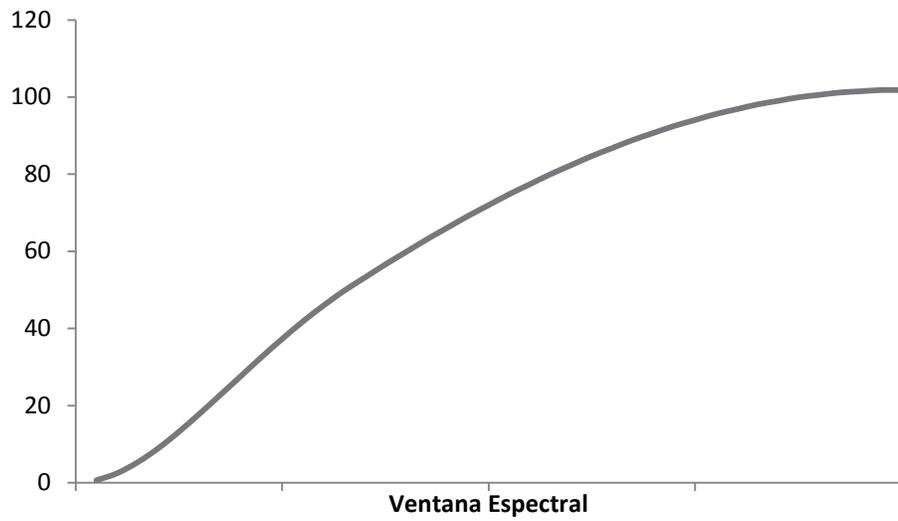


Figura 3-7: Gráfica de la integral del valor absoluto de la convolución con $m = 1$ de una señal de prueba sin acoplamiento

El valor máximo (VE = 100%) es de 101.8068 unidades aproximadamente 4 veces la integral de la señal.

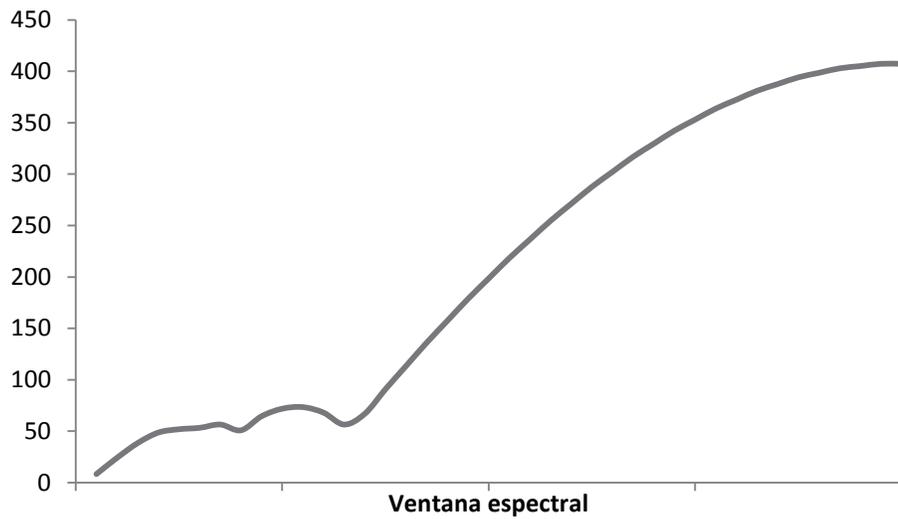


Figura 3-8: Gráfica de la integral del valor absoluto de la convolución con $m = 4$ de una señal de prueba sin acoplamiento

El valor máximo (VE = 100%) es de 407.2272 unidades aproximadamente 16 veces la integral de la señal.

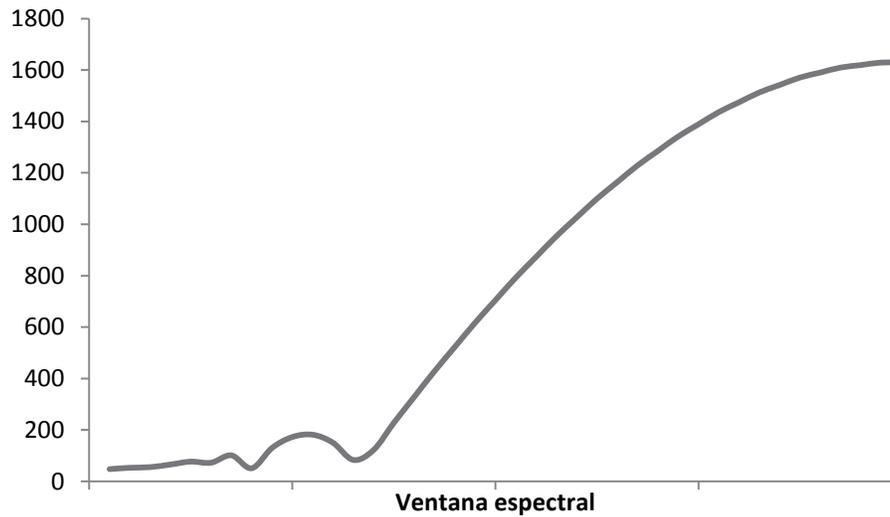


Figura 3-9: Gráfica de la integral del valor absoluto de la convolución con $m = 16$ de una señal de prueba sin acoplamiento

El valor máximo (VE = 100%) es de 1628.909 unidades aproximadamente 64 veces la integral de la señal.

El comportamiento en general corresponde a un inicio con valores absolutos pequeños hasta su máximo, que corresponde al área inicial multiplicada por el número de deltas dentro de la función delta (cuatro veces la multiplicidad).

En la primera gráfica la cantidad de deltas empleadas es pequeño (4, $m=1$) y se espera que en sus deconvoluciones realmente no exista la separación de las distintas secciones de la función deconvolucionada propuestas anteriormente (secciones 1, 3 y 5) en la parte más baja de la gráfica (Js pequeñas). El resultado es que no existen los mínimos que se encuentran en las siguientes gráficas. Bajo esta consideración, podemos decir que la información sobre la deconvolución “se pierde” al no existir la separación esperada.

El incremento de las funciones delta (aumentar m) incrementa la separación entre las diferentes secciones provocando así que se pierda menos información cuando los valores de J son pequeños. Ésta es la razón por la cual al incrementar el número de deltas en las gráficas posteriores comienzan a aparecer mínimos en la misma.

La diferencia de valores de la integral entre las deconvoluciones de dos puntos cercanos en la gráfica de las integrales absolutas se deben principalmente al contribución de la sección de “ruido”

(secciones 2 y 4) ya que la variación en las demás secciones (en cuanto al valor de la integral absoluta) por lo general es menor.

Existen dos casos principales para que exista un mínimo local, la primera es que se genere una función donde exista una simetría mayor a los puntos circundantes o que el ruido sea mínimo (cercano a cero). En este último caso, los mínimos tienden a ser más profundos y por lo general se relaciona con el valor de una constante de acoplamiento.

En este caso la función de prueba es una función simétrica y que a su vez no tiene mínimos y posee un sólo máximo; sin embargo, en las gráficas de las integrales absolutas existen mínimos. Esto muestra que la existencia de mínimos no necesariamente tiene algún significado particular (Véase 5.1.1).

4 Método para la determinación de constantes de acoplamiento

4.1 Otros métodos para la obtención de constantes de acoplamiento

Para una señal claramente separada y bien resuelta la medición de la constante de acoplamiento puede ser llevada a cabo midiendo la distancia entre los máximos dentro de la señal, sin embargo para señales más complejas es necesario emplear otros métodos más elaborados.

En la actualidad existen diversos métodos para la obtención de las constantes de acoplamiento (Freeman 1997), sin embargo dentro de los métodos que dependen de la operación convolución en el dominio de las frecuencias se describirán dos.

El primero, propuesto por Bodenhausen (Huber y Bodenhausen 1993) parte de la suposición que para encontrar el valor de la constante de acoplamiento es necesario hacer la de convolución primero con una función delta adecuada al tipo de señal y posteriormente con una función recíproca que corrija las irregularidades producidas por la primera, de tal forma que el resultado final es la señal deconvolucionada.

El segundo método propuesto por del Río (del Río 2005) radica en emplear la convolución con una sola función delta centro simétrica en donde la función resultante contenga en alguna de sus porciones a la señal deconvolucionada. Para obtener todas las constantes de acoplamiento se escoge dicha porción y se repite el procedimiento hasta obtener un singulete.

4.2 Aspectos computacionales

Idealmente un algoritmo es independiente al método en el que se resuelva, en la realidad lo ideal es adaptar al método a las condiciones en las cuales se puede trabajar. Esta sección no será referencia para aprender principios de programación ni una detallada explicación sobre los aspectos específicos del código, sino una guía rápida para quien desee conocer las decisiones que se tomaron durante la creación del algoritmo.

4.2.1 Selección del lenguaje de cómputo

Existen muchos posibles lenguajes en los cuales se pueden realizar los programas de cómputo y todos fueron creados para tener ventajas relativas con respecto a otros lenguajes. A su vez, la mayoría de los lenguajes son actualizados, para incorporar nuevas funciones, depreciar otras y mejorar las existentes, para así siempre estar ofreciendo contenido reciente y mantenerse competitivos con respecto a las

innovaciones de otros lenguajes. Por todas estas razones, es necesario pensar en que lenguaje de cómputo es más adecuado para una determinada tarea.

En este caso se buscaba que el desarrollo cumpliera las siguientes características

- Ser un lenguaje que cumpliera con los estándares de la programación (facilitando su actualización y manejo).
- Tuviera un buen desempeño para realizar operaciones matemáticas.
- Tuviera la capacidad de desarrollo de interfaces gráficas.

Bajo estas consideraciones existen varios lenguajes que cumplen estas características (en mayor o menor medida) y otros tanto que no. Por simplicidad y familiaridad fue escogido el lenguaje "C#" (C-Sharp).

A la fecha del desarrollo la versión estándar era la 3.5 de la plataforma .NET y la ventaja que presentó fue la posibilidad de desarrollar una interfaz gráfica, para facilitar el manejo del programa.

También para los procesos de paralelización fue utilizado el lenguaje OpenGL, ya que al tratarse de un lenguaje de desarrollo abierto que permite ser empleado en distintos dispositivos y no sólo en tarjetas de video.

4.2.2 Paralelización

La tecnología hoy en día nos permite llevar a cabo diferentes operaciones simultáneas (en paralelo) empleando una computadora, ya sea mediante los procesadores con múltiples núcleos o mediante tarjetas de video.

Para poder aprovechar estas tecnologías es importante considerarlas durante la planificación del algoritmo ya que es necesario tomar en cuenta que requieren condiciones específicas para poder ser empleadas. La principal consideración es que la paralelización más efectiva es aquella donde se realiza una operación sencilla una gran cantidad de veces. Estas operaciones sencillas son las que se descomponen en los "núcleos" de los componentes y se realizan de forma paralela.

La parte del algoritmo que puede cumplir con estas condiciones es la operación de convolución ya que cada punto de la función deconvolucionada puede ser tratado de forma independiente.

4.2.3 El programa (Blue Katze)

Para el desarrollo y empleo del algoritmo se creó un programa llamado Blue Katze.

El programa funciona nativamente en el entorno de Windows a partir de la versión Windows XP con Service Pack 2 y es capaz de detectar y ajustarse al entorno computacional.

El programa cuenta con tres funciones principales.

La primera es introducir un espectro de resonancia, seleccionar las señales a estudiar y emplear el método para determinar las constantes de acoplamiento de forma automática.

La segunda es generar señales sintéticas donde se permite ajustar los valores de constantes de acoplamiento, el ancho de la señal, agregar ruido y hacer pruebas estadísticas del método.

La tercera permite hacer un análisis de las operaciones que realiza el método. Ya sea realizar una convolución en un punto específico, generar la gráfica de integrales absolutas en intervalos específicos y ver los resultados de la determinación automática. Todo esto pudiendo especificar los parámetros deseados como la multiplicidad de la delta (m) y realizar operaciones acumulativas (hacer las operaciones agregando la convolución de Js previas).

Todas estas funciones fueron empleadas para la sección de experimentos y las gráficas aquí mostradas provienen del programa en cuestión.

4.3 El algoritmo

El diagrama de flujo general del algoritmo es el siguiente.

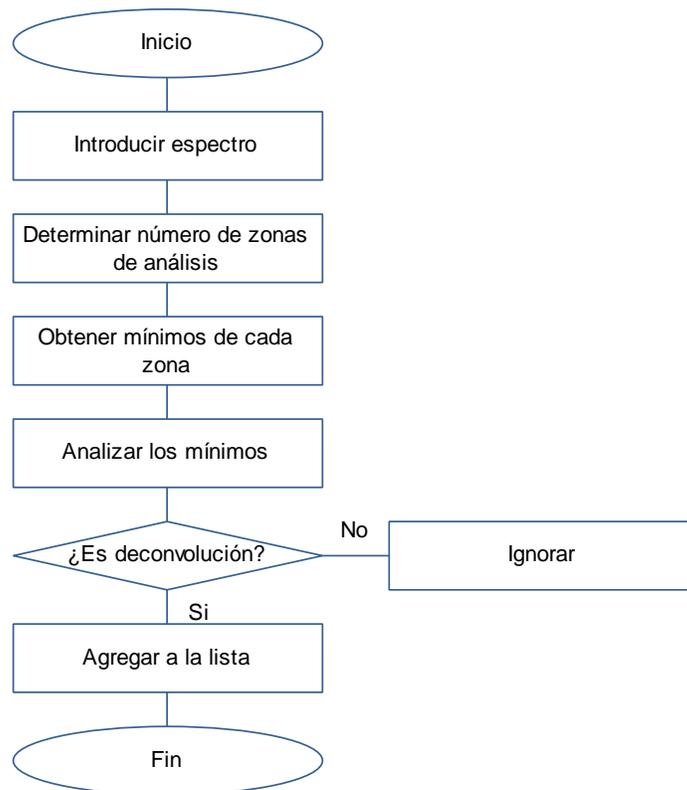


Figura 4-1: Diagrama de flujo del algoritmo.

A continuación se harán algunas descripciones más detalladas del mismo.

4.3.1 Separación de zonas y el ajuste de la ventana espectral

Debido a que al emplear una multiplicidad de la función delta (m) de uno no es suficiente para la obtención de las cinco zonas de la función deconvolucionada para todo el porcentaje de la ventana espectral, es necesario incrementar dicho valor a un mínimo que logre separarlas (Véase 3.2.1). Sin embargo no existe un valor de m en el cual se pueda separar el cien por ciento para todos los valores posibles de la ventana espectral ya que se tiene un crecimiento asintótico como se muestra a continuación.

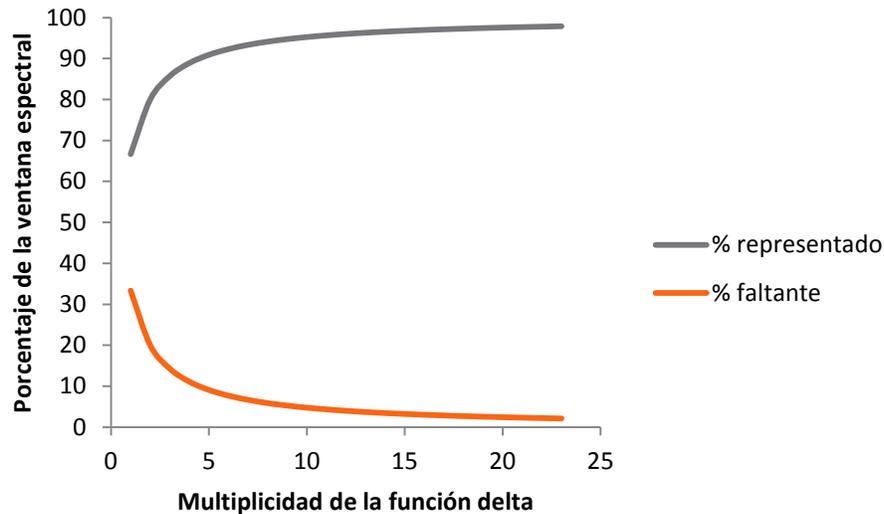


Figura 4-2: Porcentaje de representación en función de la multiplicidad de la función delta

Por otro lado emplear un valor de m mayor al necesario para la obtención de las cinco zonas no aporta una mayor cantidad de información (Véase 5.1.2), pero si incrementa la cantidad de operaciones matemáticas necesarias para obtener la función deconvolucionada (que se traduce en tiempo de cómputo).

Ante estos dos efectos opuestos se propone obtener varias gráficas del valor absoluto de la deconvolución, cada una correspondiendo al intervalo en el cual un valor de m garantiza la separación de las cinco zonas.

El crecimiento del m mínimo necesario para la separación por zonas crece de la siguiente manera.

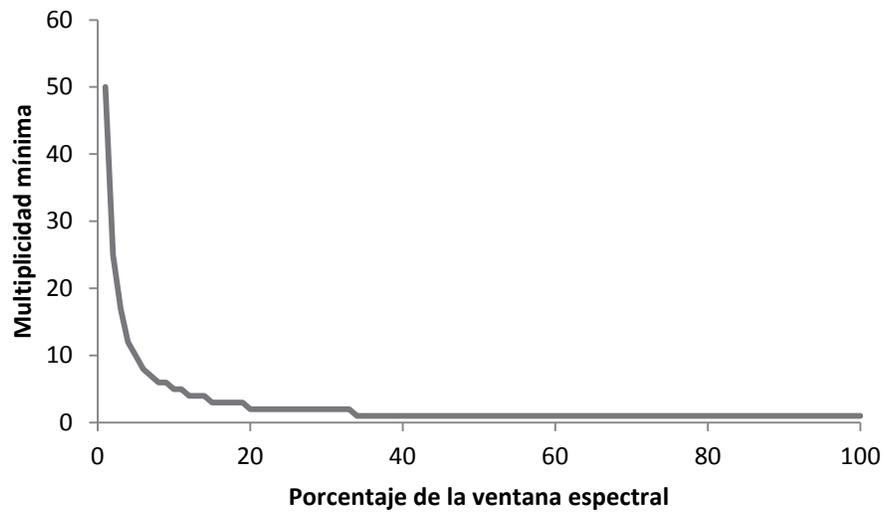


Figura 4-3: Múltiplos de delta requeridos para describir por completo las secciones en función del porcentaje del valor de j con respecto a la ventana espectral

El crecimiento por debajo del 10% de la ventana espectral es muy rápido y por lo tanto las zonas se hacen más pequeñas conforme el valor de la J de prueba se hace más pequeña. Por otro lado cuando el valor de J se encuentra por debajo del ancho de pico de la señal, el algoritmo puede dar falsos positivos (véase 5.2.2.1). Con estas consideraciones se trunca el valor de m para valores muy chicos como se muestra a continuación.

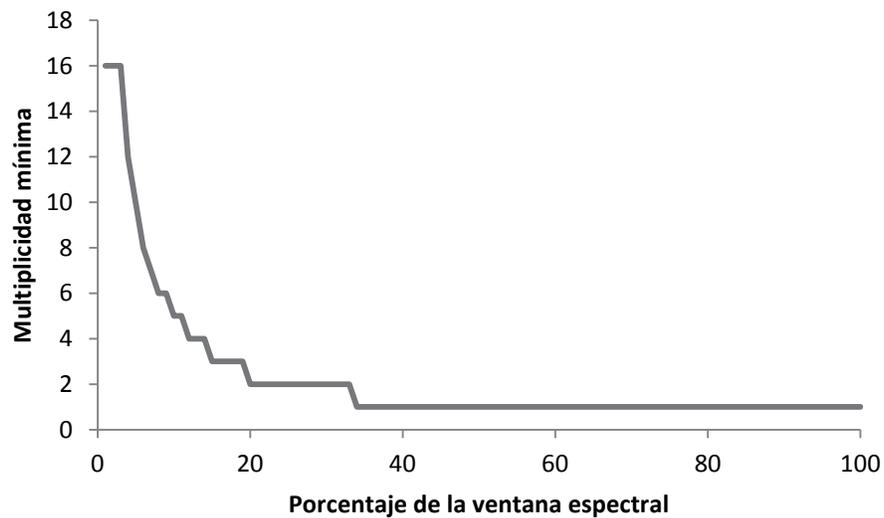


Figura 4-4: Forma truncada de los múltiplos de delta requeridos en función de la ventana espectral

NOTA: El valor en el cual se trunca varía según el tamaño de la ventana espectral dentro del algoritmo.

Dado que por lo general los objetos a interpretar están constituidos por la señal y un espacio “vacío” y que las señales por lo general tienen más de una constante de acoplamiento no es necesario estudiar toda la ventana espectral (VE). Para reducir el espacio de la ventana espectral a estudiar (y por lo tanto reducir la cantidad de operaciones a realizar) se busca dentro de la señal la presencia de máximos que limiten el espacio de estudio como lo muestra el siguiente diagrama.

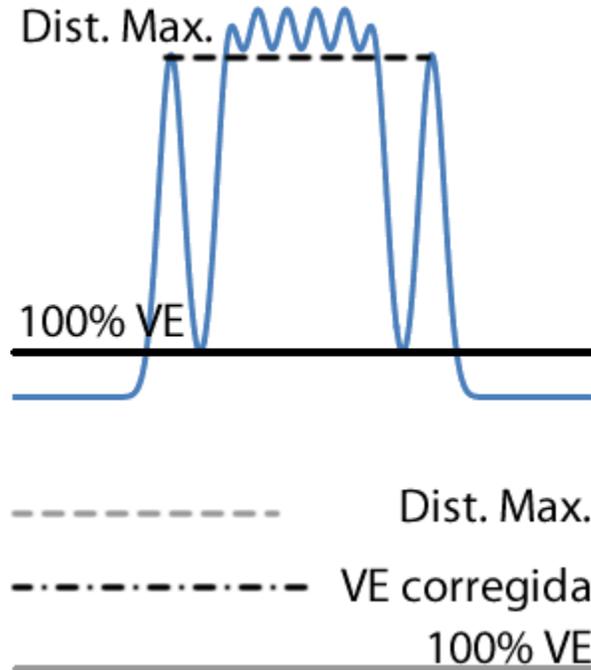


Figura 4-5: Ajuste de la ventana espectral para el método automático

Por ejemplo en esta señal sintética se generó una señal con Js de valores 2, 3 y 4 en una ventana espectral de 20 Hz. Las señales tienen una distancia máxima (de pico a pico) de 9Hz. El algoritmo detecta todos los picos de la señal y determina la máxima distancia que hay entre ellos (encontrará 9Hz) y agrega un 10%. Esto significa que el algoritmo no buscará las constantes de acoplamiento en un intervalo de 0 a 20Hz sino en el intervalo de 0 a 9.9 Hz, poco menos de la mitad en este caso.

Como medida preventiva, en caso de que no encuentre máximos dentro de la señal, el estudio lo realizará en el 100% de la ventana espectral.

4.3.2 Obtención de mínimos y análisis

La parte más lenta del algoritmo se encuentra en la obtención de mínimos en cada zona. Cada zona representa un intervalo de Js de prueba que requieren ser evaluadas para determinar la gráfica de integrales absolutas de las convoluciones lo que implican miles de operaciones matemáticas.

Afortunadamente esta operación de determinar el punto en la gráfica es altamente paralelizable ya que cada punto de una convolución puede ser obtenido por separado (los puntos son independientes de los valores de los puntos circundantes) y posteriormente son sumados. En el caso de no poder ser paralelizados estas operaciones se realizan en un sólo paso, mejorando el rendimiento para computadoras que no soporten la paralelización.

La obtención de los mínimos se hace obteniendo los valores de la integral por diferencia de signos (las diferencias entre dos puntos siempre son suficientemente pronunciadas para que exista una diferencia distinta de cero). Estos mínimos se suman a una lista de mínimos.

Una vez obtenidos todos los mínimos (de todas las zonas) éstos son evaluados y de tener una forma semejante a la de la Figura 3-4 el mínimo es aprobado como una constante de acoplamiento. Posteriormente se prueba el mismo valor en busca de una mayor multiplicidad, esperando la forma de las gráficas según el número de veces que se está aplicando el mismo. El método intenta aprobarla hasta un máximo de cinco veces. Los valores que hayan sido aprobados se guardan en otra lista indicando la cantidad de veces aprobadas (supuesta multiplicidad)

El análisis de la semejanza del resultado de la deconvolución con respecto a la forma de la Figura 3-4 se realiza por un método de comparación de áreas en las distintas zonas. Por ejemplo para la prueba de una sola constante de acoplamiento se espera que la suma de los valores absolutos en las áreas de ruido sean las menores de las cinco zonas, que las proporciones sean 1 a 2 entre las zonas 1 y 3 y que la mayor cantidad de puntos en las zonas 1 y 5 se encuentren con el signo negativo (se evalúa su promedio).

Mientras que en señales ideales estas relaciones son bastante precisas, en los espectros reales la falta de simetría produce que no se mantengan perfectamente. Para compensar este fenómeno el algoritmo tiene un mecanismo de aprobación "relajado", permitiendo una cierta tolerancia con respecto a las relaciones de las áreas (por ejemplo el ruido soporta hasta una altura del 10% del pico más alto de la zona 3 y se permite un error del 10% en las relaciones de las áreas 1 y 3). Afortunadamente, muchos de los mínimos que no corresponden a constantes de acoplamiento se alejan bastante de la forma esperada y, a pesar de lo relajado de la detección, son fácilmente rechazados.

Este método de análisis se ha encontrado que puede dar falsos negativos cuando el valor de la J de prueba se encuentra por arriba ancho de los picos en su altura media, ya sea por simetría o la presencia de una constante de acoplamiento de segundo orden. (Se encontró que cuando existe una sola señal el valor es "encontrado" pero nunca será aprobado). También es posible que dé resultados falsos positivos cuando los valores a probar son más pequeños que el ancho de pico de la señal (véase

5.2.2.1). Para solucionar estos problemas todos los registros de los mínimos son guardados en una lista para poder ser evaluados manualmente en caso de ser necesario.

5 Experimentos

A continuación se mostraran tres secciones que involucran los resultados obtenidos con el método para poder determinar sus propiedades y limitaciones.

5.1 Análisis de las propiedades

En este caso se estudiará el comportamiento del método y los fundamentos con los cuales se atribuye que un valor representa una señal de acoplamiento.

5.1.1 Señal de prueba

Para las primeras pruebas, por simplicidad, se emplearán funciones ficticias que representen a las señales de un espectro de RMN.

Mientras que por lo general las señales pueden ser representadas por una lorentziana, la señal que se prueba empleada no proviene de ningún tipo de distribución. La señal fue creada esperando que cumpliera con las siguientes características: ser centro-simétrica, tener un sólo máximo fácilmente diferenciable y que estuviera limitada (su valor se convierte en cero después de cierto punto, evitando que haya una contribución suma fuera de este valor límite).

A pesar de no ser una señal real, se espera que al presentar dichas propiedades, sea posible estudiar el comportamiento del algoritmo esperando que cumplan con reglas equivalentes a cualquier señal real.

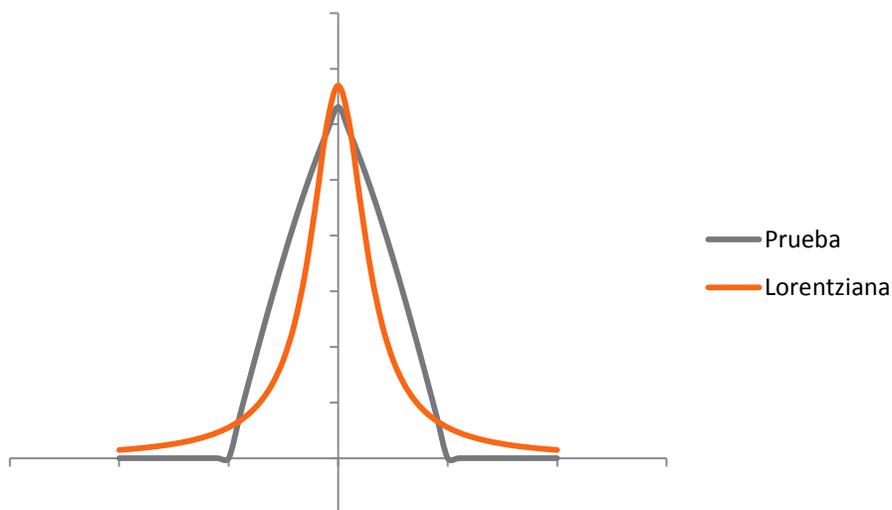


Figura 5-1: Función de prueba y Lorentziana

Con esta señal y empleando el método de patrones sucesivos o diagrama de árbol es posible crear señales ficticias para el estudio del comportamiento del algoritmo.

5.1.2 Triplete simplificado

El caso más sencillo a estudiar sería un doblete; sin embargo, además de ser un caso trivial, no mostraría muchos de los posibles casos a los que podría enfrentarse el algoritmo. Por estas razones se propone un caso inicial ligeramente más complicado, un triplete.

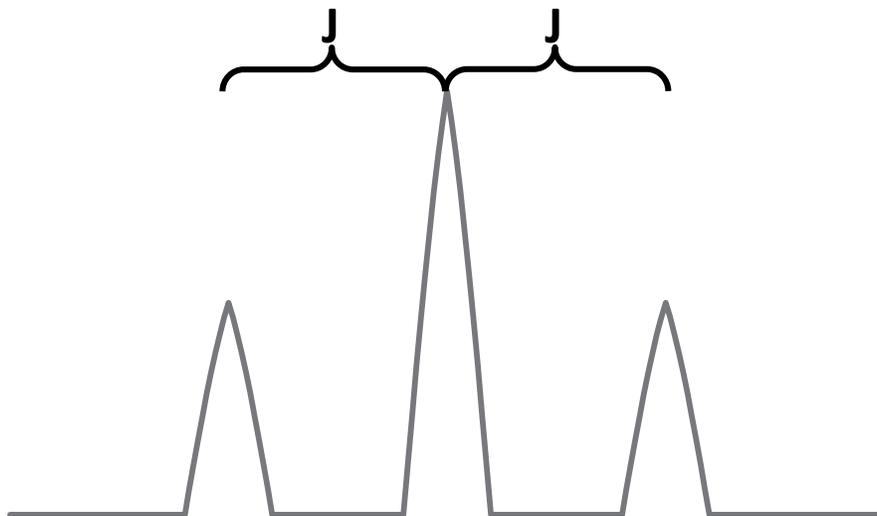


Figura 5-2: Triplete de prueba

La ventana espectral será de 1.78 Hz, la constante de acoplamiento 0.5 Hz.

Este caso tiene una característica particular y es que al tener la misma constante dos veces. A continuación se muestran las gráficas de los primeros cuatro intervalos en la división de las zonas (múltiplos delta del 1 al 4).

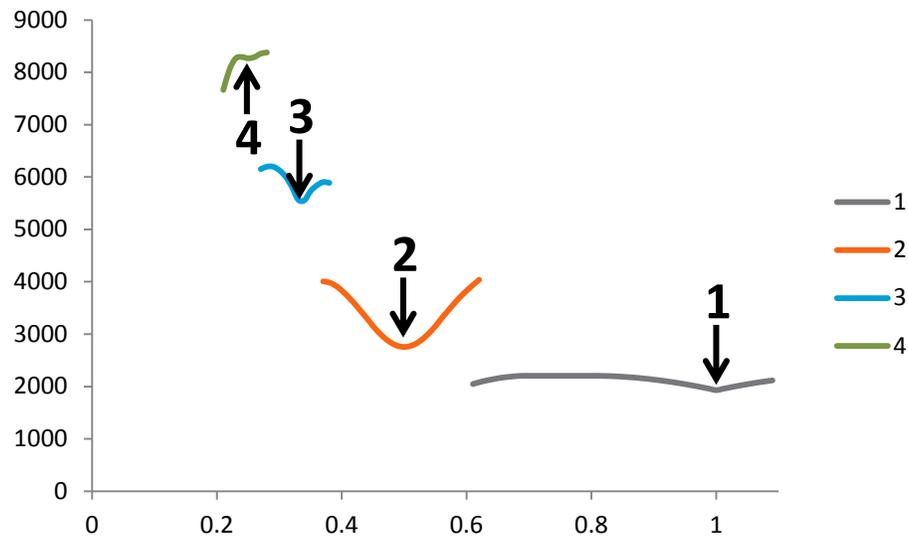


Figura 5-3: Gráfica integral absoluta de convolución del triplete simplificado 1

Cada vez que se incrementa el número de múltiplos de la función delta, el valor máximo que puede tomar también se incrementa produciendo el efecto de escalera que se muestra en la gráfica. Por simplicidad se muestran los primeros cuatro múltiplos.

En el procedimiento se propone no “barrer” toda la ventana espectral, sino determinar la mayor distancia entre los máximos existentes y agregar un 10% al mismo (Véase 4.3.1). A continuación se encuentran las convoluciones de cada uno de los mínimos encontrados empleando la m correspondiente.

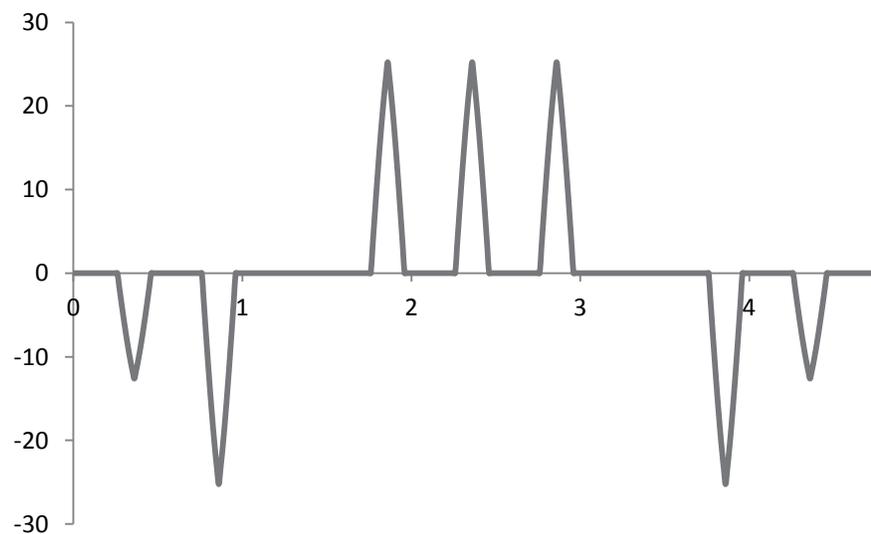


Figura 5-4: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=1$ y $J=1.0$

La figura 5-4 corresponde a la suma de ambas constantes de acoplamiento. A pesar de poseer una relativa simplicidad es posible observar que la deconvolución de la señal la zona central no es equivalente a la de las zonas laterales.

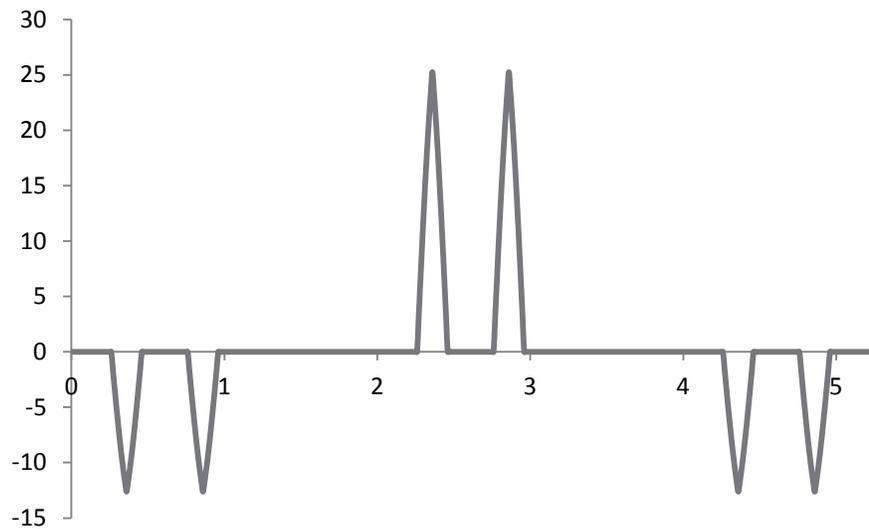


Figura 5-5: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=2$ y $J=0.5$

En el caso de la figura 5-5 corresponde al valor de la constante de acoplamiento. Se pueden observar claramente las funciones correctamente separadas y del mismo tamaño y que la zona central corresponde aquella esperada por la deconvolución.

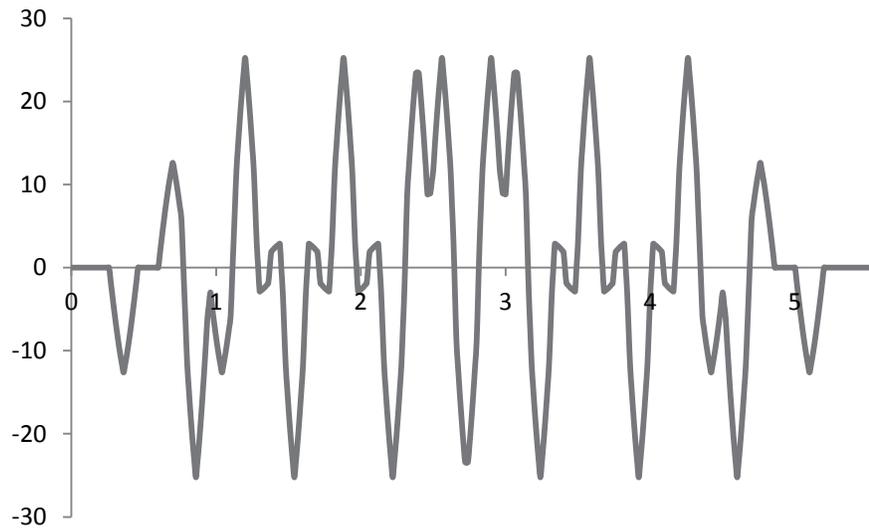


Figura 5-6: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=3$ y $J=0.34$

La figura 5-6 representa a un mínimo de origen distinto de ser una constante de acoplamiento. Este es un caso claro donde la existencia de un mínimo no tiene porque asociarse con un valor de constante de acoplamiento.

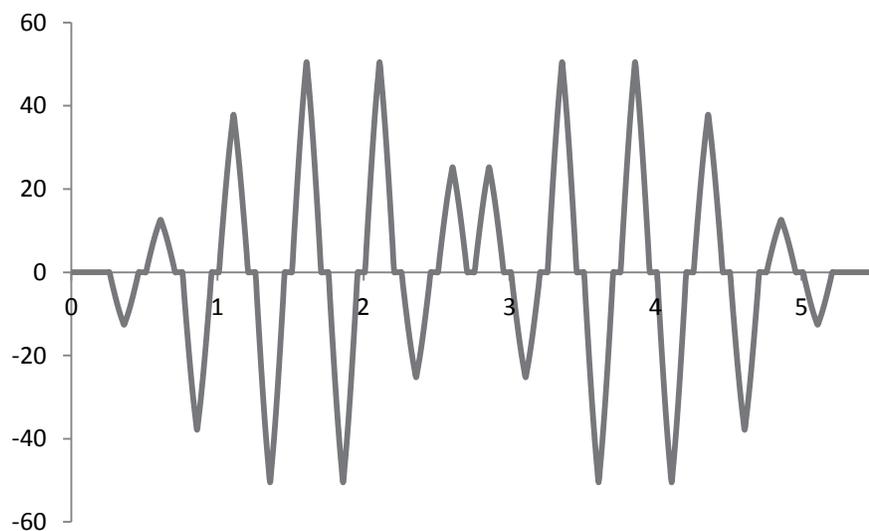


Figura 5-7: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=4$ y $J=0.25$

En la figura 5-7 es otro caso de un mínimo que no trata de una constante de acoplamiento. En este caso se encontró en una fracción del valor de las constantes. En estos casos perfectamente simétricos es relativamente común.

Existe una diferencia importante en el comportamiento aparente de las señales deconvolucionadas que emplean los valores de constantes de acoplamiento con respecto a las que no lo hacen. Las que emplean las constantes de acoplamiento son aparentemente independientes a los múltiplos empleados a partir del mínimo necesario para mostrar las cinco zonas, ya que sólo se incrementa la zona de ruido la cual tiende a ser pequeña (y en este caso ideal cero). Por otro lado las funciones que no emplean una constante de acoplamiento en su sección de ruido presentan patrones que se repiten cada determinado número de puntos.

A continuación se muestran las gráficas de las deconvoluciones con $J=1$ y $J=0.34$ agregando uno al valor de los múltiplos empleados con respecto a sus gráficas anteriores.

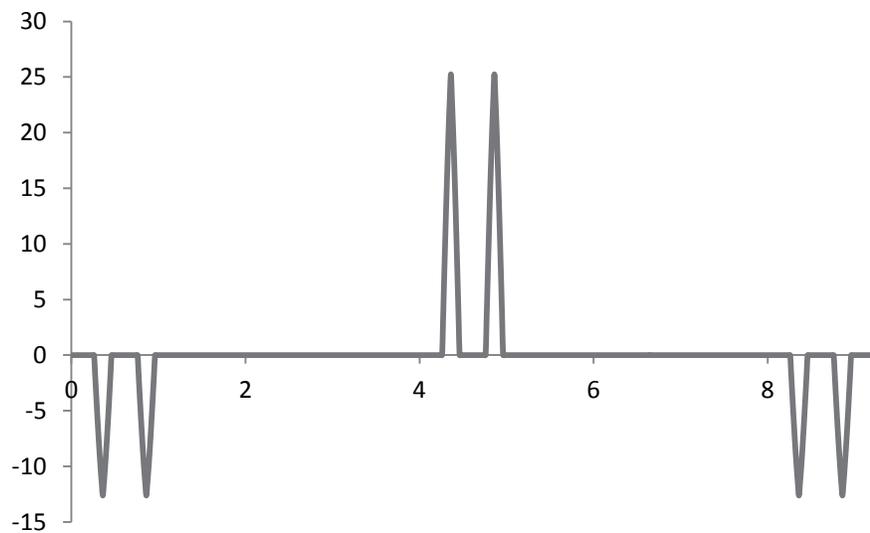


Figura 5-8: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=2$ y $J=1$

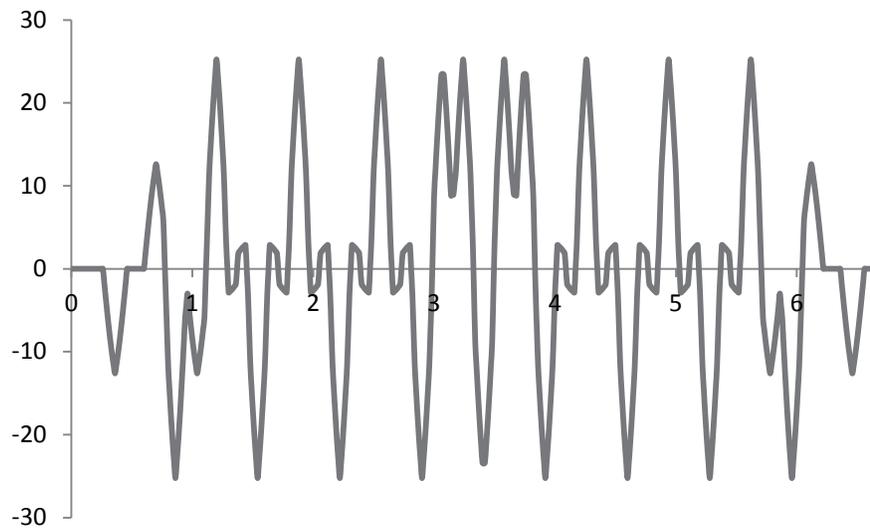


Figura 5-9: Gráfica de la deconvolución del triplete simplificado con $m=4$ y $J=0.34$

Mientras que las zonas laterales y la central permanecen iguales, la zona de ruido creció con un patrón.

Cuando los valores de prueba están próximos a las constantes de acoplamiento producen una forma parecida a la señal deconvolucionada esperada y en cierto sentido se podrían aceptar.

Por ejemplo este es el caso empleando un valor de constante de prueba de 0.49Hz.

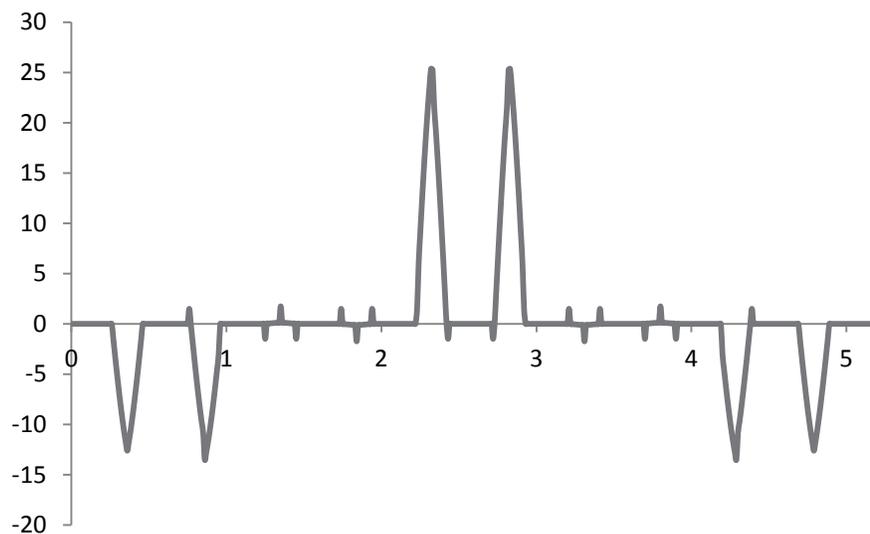


Figura 5-10: Valor cercano a constante de acoplamiento

En este caso es fácil diferenciar que no se trata de un valor de constante de acoplamiento dado que la función no debe presentar ninguna contribución en la sección de ruido al tratarse de una señal ideal. En las señales verdaderas esta diferencia puede no ser apreciable.

Por último este problema contemplo la existencia dos constantes de acoplamiento con el mismo valor. Sabemos que se puede obtener el valor ya que es un mínimo en la gráfica de integrales absolutas pero no indica cuantas veces se repite dicho valor. Para ello debemos aplicar la deconvolución con la función delta tantas veces como sea necesario (en este caso dos) y ver si la forma corresponde a una señal deconvolucionada.

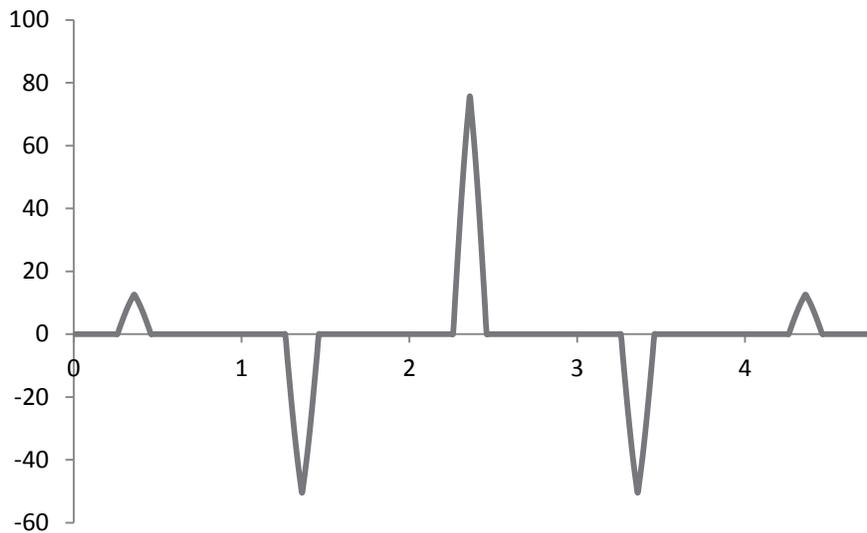


Figura 5-11: Doble deconvolución triplete simplificado

La señal es diferente en forma a la señal deconvolucionada sencilla, pero posee elementos claros. En este caso se incrementan la cantidad de zonas a 9 donde ahora hay 4 secciones de ruido y 5 secciones que contienen la señal deconvolucionada con diferentes áreas relativas entre sí.

La forma de una señal deconvolucionada, al incrementar el número de veces que es aplicada la función delta con los valores correctos de constantes de acoplamiento, da la apariencia que crece en los extremos alternando el signo de la señal. Por ejemplo para una convolución los signos son (- + -) y para dos convoluciones (el caso de la figura 5-11) se convierte en (+ - - +).

Para fines de determinación de aprobación de un multiplete, el algoritmo sólo analiza las zonas de los extremos y la zona central. Se encontró que esta medida es suficiente para la determinación de las constantes y no hay que desarrollar casos especiales dentro del algoritmo.

5.1.3 Doble de dobles real

Ahora se ejemplificará el resultado obtenido para un doble de dobles real.

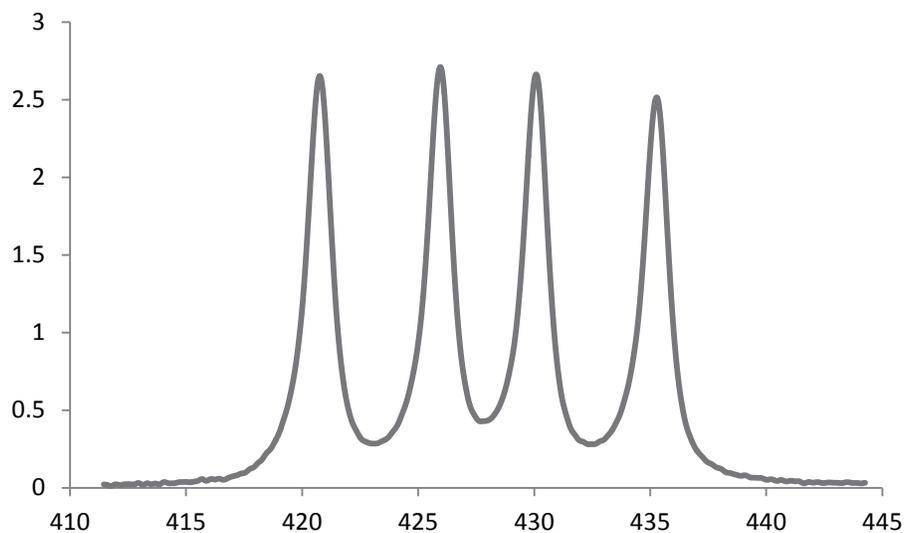
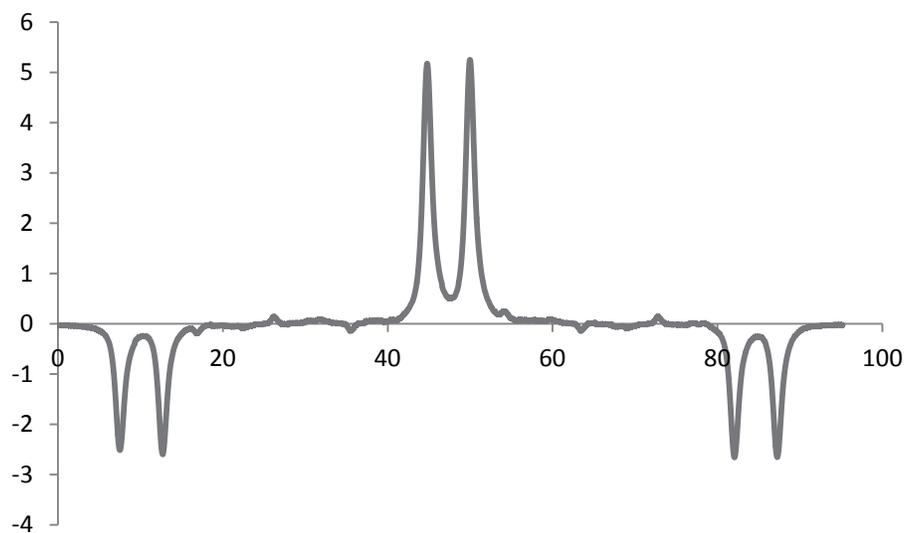


Figura 5-12: Señal doble de doble real

Realizando el análisis empleando el método explicado en la presente tesis se obtienen dos constantes de acoplamiento de valores 9.31Hz y 5.18Hz. Las gráficas de cada deconvolución por separado y con ambas se muestran a continuación.

Figura 5-13: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 9.31\text{Hz}$

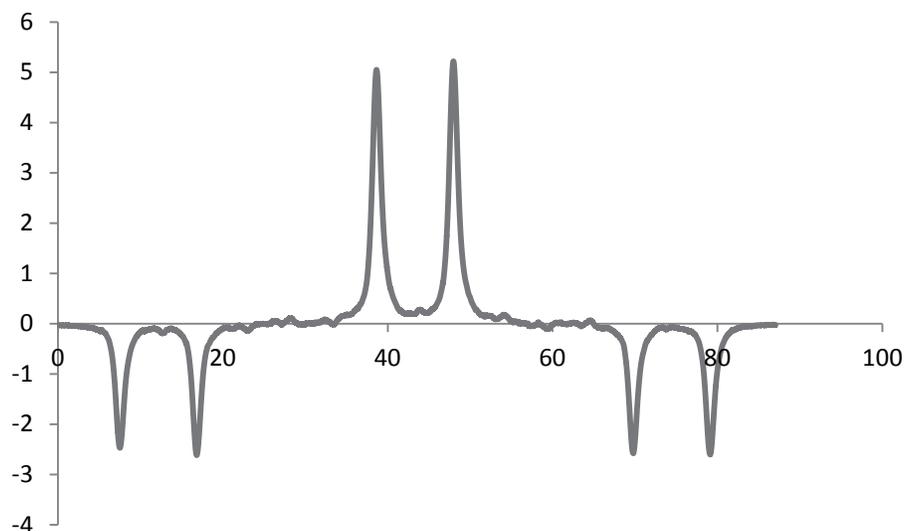


Figura 5-14: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 5.18\text{Hz}$

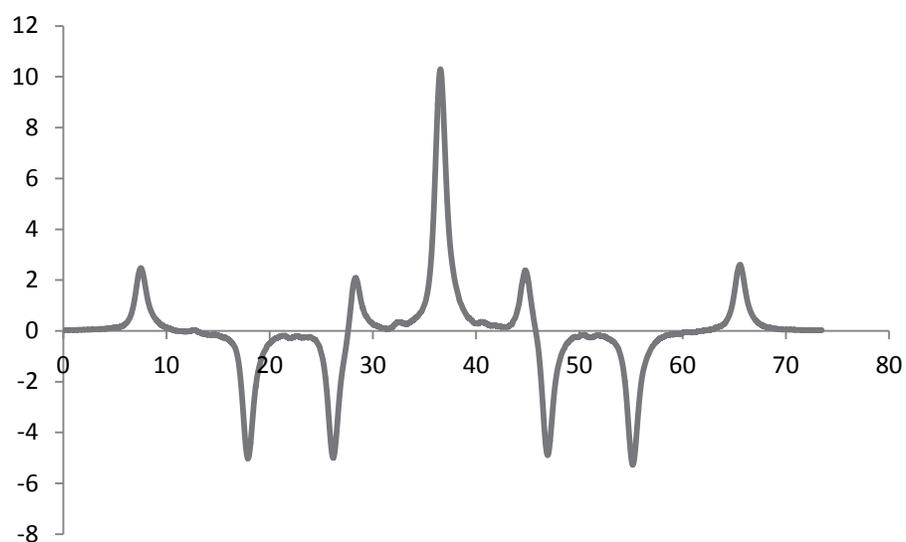


Figura 5-15: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 5.18\text{Hz}$ y con $J= 9.31\text{Hz}$

Se puede observar que los primeros dos casos se obtiene el patrón esperado para la señal de deconvolución. Para el caso donde se combinan no es evidente que ambas representen constantes de acoplamiento. A diferencia de cuando se analizan multipletes las zonas intermedias no se encuentran claramente definidas. Este fenómeno es una de las razones por las cuales no se recomienda buscar los mínimos haciendo el análisis empleando más de una constante de acoplamiento a la vez.

Una forma para reducir estos picos no esperados en la zona de ruido es incrementar el intervalo de análisis de la ventana espectral, siempre y cuando en la vecindad de la señal no se encuentre ninguna otra y el crecimiento de la zona de análisis se realice conservando a la señal centrada.

Al igual que en el caso del triplete simplificado si se escogen valores relativamente cercanos a un valor de constante de acoplamiento se pueden obtener gráficas que parecen representar constantes de acoplamiento. Aquí hay dos ejemplos empleando valores cercanos a la J de 9.31Hz.

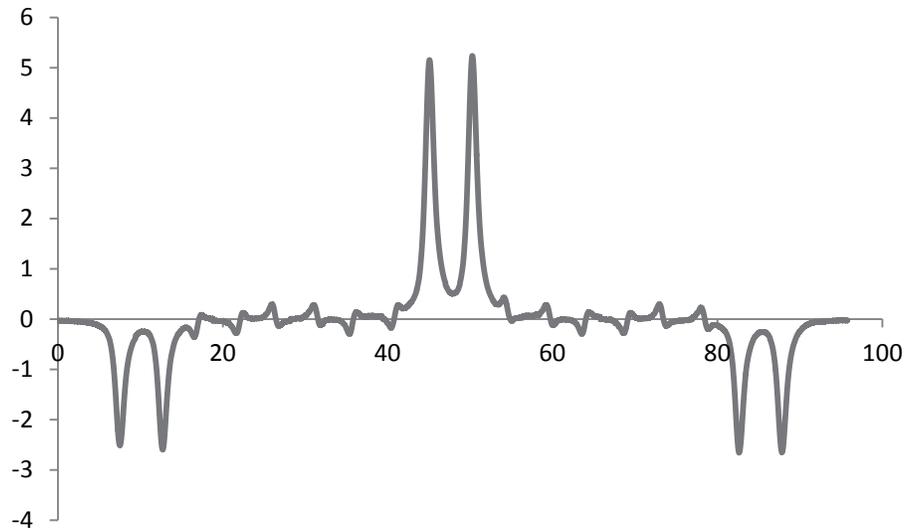


Figura 5-16: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 9.40\text{Hz}$

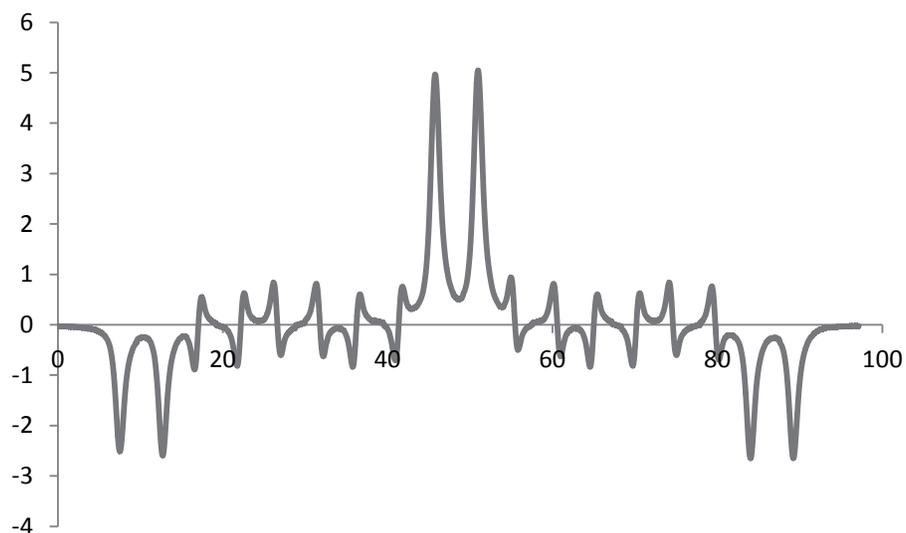


Figura 5-17: Gráfica de la deconvolución del doble de dobles real con $J= 9.59\text{Hz}$.

El espectro original tiene una resolución de 0.005462 Hz/punto por lo que la diferencia en puntos con respecto al valor estimado es de 15 puntos y 51 puntos respectivamente. A pesar de que a

grandes rasgos mantienen la misma estructura, es fácil ver que la distorsión es aparentemente mayor en la zona de ruido.

El método de análisis automático analiza la forma general de la señal deconvolucionada sin buscar que sea una deconvolución ideal. Esto da como resultado que ambas deconvoluciones anteriores puedan ser aprobadas por el algoritmo. Sin embargo hay que recordar que sólo se analizan los mínimos, partiendo que el valor de la constante es aquella que produce el valor más bajo de la deconvolución.

Un aspecto importante es que se propuso que la convolución al ser una operación conmutativa sería lo mismo buscar varios valores de la constante de acoplamiento al mismo tiempo que de forma separada (por ejemplo haciendo las convoluciones agregando los valores que se aprueben como constantes), sin embargo, debido a que en la práctica esto está sujeto a operaciones sobre valores numéricos y señales que no son ideales, existen varios problemas.

El primero es que al incrementar el número de operaciones el proceso se hace más lento ya que requiere una mayor cantidad de operaciones matemáticas. Al hacer una mayor cantidad de operaciones también existe la posibilidad de que los errores de redondeo comiencen a hacerse más importantes (para ello existen funciones de corrección; sin embargo, incrementa el número de operaciones requeridas y se incrementa la complejidad del algoritmo). Por último, al no tratarse de señales ideales, las irregularidades de la señal original se “incrementan”, por lo que también produce deformaciones en la gráfica de las integrales absolutas.

A continuación se muestra la gráfica de integrales absolutas buscada sin constantes “acumuladas” y en el caso de que se conozca la de 9.31Hz.

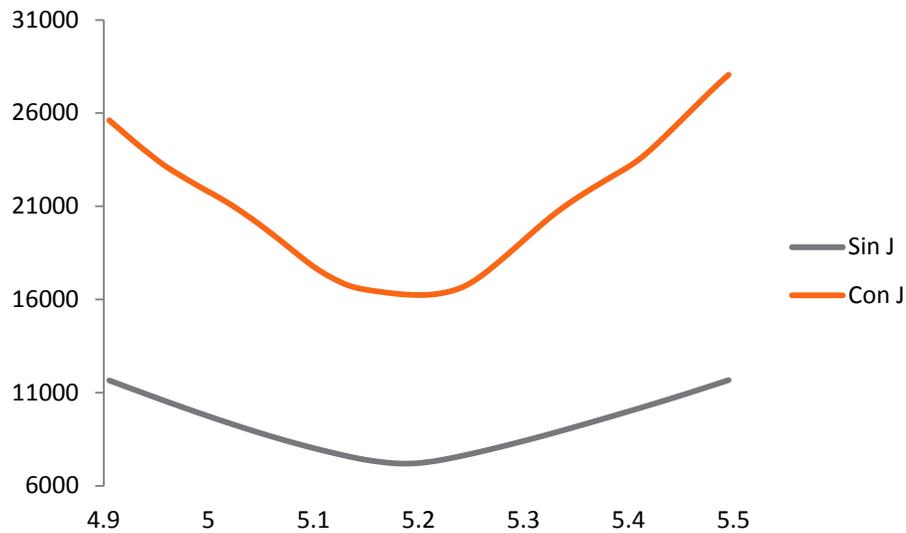


Figura 5-18: Gráfica de valores absolutos con J y sin J previa

En este caso es evidente la deformación que sufre la gráfica ya que se incrementan los puntos de inflexión (formación de irregularidades) además la zona donde se puede encontrar el valor de la constante de acoplamiento se hace más ancho (mínimo con menor definición) e inclusive existe un desplazamiento del mínimo (de 5.18Hz a 5.20Hz que representan tres puntos en el sistema actual).

Las deformaciones que sufren en este ejemplo son relativamente pequeñas; sin embargo, en señales más complicadas o al agregar más constantes de acoplamiento, dichas deformaciones tomarán una mayor importancia.

Tomando en cuenta todos estos factores (reducción de velocidad y modificación de los resultados) no se recomienda buscar nuevas constantes de acoplamiento acumulando en el operador de convolución las constantes ya conocidas.

5.1.4 Fenómenos que alteran el valor de la constante de acoplamiento

Hasta ahora no se ha comentado acerca de las características de la señal ideal, sin embargo es importante mencionarlas para poder explicar variantes entre los valores obtenidos y los valores “reales”.

Hay que recordar que en valores cercanos al valor de la constante de acoplamiento presentan una forma de la gráfica de convolución muy similar a aquella de cuando es el valor de la constante y muy posiblemente sean tomadas como correctas por el algoritmo. Por lo tanto todos aquellos factores que modifiquen ligeramente el valor mínimo son aquellos que afectan el valor de la constante encontrada.

Posiblemente el factor que más afecta el valor de la constante es la falta de simetría. Mientras que las señales sintéticas usadas para ejemplificar el método son perfectamente simétricas, en el caso de espectros reales se observa la distorsión de variación de la altura a lo largo de la misma señal.

Mientras que por lo general este cambio en la altura es despreciable pueden existir casos que si produzcan una alteración en el mínimo. Por lo tanto, es recomendable “aumentar la simetría” mediante el empleo de alguna función de corrección.

Adicionalmente y en menor medida, el ancho del pico de la señal puede producir la formación de falsos positivos y si existe un traslape muy significativo entre dos picos (creando uno sólo muy ancho) puede también producir ligeros desplazamientos (Véase 5.2.2).

Otro factor es el ruido. Si la proporción señal ruido es baja puede producir un incremento considerable en el número de mínimos en la gráfica de las integrales absolutas e inclusive puede existir un desplazamiento en el mínimo que representa la constante de acoplamiento (Véase 5.2.4).

Por último, la selección del tamaño de la ventana espectral es fundamental, ya que si no se escoge una porción con suficiente “espacio sin señal” existe un desplazamiento de todos los mínimos encontrados (Véase 5.2.3).

5.2 Pruebas sintéticas

En este caso se estudian los límites del método empleando señales con una apariencia más real y observando los resultados de cambiar la forma de las señales.

5.2.1 Obtención de la señal

Para las pruebas sintéticas se empleó una curva del tipo lorentziano como la que se muestra a continuación.

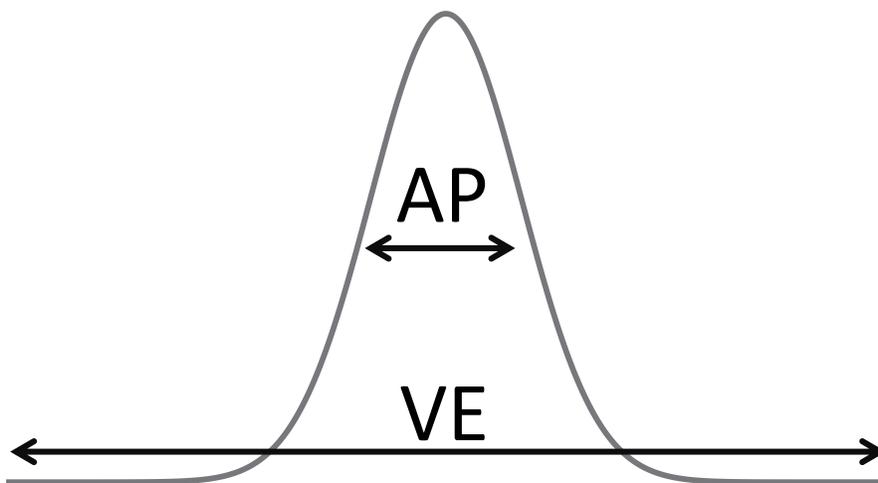


Figura 5-19: Triplete de prueba

La curva se obtiene de realizar la transformada correspondiente de la ecuación:

$$func(t, A, AP, J_1, J_2, \dots, J_n) = A \cdot e^{-t^2 \cdot 3.6275 \cdot AP^{1.9791}} \cdot \prod_{i=1}^n \pi \cdot J_i \cdot t \quad (5.2.1)$$

La amplitud (A) es relativamente independiente dado que sólo contribuirá a la altura final de las señales. Tratándose de señales sintéticas, todos los espectros se crearon con una A=10. El ancho de pico a la mitad de la señal (AP) fue ajustado para que representara su amplitud en Hz. La resolución (Res) y la ventana espectral (VE) se ajustan tomando en cuenta la diferencia entre los distintos “tiempos” (t) que se emplean para crear la función y la cantidad total de puntos a emplear al final de la transformada.

Los puntos y la diferencia de tiempos (sampling) se determinan a través de las siguientes ecuaciones:

$$puntos = \frac{2 \cdot VE}{Res} \quad (5.2.2)$$

$$sampling = \frac{1}{2 \cdot VE} \quad (5.2.3)$$

Cuando se agrega ruido a la señal se agrega directamente a la función previa a la transformada, imitando la forma que se obtiene ruido en los espectros comunes. Es importante notar que no se hace ninguna especie de filtrado como aquellas que se aplican para procesar las señales.

5.2.2 Cambio de ancho de pico sin ruido

Todas las siguientes pruebas sintéticas se realizan en las siguientes condiciones.

- La ventana espectral (VE) que se emplea es de 20Hz con una resolución de 0.005Hz dando señales con 4000 puntos para analizar.
- La variación del ancho de pico (AP) se realiza con un cambio 0.2Hz.
- Se mostrarán los resultados de la primera aproximación, es decir, sin aplicar un filtro secundario que evita que existan valores de constantes de acoplamiento fantasmas. Estos fantasmas se explicarán a continuación.

5.2.2.1 Sin constante de acoplamiento

Para poder distinguir entre los límites del método y sus problemas se estudiará que pasa con una señal simple la cual no tiene ningún valor de constante de acoplamiento.

Si estudiamos la cantidad de constantes de acoplamiento detectadas en función del ancho de pico tenemos lo siguiente.

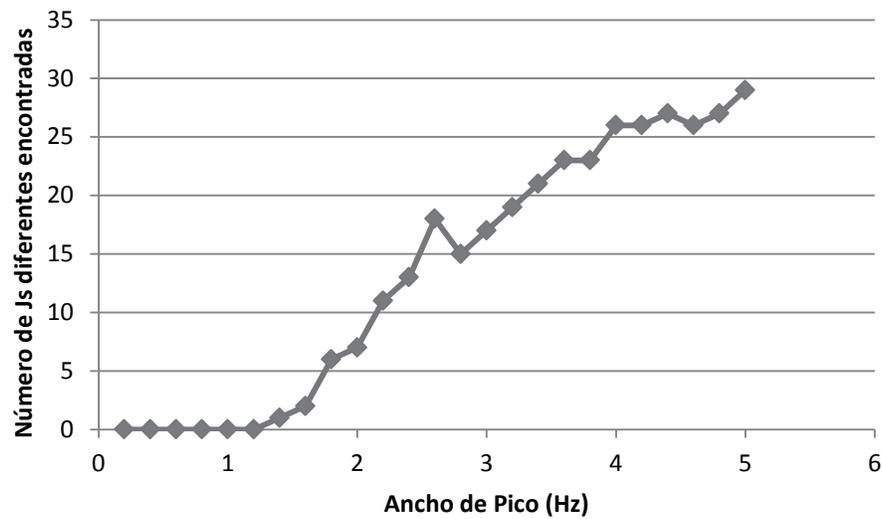


Figura 5-20: Número de constantes de acoplamiento distintas encontradas en función del ancho de pico en una señal sin constantes de acoplamiento

En este caso se puede observar que comienzan a surgir constantes de acoplamiento falsas y que el crecimiento de estos valores ficticios crece en función del ancho de pico. A continuación se muestran los valores de dichas constantes de acoplamiento encontradas.

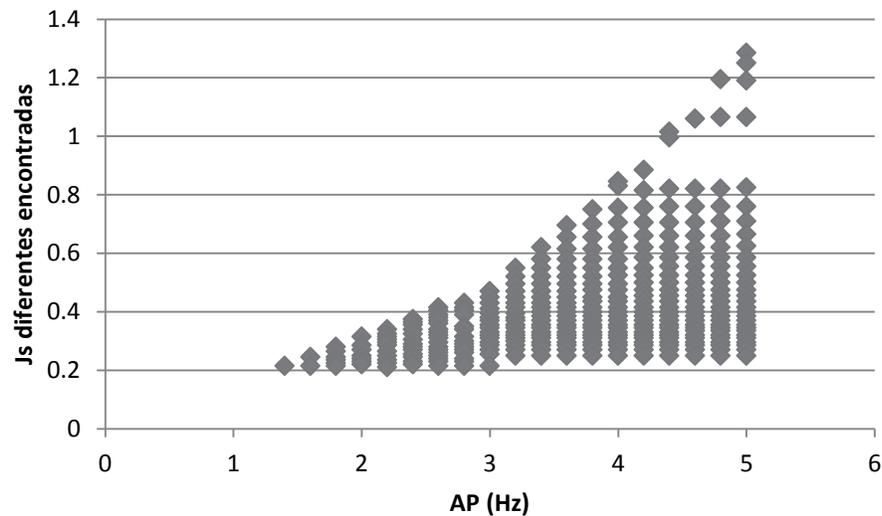


Figura 5-21: Valores de las constantes de acoplamiento encontradas en función del ancho de pico en una señal sin constantes de acoplamiento

La formación de constantes falsas se debe a que conforme crece el ancho de la señal, en la función de la integral del valor absoluto de la convolución en función de la j de prueba, comienzan a formarse mínimos que al ser evaluados con el método de detección son aprobados. Esto se debe a que los valores al ser tan pequeños aportan funciones que se parecen mucho a una señal de acoplamiento

exitosa ya que la función original casi no sufre alteraciones y la operación de convolución siempre dará forma de las cinco secciones. Dado que casi no alteran la señal inclusive pueden ser interpretados como multipletes. A continuación se muestra un ejemplo.

En las mismas condiciones y un ancho de pico con valor de 5Hz la función se ve de la siguiente manera.

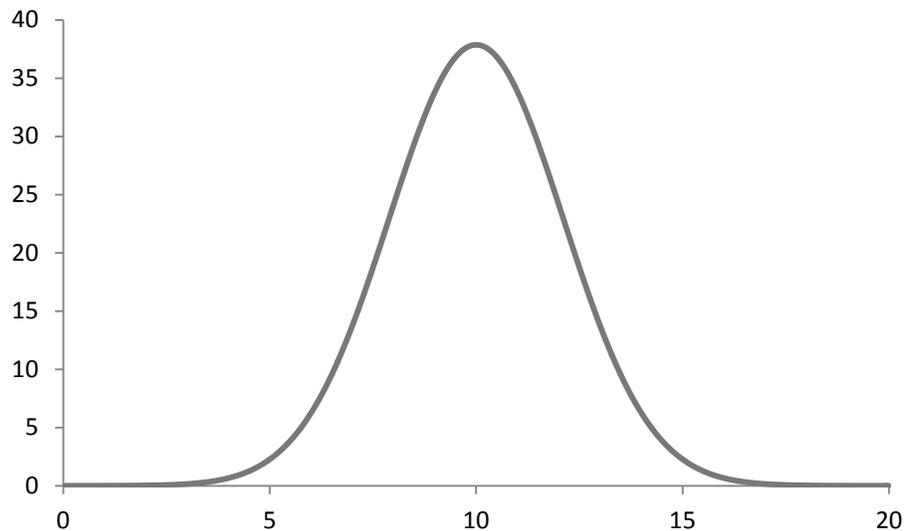


Figura 5-22: Función de prueba sin constante de acoplamiento y ancho de pico con valor de 5 Hz

Previamente se comentó que los mínimos se pueden formar a pesar de no tener constante de acoplamiento y los factores que lo producen no se pueden evitar. Sin embargo para valores que sean menores al ancho de pico (y en el caso de señales con multipletes valores suficientemente pequeños y dependientes de la forma misma de la gráfica) el aplicar la operación de convolución para determinar si se trata de una constante de acoplamiento puede dar resultados similares a los siguientes.

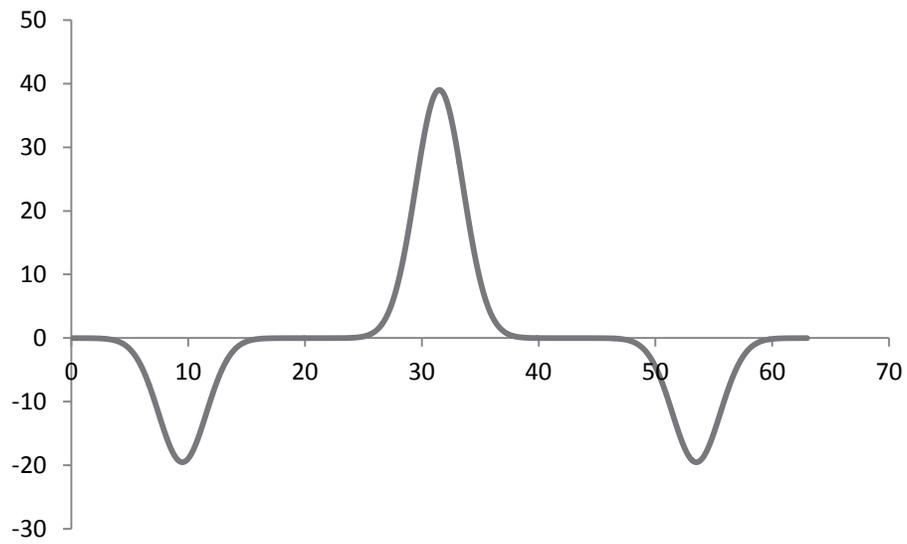


Figura 5-23: Gráfica de la deconvolución de la función de prueba sin constantes de acoplamiento con J de prueba de 1Hz

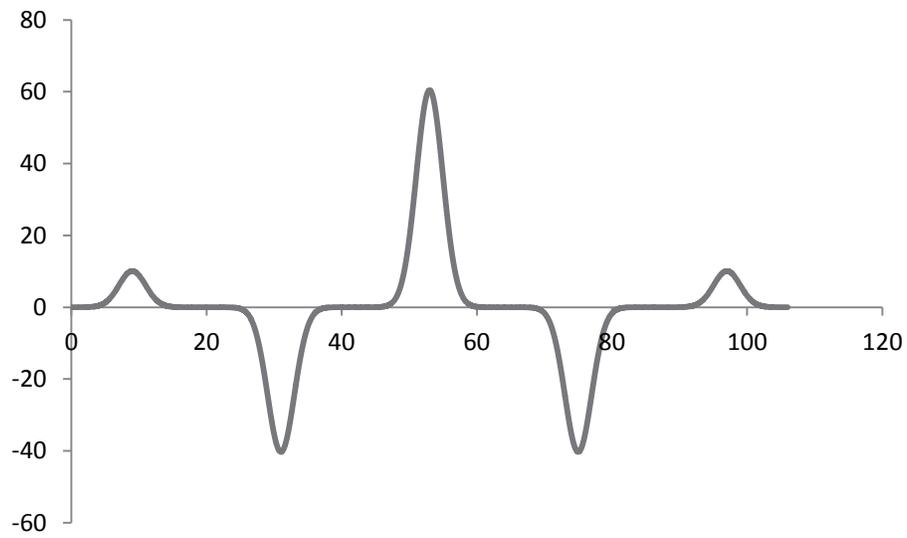


Figura 5-24: Gráfica de la deconvolución de la función de prueba sin constantes de acoplamiento con 2 Js de prueba de 1Hz

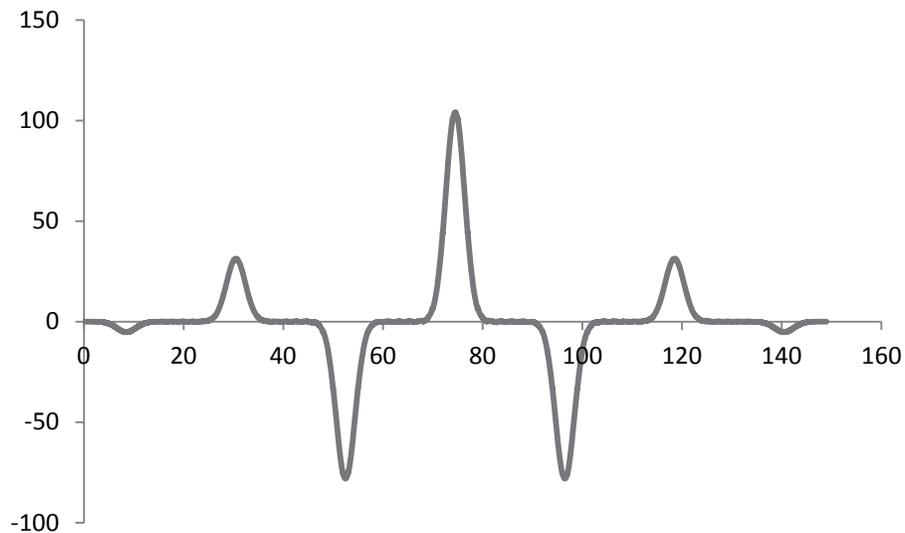


Figura 5-25: Gráfica de la deconvolución de la función de prueba sin constantes de acoplamiento con 3 Js de prueba de 1Hz

Desde el punto de vista del método, todas las Js de prueba (a pesar de ser un número escogido arbitrariamente) “representan” constantes de acoplamiento. Al hacer más ancho el pico de la señal, con mayor facilidad surgirán constantes de acoplamiento falsas y muy probablemente con multiplicidad (visualmente se podría pensar que cada convolución proviene de un doblete, pero realmente el algoritmo lo hace por un análisis de áreas). En el caso de esta señal de prueba, más del 90% de las señales fueron aprobadas cinco veces (el cinco es un límite que se puso en el algoritmo ya que es improbable que una señal real tenga la misma constante de acoplamiento cinco veces).

Este fenómeno (de señales falsas con multiplicidad) se manifestará en los siguientes casos (tanto en las señales sintéticas como en las reales) y habrá que tomarlos en cuenta durante la interpretación.

5.2.2.2 Una constante de acoplamiento

En este caso se emplea una constante de acoplamiento de 1Hz y determinando la cantidad e mínimos encontrados en función del ancho de pico es el siguiente.

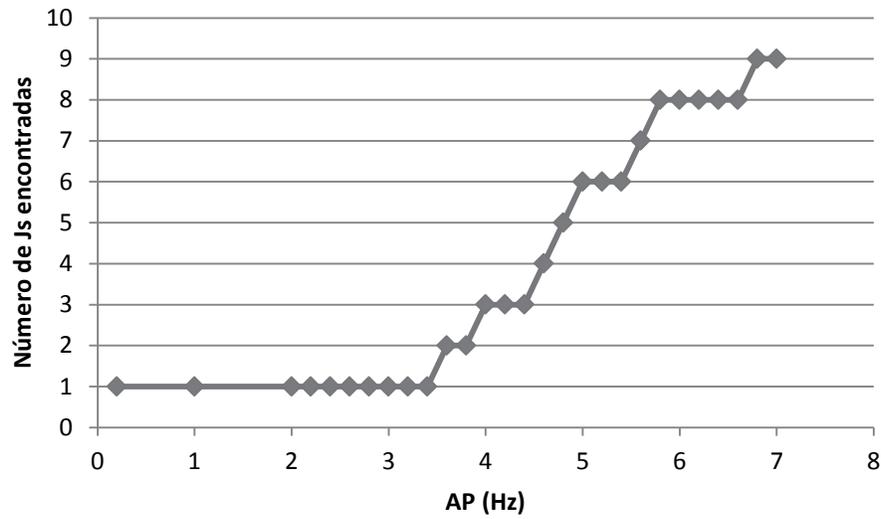


Figura 5-26: Número de constantes de acoplamiento distintas encontradas en función del ancho de pico con una constante de acoplamiento

En este caso el comportamiento era de esperarse ya que se vio anteriormente este crecimiento de constantes según el ancho de pico. A continuación se muestran los valores obtenidos de las constantes de acoplamiento encontradas.

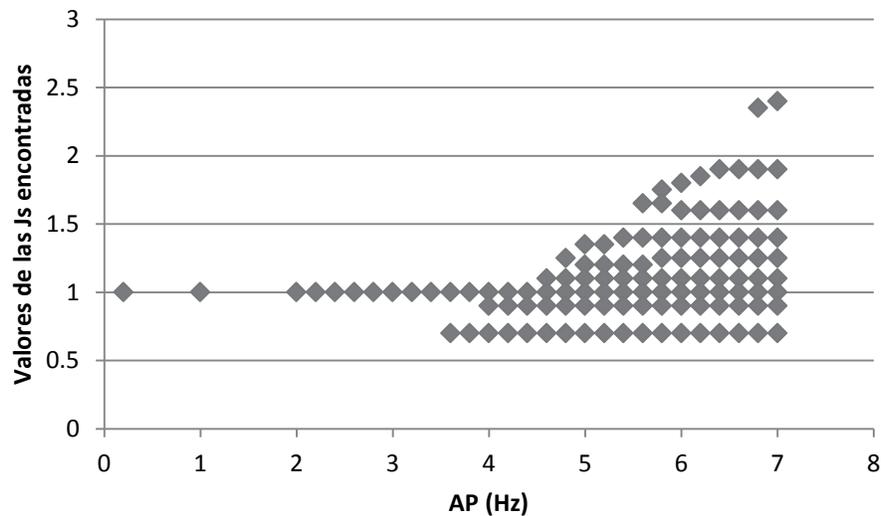


Figura 5-27: Valores de distintas constantes de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con una constante de acoplamiento

En este caso se puede observar que ante una constante de acoplamiento tan pequeña, a partir de un ancho de pico de cuatro se los valores falsos de las señales de acoplamiento comienzan a ser significativos y por lo tanto podría tomarse como falsos. Es importante notar que el valor de 1 es

consistente en todos los valores. Esto se debe que a pesar de que surjan otros mínimos el valor de la constante de acoplamiento sigue produciendo un mínimo en la gráfica.

Por último en el caso de la múltiple multiplicidad falsa con respecto al valor de la constante esperada se puede observar que tiene un comportamiento parecido a una señal falsa. A continuación se muestra una gráfica con la supuesta multiplicidad únicamente del valor de J esperado.

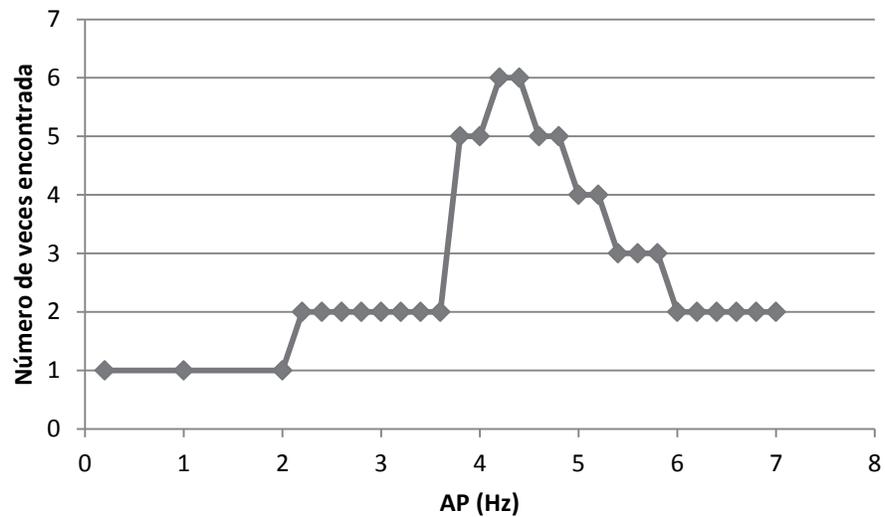


Figura 5-28: Multiplicidad de la constante de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con una constante de acoplamiento

5.2.2.3 Tres constantes de acoplamiento

En el caso de tres constantes de acoplamiento se observa un comportamiento muy semejante al de una constante de acoplamiento, sin embargo la aparición de señales ficticias se da en un ancho de pico mucho menor.

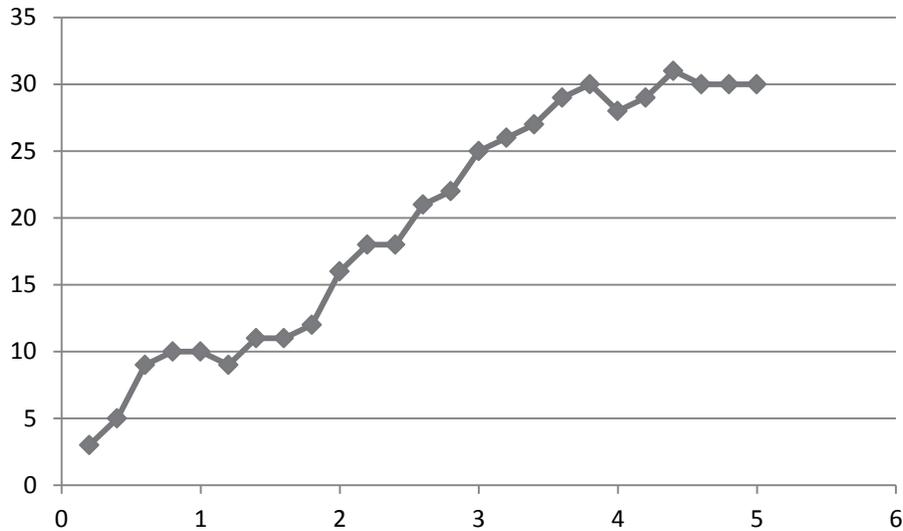


Figura 5-29: Número de constantes de acoplamiento distintas encontradas en función del ancho de pico con tres constantes de acoplamiento

En este caso se puede observar que la aparición de estas señales falsas ocurre desde un ancho de pico relativamente pequeño. Esto se debe a que al tratarse de una señal más compleja existe una mayor formación de mínimos y como ya se dijo antes, valores muy pequeños de J no producirán una alteración importante en la gráfica dando estos valores como positivos como constantes de acoplamiento.

Por lo general estos valores falsos no representan un problema para el algoritmo, ya que los datos que se muestran actualmente es el resultado del primer filtro de selección (valores probables). El segundo filtro se encarga de tomar las señales que son más probables, removiendo por lo general las constantes de acoplamiento pequeñas (que se ha mostrado que son las que se forman erróneamente primero).

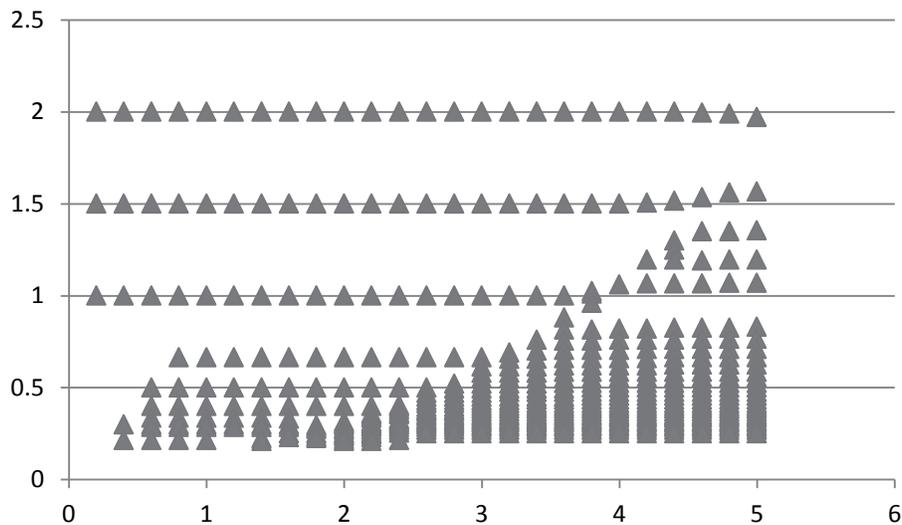


Figura 5-30: Valores de distintas constantes de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con una constante de acoplamiento

Es posible observar que a diferencia del espectro con una sola constante de acoplamiento en este caso no siempre se obtiene exactamente el valor de la constante de acoplamiento esperada (la gráfica sobre la multiplicidad que se muestra posteriormente sólo toma en cuenta los valores exactamente iguales y por eso pueden tomar el valor de cero). Esto tiene dos razones fundamentales. La primera es que el ancho de pico en efecto altera su posición y se favorece la formación de otros mínimos y la segunda es el efecto de la relación señal y espacio de la ventana espectral comienza a carecer de espacio sin señal.

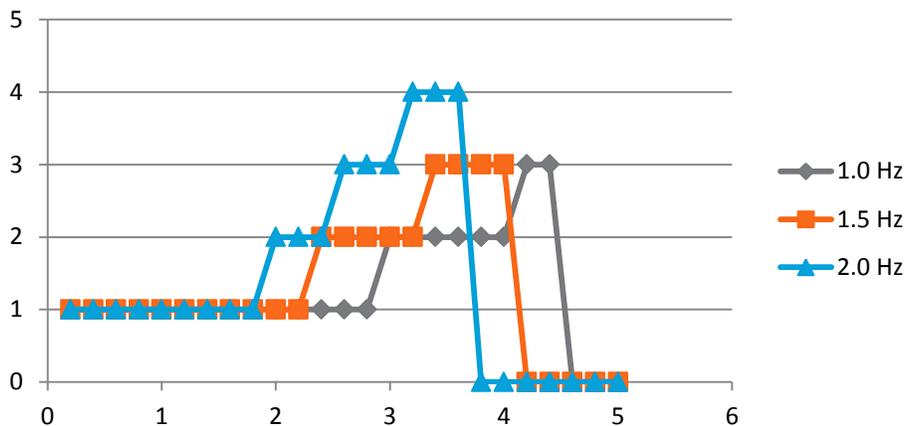


Figura 5-31: Multiplicidad de la constante de acoplamiento en función del ancho de pico en una señal con tres constantes de acoplamiento

5.2.3 Efectos de la ventana espectral

En este caso se estudiará el cambio del intervalo de trabajo (ventana espectral) en la determinación de la constante de acoplamiento.

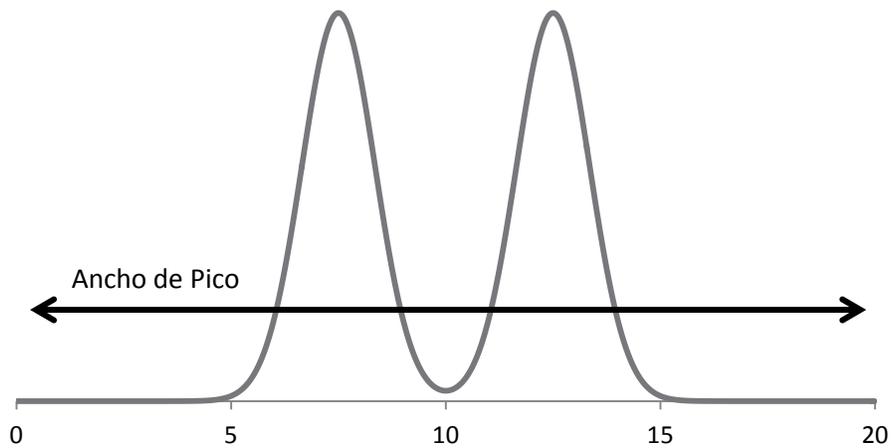


Figura 5-32: Forma de la señal en la cual se hicieron las pruebas

Se hicieron dos pruebas con una señal con una constante de acoplamiento de 5 Hz con una resolución de 0.01Hz y con un ancho de pico de tres y dos Hz. Se determinó la constante de acoplamiento (o mínimo más cercano encontrado) en función del tamaño de la ventana espectral.

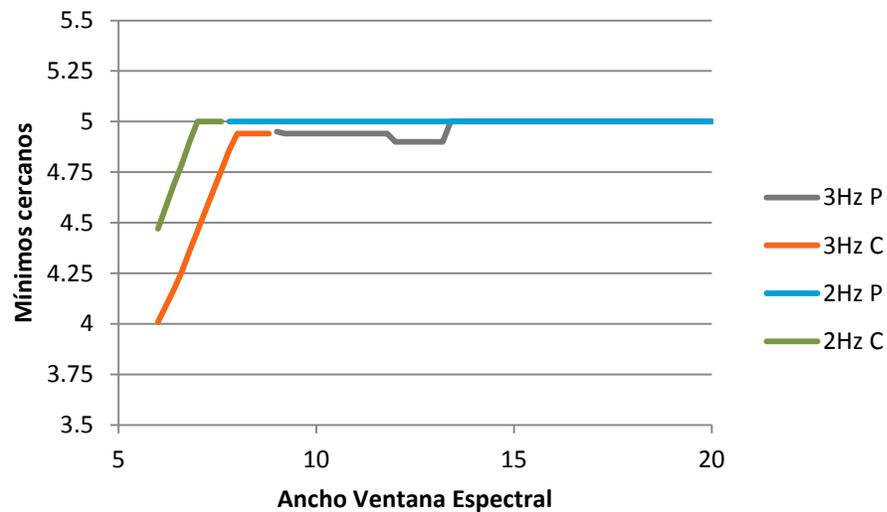


Figura 5-33: Mínimos cercanos encontrados en función de la ventana espectral

En este caso ideal donde la señal se encuentra perfectamente centrada, simétrica y sin ruido las constantes de acoplamiento se pueden encontrar aun cuando se escoge una ventana espectral que es menos al “fin de la señal” (aun cuando no se pueda definir exactamente el punto donde termina la señal, es posible contemplar que es al menos tres veces el ancho de pico sumada a la constante de acoplamiento, lo cual daría 11Hz para cuando el ancho de pico es 2Hz y 14Hz para cuando el ancho de pico es de 3Hz).

Sin embargo, si se escoge una ventana espectral mayor que el tamaño de la señal no tiene alteraciones a los valores encontrados, esto es importante ya que en algunos espectros reales se encontró que escogiendo diferentes tamaños de la ventana espectral se encontraban distintos valores a pesar de que visualmente era mayor que el tamaño de la señal. Aparentemente los efectos de la imperfección (falta de simetría, ruido y no encontrarse perfectamente centrado) de una señal pueden ser disminuidas escogiendo una mayor ventana espectral (mientras no se contenga otra señal dentro de la misma ventana).

5.2.4 Efectos del ruido

En este caso se realizan las pruebas a diferentes niveles de ruido empleando el mismo valor de la constante de acoplamiento. Las condiciones son: ventana espectral de 40.96 Hz, resolución 0.01, J de 5 Hz y cuatro diferentes valores de ancho de pico (2.5Hz, 5.0Hz, 7.5 Hz y 10.0Hz). A estas señales se les ajustó para que la relación señal ruido (SNR) estuvieran con un valor promedio cercano 20, 30, 40 y 50 después de 200 señales. Es importante notar que estos valores no son exactos (SNR), pero para términos de comparación y para que aporten una noción del comportamiento será suficiente.

La cantidad de mínimos a buscar se incrementa considerablemente según el nivel de ruido que existe en el sistema. A continuación se muestra el crecimiento de los mínimos con respecto a la relación señal ruido obtenida.

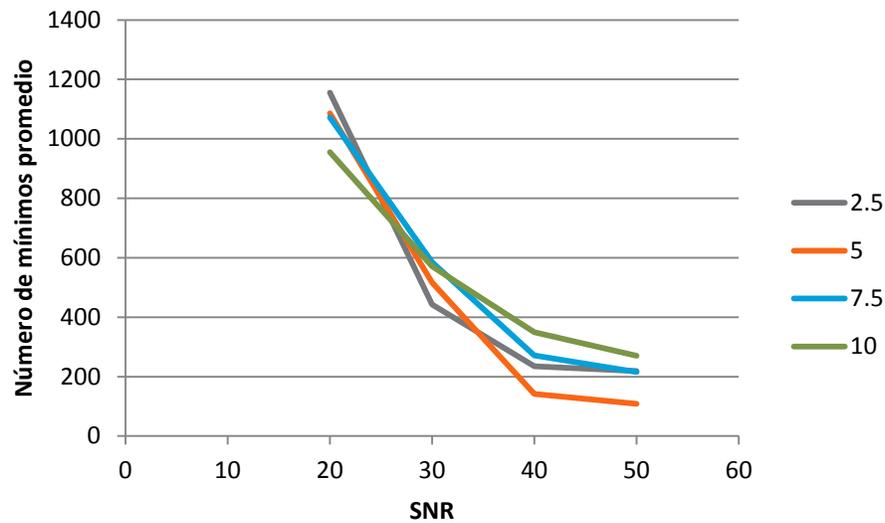


Figura 5-34: Promedio de mínimos totales en la gráfica de integral absoluta de convolución en función del valor de SNR

Cuando se trata de las mismas gráficas sin ruido el número de mínimos son: 5 mínimos para 2.5Hz, 16 para 5.0Hz, 27 para 7.5Hz y 32 para 10.0Hz

Por otro lado tomando en cuenta el éxito del algoritmo para determinar el valor de la constante de acoplamiento en función del SNR se muestra a continuación.

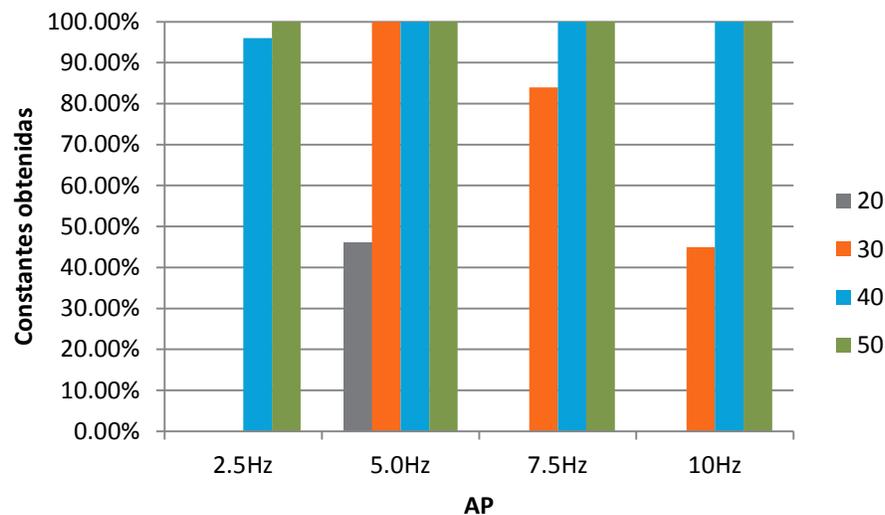


Figura 5-35: Porcentaje de valores de constantes de acoplamiento encontradas en función del ancho de pico con diferentes valores de señal ruido

En este caso es posible observar que mientras la SNR se encuentra por arriba de 50 se encuentran el 100% de las veces las constantes de acoplamiento. En el caso de SNR de 20 existe una

muy baja posibilidad de encontrar valores de constantes de acoplamiento ya que entre los distintos filtros para la determinación se encuentra que las secciones de ruido no superen cierta área con respecto al área que proviene de las zonas de señal. Los valores intermedios (30 y 40) dependerán principalmente del ruido en el sistema ya que puede favorecer que la relación entre áreas o afectarlas al grado que sean rechazadas.

Por último, tomando en cuenta únicamente aquellas constantes de acoplamiento encontradas y su desviación estándar con respecto al valor esperado se obtiene la siguiente gráfica.

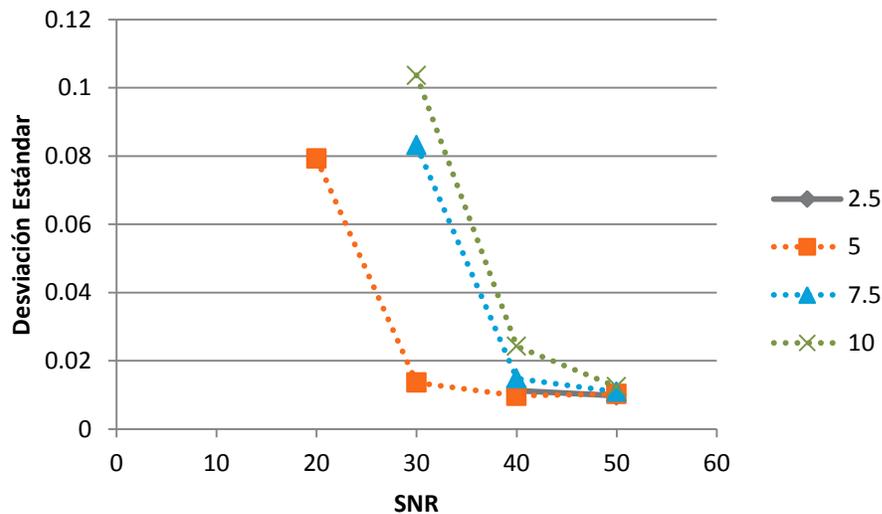


Figura 5-36: Desviación estándar del valor de la constante de acoplamiento encontrada en función de la SNR

Independientemente a que la función acepte o no el valor de la constante de acoplamiento el ruido tiene un efecto pequeño en la ubicación del mínimo producido por la constante de acoplamiento. El principal efecto del ruido será la posibilidad de ser rechazado y un muy ligero desplazamiento.

5.3 Espectros Reales

Por último se presenta el caso de señales obtenidas a través de un experimento real. Con el fin de comparar resultados empleando este método.

El procedimiento para estudiar los espectros empleando el programa “Blue Katze” de estos compuestos se explica en el apéndice 8.1.

5.3.1 Estricnina

La estricnina es el compuesto elegido como referencia para las constantes de acoplamiento. Su estructura es la siguiente.

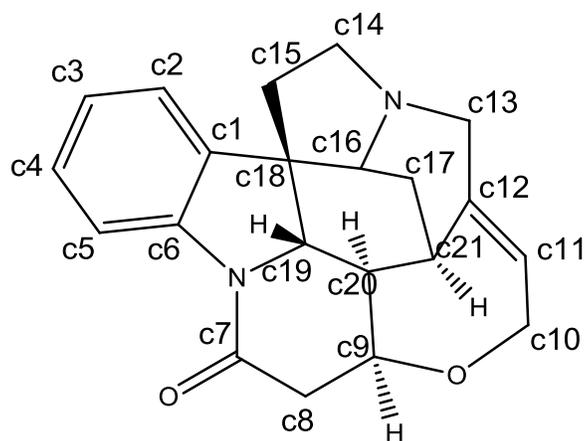


Figura 5-37: Estructura de la estricnina

El espectro fue obtenido experimentalmente empleando un equipo de 500Mhz y se le realizo un "Zero-filling" para que tuviera una resolución digital de 0.004 Hz.

El espectro obtenido para este compuesto es el siguiente:

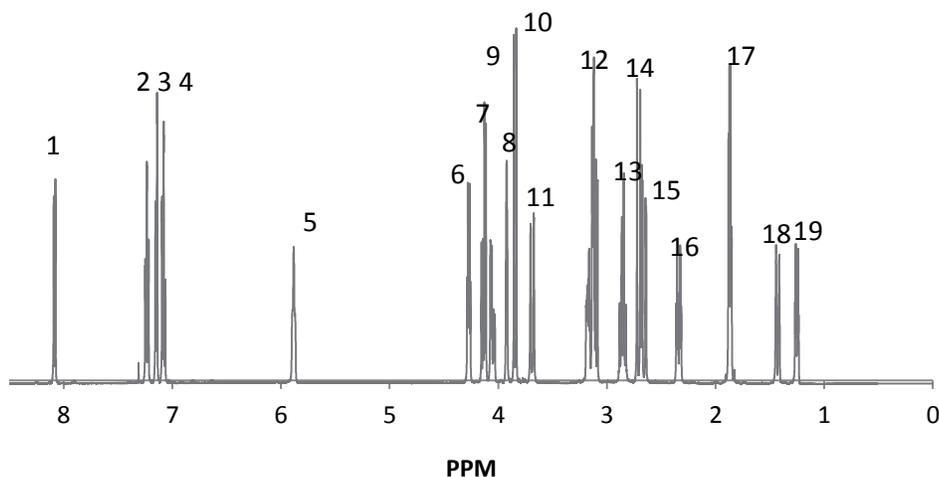


Figura 5-38: Espectro HNMR de la estricnina

5.3.1.1 Resolución del espectro y asignación de señales

Mientras la asignación de señales se toma a partir del trabajo de Gary Martin (Martín 1986) a continuación se describen algunas de las características de las señales.

La señal 1 corresponde al hidrógeno en el carbono 5 (C5) y presenta un desplazamiento químico que corresponde a ser aromático y un desplazamiento adicional que se debe a la cercanía del oxígeno al anillo bencílico, presenta un acoplamiento con hidrógenos de los carbonos 2, 3 y 4 que son los mismos

del anillo. Por los pequeños valores de dos de las constantes de acoplamiento esta señal parece un doblete dobleteado.

La señal 2 corresponde al carbono 4 presenta el desplazamiento correspondiente al encontrarse en un anillo y acoplamientos con los hidrógenos de los carbonos del mismo anillo (3, 4 y 5). En este caso la señal tiene la forma de un triplete dobleteado ya que dos constantes de acoplamiento son muy semejantes.

La señal 3 corresponde al hidrógeno en el carbono 2. En este caso presenta constantes de acoplamiento con los demás hidrógenos del anillo con valores muy pequeños por lo que vuelve a presentarse como un doblete dobleteado.

La señal 4 corresponde al hidrógeno en el carbono 3. En este caso su forma es semejante a la de la señal 2 por los mismos motivos.

La señal 5 corresponde al hidrógeno del carbono 11 y presenta un desplazamiento característico de hidrógeno en carbono con doble enlace tiene acoplamientos con los hidrógenos de los carbonos 13, 21, 10 (2). Su forma asemeja a un triplete con un ancho de señal mucho mayor, debido a varias constantes de acoplamiento pequeñas.

La señal 6 correspondiente al hidrógeno en el carbono 9 tiene un desplazamiento químico provocado por ser vecino a oxígeno y presenta acoplamientos con los hidrógenos de los carbonos 8 (2) y 20. El resultado es una señal de un triplete dobleteado.

Las señales 7 y 8 corresponden a hidrógenos geminales en el carbono 10. Posee un fuerte desplazamiento químico provocado por ser vecino a oxígeno y a carbono con doble enlace. Sus constantes de acoplamiento corresponden al átomo geminal opuesto y al hidrógeno en carbono 11. Ambas señales tienen la forma de un cuadruplete.

La señal 9 corresponde al hidrógeno en el carbono 16. Su desplazamiento proviene por parte del nitrógeno y presenta acoplamiento con los hidrógenos del carbono 17. Tiene la forma de un triplete sin separar ya que las constantes de acoplamiento son pequeñas en relación con el ancho de pico.

La señal 10 corresponde al hidrógeno en el carbono 19. Su desplazamiento corresponde a ser vecino al grupo amido y presenta una constante de acoplamiento con el hidrógeno del carbono 20. En este caso la señal es un doblete sencillo.

La señal 11 corresponde a uno de los hidrógenos del carbono 13. Presenta acoplamiento con su hidrógeno geminal y el hidrógeno en carbono 21. El resultado es un doblete dobleteado.

La señal 12 es realmente una mezcla de las señales de los hidrógenos de los carbonos 14, 21 y uno de los hidrógenos del carbono 8. Debido a que no están claramente separadas, esta señal no puede

ser resuelta por el método actual. Dichos átomos se encuentran en distintos lugares de la molécula y su desplazamiento se debe a razones químicas distintas. El hidrógeno en el carbono 14 presenta un desplazamiento por ser vecino a un nitrógeno y sus acoplamientos se deben a los hidrógenos del carbono 15 (2) y su hidrógeno geminal. El hidrógeno del carbono 21 presenta el desplazamiento debido a ser vecino del doble enlace y presenta dos acoplamientos con los hidrógenos del carbono 17 y con el carbono 20. Dado que los acoplamientos son fuertes no se tiene una señal característica. Por último el hidrógeno en el carbono 8 que presente sufre del desplazamiento al ser vecino del grupo amido, se acopla únicamente con el hidrógeno del carbono 9.

La señal 13 corresponde al hidrógeno restante del carbono 14. Su desplazamiento también corresponde al ser vecino del nitrógeno, pero tiene un distinto valor por geometría. El acoplamiento también corresponde a los hidrógenos en el carbono 15 (2) y su hidrógeno geminal. Debido a que una constante de acoplamiento es muy pequeña, la señal se ve principalmente como un cuadruplete.

La señal 14 corresponde al hidrógeno restante del carbono 13. Su desplazamiento se debe al nitrógeno y sus acoplamientos corresponden a su hidrógeno geminal. Al tratarse de una sola constante de acoplamiento, la señal es un doblete. En este caso no se resuelve dentro del método porque sufre de un traslape con la señal 15.

La señal 15 corresponde al hidrógeno restante en el carbono 8. Sufre de un ligero desplazamiento al ser vecino del grupo amido y presenta acoplamiento con su hidrógeno geminal y el hidrógeno del carbono 9. En este caso la señal tiene la forma de un doblete duplicado. Al igual que la señal 14, no pudo ser resuelta por el traslape correspondiente.

La señal 16 corresponde a uno de los hidrógenos del carbono 17. Presenta acoplamiento con su hidrógeno geminal y los hidrógenos en los carbonos 16 y 21. La señal corresponde a un triplete dobleteado.

La señal 17 corresponde a los hidrógenos del carbono 15. En este caso los hidrógenos se comportan como átomos equivalentes y presentan acoplamiento con los hidrógenos en el carbono 14.

La señal 18 corresponde al hidrógeno restante del carbono 17. Presenta acoplamiento con su hidrógeno geminal y los hidrógenos en los carbonos 16 y 21. Debido a que sus constantes de acoplamiento son diferentes, a simple vista tiene la forma de un doblete, sin embargo propiamente también se trata de un doblete dobleteado.

La señal 19 corresponde al hidrógeno en el carbono 20. Presenta acoplamientos con los hidrógenos de los carbonos 9, 19 y 21. En este caso se obtiene una señal de triplete dobleteado claramente definido.

5.3.1.2 Resultados de las constantes de acoplamiento

Señal	Hidrógeno en	Acoplamiento J (Hz)		
		Reportado	Obtenido	Diferencia
1	c5	8.04	8.043	0.003
		1.05	1.062*	0.012
		0.56	0.568*	0.008
2	c4	8.07	8.059	-0.011
		7.30	7.340	0.040
		1.42	1.450*	0.030
3	c2	7.33	7.213**	-0.117
		1.42	1.409	-0.011
		0.59	0.588*	-0.002
4***	c3	7.33	7.504	0.174
		7.30	7.365	0.065
		1.08	1.050	-0.030
5	c11	6.93	6.609	-0.321
		6.06	6.495	0.435
6	c9	8.41	8.411	0.001
		3.40	3.419	0.019
		3.28	2.827	-0.453
7	C10	6.93	-	--
		6.06	-	-
8	C10	13.20	-	-
		6.93	-	-
9	C16	3.80	3.766	-0.034
		2.13	2.132	0.002
			1.319	-
10	C19	10.45	10.473	0.023
11	C13	14.84	14.713	-0.127
		1.33	1.319*	-0.011
12	C14, C21, C8	-	-	-
13	C14	-	-	-
14	C13	-	-	-
15	C8	-	-	-
16	C17	14.32	14.337	0.017
		4.76	4.779	0.019
		3.89	3.950	0.060
17	C15	-	-	-
18	C17	14.32	14.321	0.001
		2.13	2.157	0.027
19	C20	10.51	10.441	-0.069

		3.37	3.521	0.151
		3.09	3.121*	0.031

Tabla 5-1: Resultados estricnina

Los resultados con (*) representan aquellos donde ya se encontraban debajo de la zona donde se generan los resultados falsos positivos. Fueron escogidos como los valores más cercanos o aquellos que daban una señal de deconvolución más limpia. El doble asterisco (**) representan valores el cual su mínimo fue encontrado pero dada la irregularidad de la señal no fue aprobada de forma automática como constante de acoplamiento. Por último el triple asterisco (***) indica que para poder obtener valores fue necesario hacer un ajuste a la señal sobre su línea base modificando la forma de la señal.

El método tiene limitaciones en cuanto a resolver señales que se encuentren traslapadas o que su forma se aleje demasiado de una señal ideal. Los casos omitidos son aquellos en los cuales no fue posible determinar los valores por cualquiera de ambas razones.

El método con el que son contrastados los resultados son los publicados en el artículo “A two-stage approach to automatic determination of ^1H NMR coupling constants”.

Mientras ambos métodos se encuentran basados en el mismo principio de emplear la deconvolución de la señal empleando Js de pruebas, el método de la duplicación de Js realiza deconvoluciones acumulativas. Este método busca realizar tantas deconvoluciones sean necesarias para obtener una señal singulete con un grosor específico, ya que una constante de acoplamiento pequeña puede dar la apariencia de una señal ancha.

Con ambos procedimientos se obtienen resultados similares. El valor promedio de las diferencias es de apenas -0.002Hz con una desviación estándar de 0.144Hz. Mientras se esperaba que ambos resultados fueran idénticos una variable adicional es que no fue posible realizar la determinación de las constantes empleando el mismo espectro.

5.3.2 Norborneno

El norborneno (2-Benzoilo-5-norboneno) fue escogido para determinar sus constantes de acoplamiento.

El compuesto químico tiene la siguiente estructura.

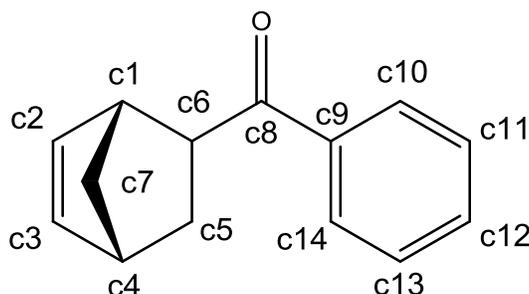


Figura 5-39: Estructura del Norborneno

El espectro fue obtenido en las mismas circunstancias que la estricnina sin embargo su resolución digital es de 0.00859Hz

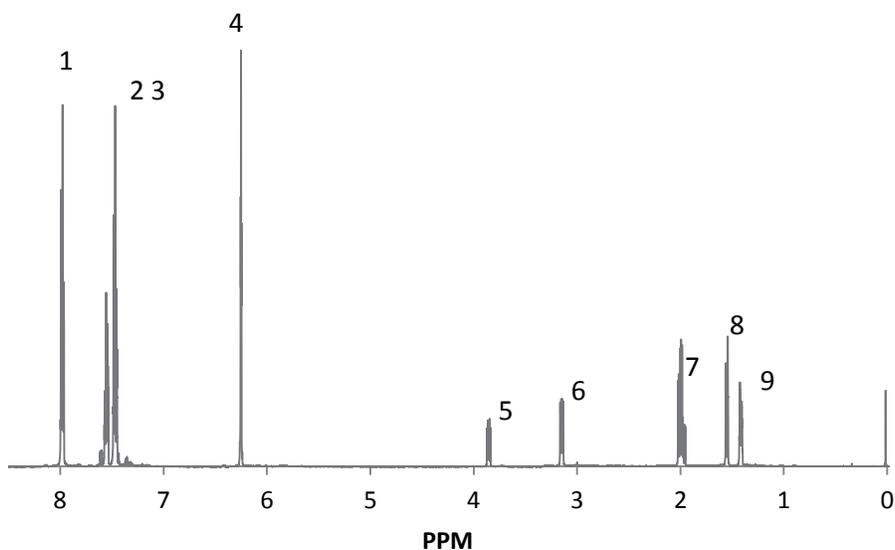


Figura 5-40: Espectro norborneno

Aplicando el método automático se obtuvieron los siguientes resultados.

Señal	Hidrógeno en	Acoplamiento J (Hz)
1	C14, C10	-
2	C13, C11	-
3	C13, C11	-
4	C2, C3	2.214
		1.605
5	C1	9.083
		4.43
		3.477
6	C6	9.066
		4.816
		1.596
7	C4	-
8	C7, C5	8.558
		1.708
		1.630
9	C7, C5	8.567
		2.850
		2.592
		2.485

Tabla 5-2: Resultados Norborneno

Las primeras tres señales corresponden a los hidrógenos en los carbonos dentro de la parte aromática. Estas señales se encontraban traslapadas por lo que no fue posible obtener las constantes de acoplamiento de las mismas. En el caso de la señal 7 también se encontró traslapada por lo que no fue posible determinar sus constantes de acoplamiento.

En la literatura no se encuentran reportados directamente los valores de las constantes de acoplamiento en Hz. Los estudios encontrados relacionan directamente el ángulo de la molécula con diversos sustituyentes.

5.4 Tiempo de Cómputo

Hasta ahora no se han comentado sobre las propiedades del tiempo de cómputo para realizar los experimentos ya que hay muchas variables para poder predecir cuanto tiempo tomará realizar un análisis automático de una determinada señal.

Hay dos factores principales que determinan el tiempo que tomará hacer el análisis. El primero es la computadora en la cual se realizan los cálculos y el segundo la forma de la señal misma ya que el algoritmo se adapta a la función para evitar analizar todo el espacio posible (véase 4.3).

Sin embargo para dar una idea del tiempo de cómputo y como crece este en función de la cantidad de puntos se realizó el siguiente experimento.

Se creó una señal sin constantes de acoplamiento (dando como resultado la forma de la distribución) con un ancho de pico arbitrario de 1Hz a una resolución arbitraria de 0.01Hz y se realizaron pruebas variando la ventana espectral. Esto da como resultado que se tenga la misma señal cambiando únicamente la cantidad de puntos totales en el sistema y se determinó el tiempo necesario para que se completara el análisis automático.

Debido a que la señal sólo tiene un máximo, el algoritmo es incapaz de optimizar el intervalo de búsqueda y por lo tanto analiza toda la ventana espectral (el peor escenario posible para una señal en cuanto a tiempo de cómputo en el presente método). Este experimento nos aproximará el tiempo máximo que tomará el algoritmo en función a cantidad de puntos en una señal.

Este experimento es válido ya que el mayor tiempo de computo se invierte en la determinación de las gráficas de las integrales absolutas de la deconvolución y que el análisis individual de los mínimos es un paso comparativamente despreciable ya que por lo general son muy pocos los mínimos a analizar (un caso excepcional sería una señal con un valor de señal ruido muy pequeño).

La computadora en la cual se llevó a cabo el experimento tiene las siguientes características. Procesador AMD Phenom II X6 1060T (Seis núcleos a 3.2Hz), 4 Gigabytes en RAM DDR3 a 1200Hz, Tarjeta (GPU) Ati Radeon 4870HD con 512RAM y Sistema Operativo Windows 7 Professional.

Los resultados son los siguientes.

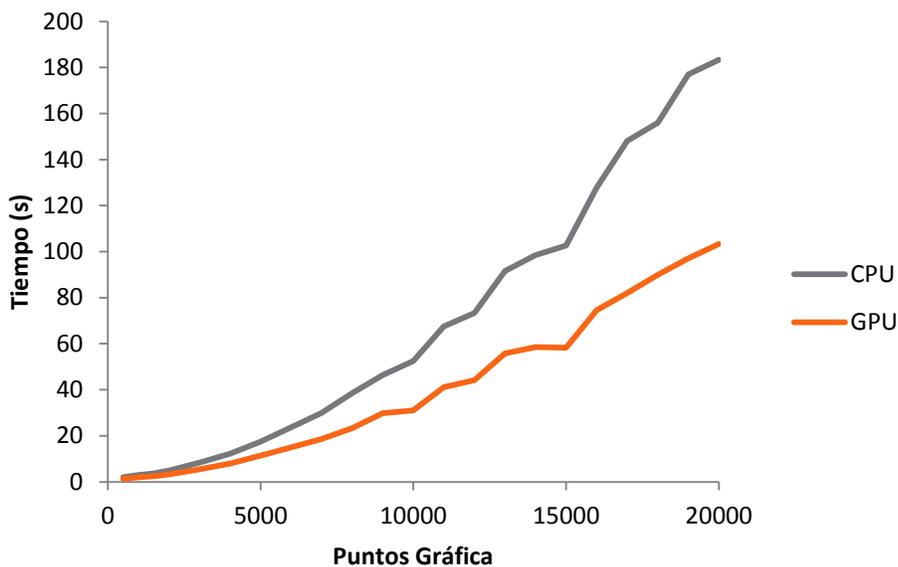


Figura 5-41: Tiempo de cómputo en función de la cantidad de puntos

Como datos adicionales, ninguna señal dentro del estudio de la estricnina y el norborneno presentó más de 10000 puntos y el cálculo de ninguna señal superó el minuto.

6 Conclusiones

- Para las señales que tengan una forma cercana a la ideal este método es capaz de determinar de acoplamiento de forma rápida y eficaz.
- Las limitaciones del método son las siguientes
 - Señales que se encuentren muy deformadas por el entorno y reduzcan su simetría no pueden ser analizadas por el presente método. Si la falta de simetría se debe a un cambio en la altura de los picos, funciones de corrección de la base pueden permitir la determinación de las constantes de acoplamiento.
 - Para constantes de acoplamiento con magnitud cercana o menor al ancho de pico de la señal es recomendable hacer una revisión manual de los valores obtenidos, ya que existe la posibilidad de que se formen falsos positivos o existan valores que mejor corresponden a una constante de acoplamiento.
- Recomendaciones en el uso del algoritmo
 - Para señales con deformaciones grandes es posible que el algoritmo detecte el mínimo en el cual se encuentra la constante de acoplamiento sin embargo este sea rechazado. Una revisión manual solucionará el problema.
- Las posibles mejoras a realizar dentro del algoritmo sería mejorar la forma en la que se buscan los mínimos de las constantes de acoplamiento y la forma de reconocimiento de las constantes de acoplamiento.

7 Bibliografía

CONSTANTINO CASTILLO, Victor Uriel. 2003. *Automatización del método modificado de duplicación de J en el dominio de las frecuencias para experimentos de RMN*. Distrito Federal: Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM.

CONSTANTINO CASTILLO, Victor Uriel. 2005. *Generalización del método modificado de duplicación de J en el dominio de las frecuencias*. Distrito Federal: Tesis de maestría, Facultad de Química, UNAM.

CRAIG, Douglas A. and Gary E. MARTIN. 1986. Proton Double Quantum and Relayed Proton Double Quantum Coherence Two-Dimensional NMR Mapping of Proton-Proton Connectivity Networks in Natural Products: a Model Study of Strychnine. *Journal of Natural Products*. **49**(3), pp.456-465.

DEL RÍO PORTILLA, José Federíco. 1995. *Métodos Generales para la determinación precisa de constantes de acoplamiento de RMN*. Distrito Federal: Tesis de Doctorado, Facultad de Química, UNAM.

DEL RÍO, Federico, M. MARTIN - PASTOR, and Cobas CONSTANTINO. 2005. A two-stage approach to automatic determination of ^1H NMR coupling constants. *Magnetic Resonance in Chemistry*., pp.34-40.

DEROME, Andrew E. 1987. *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*. Oxford: Pergamon Press plc.

FREEMAN, Ray. 1997. *Spin Choreography*. Oxford: Spektrum Academic Publishers.

GARZA-GARCIA, Acely, Gioconda PONZANELLI-VELÁZQUEZ, and Federico DEL RÍO PORTILLA. 2001. Deconvolution and Measurement of Spin-Spin Splittings by Modified J Doubling in the Frequency Domain. *Journal of Magnetic Resonance*., pp.214-219.

HUBER, Peter and Geoffrey BODENHAUSEN. 1993. Simplification of Multiplets by Deconvolution in One- And Two-dimensional NMR Spectra. *Journal of Magnetic Resonance*. **Series A**(102), pp.81-89.

KARPLUS, Martin. 1959. Interpretation of the Electron-Spin Resonance Spectrum of the Methyl Radical.

LEVITT, Malcom H. 2001. *Spin Dynamics Basics of Nuclear Magnetic Resonance*. Nueva York: John Wiley & Sons.

PONZANELLI VELÁZQUEZ, Gioconda. 2000. *Estudio del Método de duplicación de J en el dominio de las frecuencias para la determinación de constantes de acoplamiento en RMN*. Distrito Federal.

SANCHES MENDOZA, Ernesto. 2004. *Implementación de un nuevo método para la medición de constantes de acoplamiento iguales en multipletes de primer orden*. Distrito Federal: Tesis para maestro en ciencias, Facultad de Química, UNAM.

8 Apéndices

8.1 Determinación de las constantes de acoplamiento empleando Blue Katze

El programa de Blue Katze es el programa desarrollado para la prueba e implementación del método explicado en la presente tesis. Es un programa que cuenta con una interfaz gráfica y está desarrollado para funcionar en el entorno de Windows a partir de su Versión XP.

La filosofía del programa es que cada espectro (proyecto) puede contener una serie de señales (trabajos) de las cuales se quieren sus respectivas constantes de acoplamiento.

El requisito para el empleo del programa es tener el espectro a estudiar guardado en un documento de texto con terminación “.txt” donde las coordenadas “X” y “Y” se encuentren separadas por una tabulación.

A continuación se describe la operación del mismo para la versión empleada dentro de la tesis.

El primer paso es asignar el espectro al proyecto actual (Menú->Proyecto->Propiedades) con las características previamente mencionadas. Una vez que se ha cargado en el proyecto, el espectro será visible en su respectiva ventana y se activara la sección de trabajos.

Dentro de la sección de “Trabajos” es posible ver los trabajos previamente creados o crear uno nuevo. Al crear o seleccionar un trabajo se pueden editar las propiedades (en la sección de “Propiedades del Trabajo”) como el nombre y el intervalo de trabajo (ventana espectral). El intervalo de trabajo puede ser asignado ya sea editando directamente el intervalo de trabajo en las casillas correspondientes o mediante la selección dentro de la ventana que contiene el espectro, haciendo la selección y posteriormente dando click en “Márgenes actuales”.

Finalmente es para determinar sus constantes de acoplamiento se puede hacer sobre cada trabajo dando seleccionando dentro de la sección de “Resultados de Trabajo” en automático o para realizar todos los trabajos de forma automática y consecutiva dando en Herramientas->Realizar todos los trabajos.

Dentro de “Resultados del trabajo” en la ventanilla de Js aparecerán los resultados más probables de las constantes de acoplamiento según los criterios fijados en el programa. Para un estudio más detallado de los resultados es posible ver el “output” del procedimiento en la carpeta que se asigne dentro de Herramientas->Propiedades o estudiar cómo se comportan los espectro ante las distintas Js escogiendo el trabajo y dando click en manual. Esto abrirá una ventana donde es posible hacer muchas

pruebas directamente sobre las señales y ver los resultados de los diferentes pasos dentro del procedimiento.