



Quantitative NMR spectroscopy applied to the study of hyperpolarized ^{13}C metabolism and salt-matrix interactions in food

Nour El Sabbagh

► To cite this version:

Nour El Sabbagh. Quantitative NMR spectroscopy applied to the study of hyperpolarized ^{13}C metabolism and salt-matrix interactions in food. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Clermont Auvergne (UCA), 2022. Français. NNT: . tel-03757684

HAL Id: tel-03757684

<https://hal.inrae.fr/tel-03757684>

Submitted on 22 Aug 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse

Présentée par

Nour EL SABBAGH

Pour obtenir le titre de

Docteur de l'Université Clermont Auvergne

Spécialité : Traitement du signal

Spectroscopie RMN quantitative appliquée à l'étude du métabolisme en ^{13}C hyperpolarisé et aux interactions sel-matrice dans les aliments

Thèse dirigée par Pr. Franck DURIF et Dr. Jean-Marie BONNY

soutenue le 6 janvier 2022

Composition du jury :

DELORT Anne-Marie, Directrice de recherche, Université Clermont Auvergne	Examinatrice
DURIF Franck, Professeur, Université Clermont Auvergne	Directeur
GAMBAROTA Giulio, Professeur, Université de Rennes 1	Rapporteur
PAGES Guilhem, Ingénieur de recherche, INRAE	Encadrant
RABRAIT-LERMAN Cécile, Ingénieure chercheuse, CEA NeuroSpin	Examinatrice
RONDEAU-MOURO Corinne, Ingénieure de recherche, INRAE	Rapporteuse

Thèse préparée au sein de l'Institut Pascal, Université Clermont Auvergne, CHU, CNRS, Clermont Auvergne INP ; et de l'ISC AgroResonance, Infrastructure de recherche PROBE, UR QuaPA, INRAE de Saint-Genès-Champanelle.

A toute ma Famille,

A mes Parents,

A mes Amies,

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier chaleureusement les nombreuses personnes qui ont contribué à rendre mes trois années de thèse instructives, tant sur le plan scientifique qu'humain.

Tout d'abord, je remercie vivement Mme Corinne RONDEAU-MOURO et M. Giulio GAMBAROTA d'avoir accepté d'être les rapporteurs scientifiques de ce travail et de l'avoir évalué. Je remercie également Mme Anne-Marie DELORT et Mme Cécile RABRAIT-LERMAN pour leur participation au jury de soutenance de thèse.

Je remercie mes directeurs de thèse, Pr. Franck DURIF et Dr. Jean-Marie BONNY, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse au sein de leur équipe, et pour m'avoir guidée et conseillée tout au long de ces années jusqu'au rendu final.

Je remercie également mes encadrants de thèse, Carine CHASSAIN et Guilhem PAGES, et de stage précédent celle-ci, Hélène RATINEY, les personnes qui m'ont appris le savoir-faire et les bonnes habitudes en matière de recherche, la gestion de projet et le travail en équipe.

Mes charmantes collègues, doctorantes et post doctorante de l'équipe, sans qui l'ambiance et la bonne humeur ne serait pas au rendez-vous. A elles, ainsi qu'à toute l'équipe AgroResonance, je dois un immense merci.

Merci pour la confiance, le temps, les efforts et les soins. Merci de m'avoir donné la chance de lancer mon potentiel afin d'être bien meilleure en tant qu'individu. La graine que cette équipe a plantée en moi va grandir et évoluer, afin de toujours donner du travail acharné.

Ces trois années de thèse, de travail et d'efforts, je les dédie à ma famille et mes amis.

A mon père, Youssef, qui était et sera toujours ma source de force et de confiance. La personne qui m'a appris à me lancer dans les défis et de ne pas avoir peur de franchir les frontières. La personne qui m'a toujours rassurée d'être là pour moi, là pour me faire avancer et mieux me constituer. C'est lui qui me connaît le mieux, qui comprend ma personnalité et ce que je veux. C'est à lui que j'adresse mes remerciements les plus profonds, et c'est lui pour qui je serai toujours reconnaissante pour l'amour, l'effort et l'espoir qu'il m'avait offert.

A ma mère, Amira, ma source de sérénité et de fraîcheur. C'est vers elle que j'allais quand j'étais au milieu des difficultés et des obstacles. Etant paisible, d'elle j'essaye d'apprendre la maîtrise de soi, et élargir le regard pour mieux gérer les obstacles. C'est grâce à elle que je suis là où je suis aujourd'hui.

Mon aventure dans la recherche n'est bien sûr pas terminée, ni les réconforts et les leçons de ma mère, dont j'aurais toujours besoin.

A mes frères Ahmad et Ali, à ma sœur Sara et son petit chéri Abbas, mes meilleurs fans. Ceux sont les personnes qui m'ont encouragée à me lancer vers le monde, ils ont soutenu mes plus grandes décisions, ils étaient là pour moi, là pour me donner le sourire et me voir grandir. Sans eux, ma vie n'aurait pas le goût que je ressens quand je les vois autour de moi, eux qui ne cessent de me prouver le sens de la fraternité, de l'amour que l'on se porte.

A Hoda, qui m'est une seconde mère, vers qui je me suis tournée dans mes moments de doute quant à mes pensées et mes objectifs. L'avoir à mes côtés pendant ces trois années les a certainement rendues plus significatives. Elle m'a aidée à transformer ma peur et mes doutes en confiance en moi pour me lancer dans les expériences et en tirer des leçons. Elle m'a appris à croire en mes missions personnels et professionnels, et le long chemin que je suis en train de parcourir pour accomplir ce que je désire.

Je dédie ainsi ces trois années à mes meilleures amies d'enfance, Hanine, Safaa et ses petits chéris Ali et Nour. Sœurs plus qu'amies, avec qui j'ai passé mon enfance et mon adolescence. Notre amitié s'est poursuivie jusqu'à aujourd'hui, et j'espère qu'elle sera toujours aussi vivante et chaleureuse qu'elle l'est maintenant. Les distances qui nous séparent n'ont jamais été un obstacle à notre amitié, elles nous ont plutôt poussées à chérir les moments passés ensemble et à veiller l'une sur l'autre en lui souhaitant le meilleur du monde.

A mes chers amis de l'université, Sahar, Ahmad, Moustapha et bien d'autres. Nous sommes venus ensemble en France pour des études, et nous nous sommes lancés dans la recherche. Et nous voici, après plusieurs années, des doctorants et des futurs doctorants. Cette expérience avec vous m'est chère, elle a certainement changé nos vies. Cette expérience, je la garderai gravée dans mes souvenirs, en espérant beaucoup d'autres à venir.

A la France, qui m'avait ouvert ses portes pour poursuivre mes études supérieures.

Et au Liban, le merveilleux pays dont je suis origine.

En fin, bien que je sois au départ pour de nouvelles aventures ailleurs, je tiens à dire que les trois années au sein de l'équipe AgroResonance seront toujours scénarisées dans mon esprit et dans mon cœur. C'était le genre d'équipe qu'on appelle une famille, et malgré toutes nos différences, nous en étions vraiment une. Une famille à qui je ne dirais pas adieu, mais je dirais au revoir.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	7
ABREVIATIONS ET ACRONYMES	9
LISTE DES FIGURES	13
LISTE DES TABLEAUX	15
RESUME	17
INTRODUCTION GENERALE	19
CHAPITRE I – ETAT DE L’ART : IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE PAR RESONANCE MAGNETIQUE	25
1. INTRODUCTION.....	27
2. QUELQUES PRINCIPES DE RMN	28
3. HYPERPOLARISATION	32
4. RMN DU ^{13}C HYPERPOLARISE CHEZ UN MODELE MURIN DE LA MALADIE DE PARKINSON.....	33
5. METHODES D’ACQUISITION POUR L’IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE.....	36
a. <i>Méthode d’acquisition sans a priori</i>	36
b. <i>Méthode d’acquisition fondée sur un modèle spectral</i>	38
c. <i>Méthode d’acquisition spécifique aux métabolites</i>	40
6. ISRM RAPIDE APPLIQUEE AUX METABOLITES HYPERPOLARISES	44
CHAPITRE II – ETAT DE L’ART : RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE DU ^{23}Na	47
1. INTRODUCTION.....	49
2. THEORIE DE LA RMN DU ^{23}Na	50
3. IMAGERIE DU ^{23}Na	52
4. ANALYSE DES INTERACTIONS DU ^{23}Na DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES	56
CHAPITRE III – DEVELOPPEMENT DE L’IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE RAPIDE IDEAL 2D EN ^{13}C NON- CARTESIENNE	59
1. INTRODUCTION.....	61
2. MAITRISE DE LA TRAJECTOIRE EN ^{13}C	61
3. IMPLEMENTATION DE L’IDEAL	67
a. <i>A la recherche du temps perdu</i>	67
b. <i>Au suivi de l’accumulation des erreurs de phase (article)</i>	69
4. PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET RESULTATS	76

<i>a. Optimisation des paramètres.....</i>	<i>76</i>
<i>b. Acquisition des données.....</i>	<i>77</i>
<i>c. Reconstruction des données acquises</i>	<i>78</i>
5. DISCUSSION	78
CHAPITRE IV – INTERACTIONS SEL/MATRICE DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES	81
1. INTRODUCTION.....	83
2. ETATS DE LIAISON DU SEL DANS LES MATRICES ALIMENTAIRES (ARTICLE)	84
3. DISCUSSION	99
CONCLUSION GENERALE	100
ANNEXE.....	100
REFERENCES	100

ABREVIATIONS ET ACRONYMES

α -KG	α -cétoglutarate
ΔF	Différence en fréquence entre deux métabolites
ΔTE	Incrément du temps d'écho
β	Angle de bascule (FA)
γ	Rapport gyromagnétique en MHz.T ⁻¹ ($\gamma = \gamma/2\pi$)
γ	Rapport gyromagnétique en rad.MHz.T ⁻¹
γ_{1H}	Rapport gyromagnétique du ¹ H
γ_x	Rapport gyromagnétique du noyau X
δ	Déplacement chimique
δ_i	Déplacement chimique d'un noyau i
ε	Facteur d'amélioration de la polarisation
ζ	Espace-k individuel
θ	Fonction temporelle de l'angle instantané de l'encodage spiralé
λ	Rapport entre le nombre d'entrelacement et le champ de vue ($\lambda = M/(2\pi FOV)$)
μ	Moment magnétique
ρ	Distribution spatiale d'un groupe de spins résonnant à une même fréquence
σ_i	Constante d'écran d'un noyau i
σ_{ref}	Constante d'écran de la molécule de référence
ν_0	Fréquence de Larmor du noyau d'intérêt
ν_{B_0}	Cartographie du champ B ₀ reconstruite en ¹ H
ν_i	Fréquence de Larmor d'un noyau i
ν_Q	Fréquence angulaire de couplage quadripolaire dû à l'effet du GCE
ν_q	Fréquence de résonance d'un métabolite q
ν_{ref}	Fréquence de Larmor de la molécule de référence
ϕ	Phase de bascule
$\dagger$	Pseudo-inverse de Moore-Penrose
¹²⁹ Xe	Xénon
¹³ C	Carbone-13 isotope du Carbone-12
¹⁹ F	Fluor
¹ H	Hydrogène
²³ Na	Sodium
³¹ P	Phosphore
B ₀	Champ magnétique statique
B ₁	Champ magnétique perturbateur
B _i	Champ magnétique local
CPMG	Carr-Purcell-Meiboom-Gill Expérience RMN de dispersion de relaxation
CS	Déplacement chimique
CSI	Chemical shift imaging
dDNP	Polarisation dynamique nucléaire par dissolution
DQ	Double quanta
<i>E</i>	Différence entre deux états d'énergie quantique
EPI	Echo planar imaging
EPSI	Echo planar spectroscopic imaging
EQM	Erreur quadratique moyenne
EqTh	Equilibre thermique
<i>F</i> ₀	Fréquence limite des gradients d'encodage (Hz)
FA	Angle de bascule (flip angle)
FFT	Transformée de Fourier rapide

FID	Free induction decay
$F_{\max}$	Fréquence maximale utilisée des gradients d'encodage
FOV	Champ de vue (mm)
g	Facteur de Landé
$\mathbf{G}$	Gradient d'encodage
G_0	Amplitude limite des gradients (mT.m^{-1})
GCE	Gradients du champ électrique
Gln	Glutamine
Glu	Glutamate
h	Constante de Planck
$\hbar$	Constante de Planck réduite ($\hbar = h/2\pi$)
H	Transposée hermitienne
H_2O	Eau
HP	Hyperpolarisation
Hz	Hertz
IDEAL	Iterative decomposition with echo asymmetry and least-squares estimation
IRM	Imagerie par résonance magnétique
ISC	Infrastructure scientifique collective
ISRM	Imagerie spectroscopique par résonance magnétique
J	Joules
K	Kelvin
$\mathbf{k}$	Trajectoire d'encodage
k_B	Constante de Boltzmann
$k_{\max}$	Taille de la trajectoire spirale dans l'espace-k
$k_x^{\text{ms}}, k_y^{\text{ms}}$	Coordonnées de l'encodage dans l'espace-k de la trajectoire mesurée
$k_x^{\text{th}}, k_y^{\text{th}}$	Coordonnées de l'encodage dans l'espace-k de la trajectoire théorique
M	Nombre d'entrelacements (interleaves en anglais)
M_0	Aimantation macroscopique totale
$M_{0,\text{HP}}$	Aimantation macroscopique HP initiale
min	Minute
MP	Maladie de Parkinson
MPTP	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
MQ	Multi-quanta
M_{xy}	Aimantation macroscopique transversale
M_z	Aimantation macroscopique longitudinale
N	Dimension de la matrice image
N^-	Population de spin dans l'état d'énergie supérieur ($-\frac{1}{2}$)
N^+	Population de spin dans l'état d'énergie inférieur ($+\frac{1}{2}$)
$\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$	Pompe sodium-potassium
N_p	Nombre de points de la trajectoire spirale
NSA	Number of signal averages
N_T	Nombre de tours de la trajectoire spirale
N_{TE}	Nombre de temps d'écho
nuFFT	Transformée de Fourier rapide non uniforme
OMS	Organisation mondiale de la santé
P	Niveau de polarisation
P_{EqTh}	Niveau de polarisation à d'équilibre thermique
pH	Potentiel hydrogène
PHIP	Polarisation induite par parahydrogène
P_{HP}	Niveau de polarisation amplifié via le processus d'hyperpolarisation
ppm	Partie par million
rad	Radian
RF	Radiofréquence
RMN	Résonance magnétique nucléaire
s	Seconde

S	Spin nucléaire
S_0	Vitesse limite de la montée des gradients ($T.m^{-1}.s^{-1}$)
SABRE	Amplification du signal par échange réversible
SBW	Bande passante spectrale
SEOP	Pompage optique à échange de spin
S_n	Signal RMN acquis au $n^{ième}$ écho
SNc	Substance noire pars compacta du cerveau
SNR	Rapport signal sur bruit
SPSP	Encodage spectral-spatial
SQ	Simple quanta
SRM	Spectroscopie par résonance magnétique
SSS	Single shot spiral
T	Température
T	Tesla
T_1	Relaxation longitudinale
T_2	Relaxation transversale
T_2^*	Relaxation transversale réelle
TE	Temps d'écho
TF	Transformée de Fourier
$T_{i,j}$	Tenseur de rang i et d'ordre j
TQ	Triple quanta
TR	Temps de répétition

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : (A) LA PARTIE REELLE D'UN SIGNAL OSCILLANT D'UNE FREQUENCE $F1=2000\text{Hz}$ ET AYANT UNE AMPLITUDE DE 5, ET LA VALEUR ABSOLUE DE SA TRANSFORMEE DE FOURIER. (B) SIGNAL OSCILLANT COMPOSE DE DEUX FREQUENCES $F1 = 2000\text{ Hz}$ ET $F2 = 3500\text{ Hz}$, D'AMPLITUDES EGALES A 5 ET 10, RESPECTIVEMENT, ET LA TRANSFORMEE DE FOURIER CORRESPONDANTE. ...	30
FIGURE 2 : DETECTION DU $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMATE ET DE SON METABOLITE IN VIVO DANS LE CERVEAU DU RAT APRES RUPTURE TEMPORAIRE DE LA BHE. (A) REPARTITION DU $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMATE HYPERPOLARISE AU COURS DU TEMPS APRES PERFUSION DE MANNITOL 25%. 7S APRES LE DEBUT DE L'INJECTION DU BOLUS DE SOLUTION HYPERPOLARISEE, LE SIGNAL DU $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMATE APPARAÎT D'ABORD AU NIVEAU DE LA CAROTIDE (CA), PUIS DANS LE CERVEAU (B) ET FINALEMENT AU NIVEAU DE LA ZONE DE LA VEINE SAGITTALE (SV). (B) REPRESENTATION DES 12 PREMIERS SPECTRES ACQUIS DES LA 7IEME SECONDE APRES LE BOLUS DE $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMATE HYPERPOLARISE AU NIVEAU D'UNE COUPE RECOUVRANT LE CERVEAU DU RAT ($TR = 1\text{ s}$; $\text{FLIP ANGLE} = 15^\circ$). (C) SOMME DES 10 PREMIERS SPECTRES. LA RESONANCE MESUREE A 175.4 PPM EST CELLE DU $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMATE HYPERPOLARISE, ET LE PIC A 174.9 PPM SEMBLE CORRESPONDRE AU SIGNAL DE $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMINE HYPERPOLARISEE. (D) LES AMPLITUDES DES SIGNAUX DES MOLECULES HYPERPOLARISEES SONT MESUREES SUR CHAQUE SPECTRE, EXPRIMEES EN UNITE ARBITRAIRE ET L'EVOLUTION DE CES AMPLITUDES AU COURS DU TEMPS EST REPRESENTEE. APRES RUPTURE DE LA BHE ET 7 S APRES SON INJECTION, LE SIGNAL DU $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMATE EST EN PHASE DE DECROISSANCE, LA $[1-^{13}\text{C}]$ GLUTAMINE EST DETECTEE DES LA 8IEME SECONDE ET L'INTENSITE DU SIGNAL ATTEINT UN MAXIMUM 9 S APRES L'INJECTION DU BOLUS. LES COURBES REPRESENTENT LES AMPLITUDES MOYENNES MESUREES CHEZ 3 RATS. LES BARRES D'ERREURS REPRESENTENT LA SOMME DES ECARTS A LA MOYENNE (SEM). IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (MAZUEL ET AL. 2017) [40].	35
FIGURE 3 : (A) DIFFERENTES TRAJECTOIRES DANS L'ESPACE-K POUR L'IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE RAPIDE AVEC UN GRADIENT DE CODAGE CARTESIEN, SPIRALE ET ANNEAUX CONCENTRIQUES. (B) CARACTERISTIQUES D'ENCODAGE DE CES TRAJECTOIRES EN FONCTION DE LA RESOLUTION SPATIALE : LE TEMPS D'ACQUISITION; L'EFFICACITE DU SNR ; LA SBW SANS ET AVEC DES ENTRELACEMENTS SPECTRAUX. EN SUPPOSANT DES GRADIENTS TYPIQUES DU SYSTEME D'IRM CLINIQUE AVEC UNE AMPLITUDE MAXIMALE DE $40\text{ mT}\cdot\text{m}^{-1}$ ET UNE VITESSE DE BALAYAGE MAXIMALE DE $150\text{ mT}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{ms}^{-1}$. IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (JIANG ET AL. 2016) [115].	37
FIGURE 4 : SEQUENCE D'IMPULSIONS DE L'IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE RAPIDE BASEE SUR UN MODELE EN SPIRALE POUR L'ENCODAGE SPATIAL : DES IMPULSIONS RF SONT APPLIQUEES SUIVIES D'UNE LONGUE ACQUISITION POUR L'ENCODAGE SPATIAL DE L'ESPACE-K EN ENTIER. UN INCREMENT DE TEMPS D'ECHO SUPPLEMENTAIRE EST APPLIQUE POUR CHAQUE SHOT POUR L'ENCODAGE SPECTRAL. CE SCHEMA PEUT ETRE ADAPTE POUR N IMPULSIONS.	38
FIGURE 5 : SPECTRE RMN ^{13}C OBTENU DANS LE CŒUR D'UN RAT APRES L'INJECTION DU $[1-^{13}\text{C}]$ PYRUVATE ENREGISTRE A $T = 10\text{ s}$. LE PYRUVATE (ET SON PRODUIT D'EQUILIBRE, LE PYRUVATE HYDRATE) ET SES PRODUITS METABOLIQUES : LE LACTATE, L'ALANINE ET LE BICARBONATE, SONT ANNOTES. IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (ATHERTON, DODD ET AL. 2011) [2].	39
FIGURE 6 : DIAGRAMME DE LA SEQUENCE D'IMPULSIONS EPI SYMETRIQUE UTILISEE DANS LA REFERENCE (GORDON ET AL. 2017). LA SEQUENCE CONSISTE EN UNE EXCITATION RF SPSP A UNE SEULE BANDE, SUIVIE D'UNE LECTURE EPI SYMETRIQUE. IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (GORDON ET AL. 2017) [134].	41

FIGURE 7 : IMAGES DYNAMIQUES DU METABOLISME RENAL ACQUISES PAR LA METHODE SPSP DECRITE DANS LA FIGURE 6 APRES INJECTION DE PYRUVATE HYPERPOLARISE. CHAQUE IMAGE N'A NECESSITE QU'UNE EXCITATION. LES IMAGES DU PYRUVATE ET DU LACTATE ONT ETE ACQUISES ALTERNATIVEMENT. IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (GORDON ET AL. 2017) [134].	42
FIGURE 8 : IMPULSION D'EXCITATION MULTI-BANDE AVEC UN GRADIENT FLYBACK ET UNE EPAISSEUR DE TRANCHE DE 15 MM. (A) IMPULSION RF - COMPOSANTES REELLES (SOLIDES) ET IMAGINAIRES (EN POINTILLES) - ET GRADIENT QUI L'ACCOMPAGNE. (B) PROFIL SPECTRAL, AVEC DES BANDES SPECIFIEES (LIGNES POINTILLEES) D'ANGLE DE BASCULE DE 1° POUR LE PYRUVATE (PYR), DE 10° POUR L'ALANINE (ALA), DE 4° POUR LE PYRUVATE-HYDRATE (PYR-H ₂ O) ET DE 10° POUR LE LACTATE (LAC). (C) PROFIL SPECTRAL ET SPATIAL. IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (LARSON ET AL. 2008) [135].	43
FIGURE 9 : GRAPHIQUE DES TRAITS PRINCIPAUX DES DIFFERENTES METHODES D'IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE.	45
FIGURE 10 : DIAGRAMMES DE NIVEAUX D'ENERGIE POUR LES SYSTEMES ISOLEES DE SPIN 3/2 DECRIVANT LES QUATRE SITUATIONS POSSIBLES (A, B, C ET D). IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (ROONEY ET AL. 1991) [165].	51
FIGURE 11 : IMAGE QUALITATIVE EN IRM DU ²³ Na A 3T DU CORPS ENTIER D'UN VOLONTAIRE HUMAIN EN VUES (GAUCHE) SAGITTALE ET (DROITE) CORONALE. IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (WETTERLING ET AL. 2012) [152].	53
FIGURE 12 : IMAGES DE RESONANCE MAGNETIQUE DU SODIUM (²³ Na) ET DU PROTON (¹ H) DE LA MEME TRANCHE TRANSVERSALE DE MORCEAUX DE FILET DE SAUMON DE L'ATLANTIQUE SALES SUR LA FACE INFERIEURE. LES POISSONS ONT ETE EUTHANASIES SOIT PAR EPUISEMENT, SOIT APRES ANESTHESIE. LES SOLUTIONS DE REFERENCE (2%, 4% ET 6% DE NaCl) (SECTIONS DE TUBES DE 10MM) APPARAISSENT DANS LA PARTIE INFERIEURE DE CHAQUE IMAGE. LES ZONES PLUS CLAIRES SUR LES IMAGES IRM ¹ H CORRESPONDENT AUX ZONES RICHES EN GRAISSE. LES EPAISSEURS DE COUPE D'IMAGES ETAIENT DE 2MM POUR LES IMAGES (A) ET (B) ET DE 10MM POUR LES IMAGES (C)–(F). IMAGE REPRODUITE A PARTIR DE (AURSAND, ET AL. 2010) [168].	55
FIGURE 13 : (A-B) INTENSITES DES GRADIENTS ET (C-D) TRAJECTOIRES SPIRALES CORRESPONDANTES. LES TRACES REPRESENTENT (A, C) L'EVOLUTION DES PARAMETRES DANS LES DIMENSIONS X ET Y TANDIS QUE (B, D) L'EVOLUTION DES PARAMETRES AU COURS DU TEMPS AVEC EN ROUGE LES TRACES CORRESPONDANT A X ET EN BLEU CEUX A Y. LA LIGNE EN POINTILLEE NOIRE REPRESENT LE TEMPS AUQUEL UNE CASSURE EST OBSERVEE DANS L'EVOLUTION DES PARAMETRES.	63
FIGURE 14 : LES GRADIENTS (1 ^{ERE} LIGNE) ET LES TRAJECTOIRES SPIRALES THEORIQUES (2 ^{EME} LIGNE) ET MESUREES (3 ^{EME} LIGNE) CORRESPONDANTS AUX DIFFERENTES FREQUENCES MAXIMALES DES GRADIENTS F _{MAX} .	65
FIGURE 15 : TRANSFORMEE DE FOURIER DES TRAJECTOIRES SPIRALES THEORIQUE (BLEUE) ET MESUREE (ROUGE) EN ¹ H POUR UNE FREQUENCE MAXIMALE DES GRADIENTS DE 4000Hz, AINSI QUE LEURS ERREURS RELATIVES.	66
FIGURE 16 : RECONSTRUCTION DES CARTES METABOLIQUES EN ¹³ C POUR LE LACTATE, L'ALANINE, L'ACIDE PYRUVIQUE ET L'UREE MARQUES AU ¹³ C ET POUR UNE FREQUENCE MAXIMALE DES GRADIENTS SOIT DE 1000 SOIT DE 4000 Hz.	66
FIGURE 17 : DELAIS PERDUS ENTRE LES DIFFERENTS MODES D'ACQUISITION IMAGERIE (BLOCS BLEUS) ET SPECTROSCOPIE (BLOC BLANC). LES EXPERIENCES S'ENCHAINENT DE LA MANIERE SUIVANTE : UNE ACQUISITION IDEAL SPIRAL REPETEE X FOIS (X*N IMAGES) ET SUIVIE D'UN SPECTRE RMN EN ¹³ C PUIS D'AUTRES ACQUISITIONS IDEAL SPIRAL. UN DELAI DE 5 SECONDES APPARAIT AU DEBUT DE CHAQUE EXPERIENCE, ET UN DE 3 SECONDES A LA FIN.	68
FIGURE 18 : SCHEMA D'IMAGERIE ET DE SPECTROSCOPIE DANS UNE SEQUENCE UNIQUE, OU UNE FID EST ENREGISTREE EN ABSENCE DES GRADIENTS D'ENCODAGE.	69
FIGURE 19 : NSA POUR 7 TE CALCULE POUR QUATRE FREQUENCES DE RESONANCE. L'INCREMENT OPTIMAL DU TE EST DE 0.85 MS.	77
FIGURE 20 : FENETRE DE CONFIGURATION DE LA SEQUENCE D'IMAGERIE METABOLIQUE RAPIDE OPTIMISEE.	77

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 QUELQUES CARACTERISTIQUES DE DIFFERENTS NOYAUX/ISOTOPES.	31
TABLEAU 2 TAUX DE POLARISATION EN PARTIE PAR MILLION DU ^1H ET DU ^{13}C POUR DEUX VALEURS DE CHAMP MAGNETIQUE EXTERNE.	32
TABLEAU 3 PARAMETRES DES GRADIENTS AINSI QUE DE LA TRAJECTOIRE SPIRALE GENEREE EN ^1H POUR DIFFERENTES FREQUENCES MAXIMALES.	63
TABLEAU 4 ERREURS QUADRATIQUES MOYENNES ENTRE LES TRAJECTOIRES THEORIQUES ET MESUREES EN ^1H POUR DIFFERENTES FREQUENCES MAXIMALES.	64

RESUME

L'imagerie spectroscopique par résonance magnétique des noyaux X, tel que le ^{13}C , offre des spectres plus simples qu'en ^1H . De surcroît, ce noyau est notamment très utile pour l'étude du métabolisme pathologique, par exemple celui de la maladie de Parkinson. L'inconvénient principal est une sensibilité qui empêche toute application *in vivo* en RMN conventionnelle. L'hyperpolarisation est une solution potentielle à cette limite car elle permet d'augmenter le niveau de polarisation du ^{13}C d'un facteur de 10000 environ, mais qui décroît rapidement durant les expériences. Afin de pouvoir profiter de signal amplifié momentanément, une méthode d'imagerie spectroscopique rapide a été développée qui s'applique aux précurseurs ^{13}C hyperpolarisés, mais aussi à d'autres noyaux donnant lieu à des spectres clairsemés. En particulier, cette méthode peut être appliquée à l'imagerie quantitative du ^{23}Na ayant un spectre simple et des temps de relaxation T_2 très courts. Ce noyau quadripolaire est très sensible à son environnement. Cette sensibilité peut se manifester sous forme de plusieurs compartiments, chacun d'eux pouvant générer des cohérences à simple ou multiples quanta. Cette compartimentation est très peu étudiée dans les tissus biologiques et dans les aliments. C'est pourquoi, une étude de la relaxation du ^{23}Na a été menée dans des aliments contrastés en termes de quantité de sel et de matrice. Elle montre que diverses populations de sodium coexistent dans la plupart des matrices: une population de sodium fortement liée à la matrice et une autre plus libre qui se distinguent par l'effet quadripolaire. Ce point observé pour la première fois est important pour la quantification du sel dans les aliments et le déterminisme de la sensation salée.

ABSTRACT

^{13}C magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI) allows studying metabolism flux and characterizing the difference between healthy and diseased conditions like in Parkinson disease. However, ^{13}C nucleus suffers from a lack of sensitivity as both its gyromagnetic ratio and its natural abundance are low. To tackle this issue, it is possible to boost its NMR signal up to 4 order of magnitudes by hyperpolarizing it. Hyperpolarized nuclei are in a transient state which start to relax as soon as the polarization process is stopped. This excited state lasts for few tens of seconds in general. To exploit this boost in NMR signal, it is then critical to have a fast MRSI approach. I implemented and optimized a fast MRSI method which can be applied to hyperpolarized ^{13}C but also to any nuclei having a sparse spectrum like ^{23}Na . This quadrupolar nucleus is highly sensitive to its local environment leading to possible compartmentation. This phenomenon is poorly described in both the clinical and food science

literature. I performed a ^{23}Na relaxation study on contrasted food in term of salt quantity and food structure. I demonstrated that several sodium compartments existed in most of the food: one pool strongly bounded to the food matrix leading to quadrupolar interactions and a second pool for which sodium does not present strong interactions with the food and then no quadrupolar interactions. These observations are critical to both quantify locally the sodium and make a relationship between salt properties (concentration, interaction) and salty taste.

INTRODUCTION GENERALE

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est aujourd'hui une des techniques de choix pour diagnostiquer des pathologies et suivre leur évolution chez des patients. L'IRM est également appliquée en sciences de l'aliment et en agronomie. La plupart du temps, les atomes d'hydrogène (^1H ou son noyau le proton) des molécules d'eau sont imagés car il est abondant dans le vivant et les protons sont les noyaux les plus sensibles en résonance magnétique nucléaire (RMN). Il existe d'autres noyaux d'intérêt, appelés noyaux X, comme par exemple le carbone (^{13}C) et le phosphore (^{31}P) pour des études *in vivo* des flux métaboliques et du métabolisme énergétique respectivement ou le sodium (^{23}Na) pour caractériser, par exemple, les procédés de salaison des aliments. Cependant, la RMN des noyaux X présente une sensibilité plus faible que celle du ^1H conséquence d'un rapport gyromagnétique plus faible et d'une abondance naturelle du noyau X souvent plus faible que pour le ^1H . Pour booster le signal (augmentation jusqu'à 5 ordres de grandeur), il est possible d'hyperpolariser les noyaux, c'est-à-dire de surpeupler artificiellement un des niveaux d'énergie. Cet état hyperpolarisé est instable et disparaît par relaxation longitudinale T_1 . La durée de vie du signal hyperpolarisé est toutefois assez longue pour permettre des études de certains flux métaboliques *in vivo*. Outre la caractérisation du métabolisme de certains cancers, cette approche est intéressante dans la maladie de Parkinson (MP).

La MP est caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacta (SNc). Cette neurodégénérescence induit une diminution de la libération de dopamine au niveau du striatum dorsolatéral et ventral. Ces taux plus faibles de dopamine striatale sont à l'origine dans le cerveau d'un dysfonctionnement des voies cortico-basal ganglia-thalamo-corticales et de l'apparition des principaux symptômes cliniques et moteurs de la MP : rigidité, tremblement de repos et akinésie. Classiquement, son diagnostic repose largement sur l'évaluation de ces symptômes moteurs et malheureusement, ce diagnostic purement clinique est généralement posé à un stade de neurodénervation avancé. En effet, les symptômes moteurs apparaissent lorsque 60% à 80% des neurones dopaminergiques de la SNc ont dégénéré. Dans ce contexte, l'introduction de nouvelles stratégies thérapeutiques pour prévenir la dénervation dopaminergique et l'organisation de la prise en charge de la MP dépendront de la capacité à améliorer le diagnostic, de préférence à un stade précoce, avant l'apparition des signes moteurs. L'identification de biomarqueurs spécifiques et sensibles de la MP est un challenge excitant. De plus, l'exploration du métabolisme cérébral par spectroscopie de résonance magnétique (SRM) du ^1H et du ^{13}C chez des modèles animaux de la MP a apporté des informations supplémentaires sur la physiopathologie de la maladie et a permis, en particulier, de montrer l'implication du métabolisme glutamatergique striatal.

Le but de cette thèse est d'abord de développer l'imagerie spectroscopique rapide du ^{13}C hyperpolarisé sur un animal modèle. L'application visée à terme est de caractériser les vitesses de conversion du glutamate (Glu) en glutamine (Gln) et la différence qui pourrait exister dans ce cycle métabolique entre un sujet sain et un sujet atteint de la MP. C'est pourquoi, j'ai programmé et optimisé une méthode d'imagerie spectroscopique rapide permettant d'obtenir des images de chacun des métabolites

déTECTABLES en ^{13}C dans le cerveau. L'approche est basée sur l'échantillonnage non linéaire dans le domaine temporel et une estimation de l'amplitude des métabolites par l'ajustement d'un modèle connu *a priori* en fréquence (IDEAL). Dans une méthode IDEAL, il est critique de contrôler parfaitement la phase du signal. J'ai pu montrer comment assurer ce contrôle dans différentes conditions expérimentales. Pour l'encodage de l'information spatiale, une trajectoire spiralee a été utilisée comme consigne. Puisqu'il n'était pas envisageable de mesurer la trajectoire réelle en ^{13}C , j'ai caractérisé le canon de gradients comme un système linéaire et adapté ensuite la consigne à ses caractéristiques. Enfin, pour l'utilisation de cette méthode avec des molécules hyperpolarisées, il est critique de ne pas perdre de temps entre les acquisitions. C'est pourquoi, j'ai mis en œuvre une solution originale qui prend en compte les limitations de notre équipement et minimise les temps morts.

Outre le développement de la méthode d'imagerie spectroscopique rapide, il fallait pouvoir hyperpolariser les marqueurs. C'est pourquoi, l'hyperpolariseur HyperSense® d'Oxford Instruments a été déménagé du CHU à AgroResonance au début de ma thèse. A cause de problèmes techniques, cet instrument n'a pas pu être réinstallé. J'ai donc choisi de mettre à profit les développements en imagerie spectroscopique rapide effectués sur une autre thématique. D'une manière générale, cette approche peut être mise en œuvre dès que le spectre RMN est clairsemé ('sparse' en anglais). Ceci est le cas pour la majorité des noyaux X, dont le ^{23}Na . Ce noyau est certes un biomarqueur dont l'intérêt est croissant pour les applications *in vivo* mais il est particulièrement intéressant pour étudier le salage et la sensation salée dans les aliments, qui est une des thématiques de recherche de mon équipe d'accueil AgroResonance. De plus, l'application de la méthode d'imagerie spectroscopique rapide, fondée sur une trajectoire spiralee partant du centre du plan de Fourier, peut être avantageuse pour l'étude des noyaux ayant des temps de relaxation T_2 courts, ce qui est le cas du ^{23}Na . J'ai donc réorienté mes travaux vers l'IRM du ^{23}Na pour caractériser les aliments.

Le sodium est principalement présent dans les aliments par l'ajout de sel. Les principaux intérêts à cet ajout résident dans la conservation du produit et dans l'amélioration de ses propriétés organoleptiques. Pour autant, la consommation de sel par la population est trop élevée. L'enjeu est alors de diminuer la quantité de sel tout en préservant la perception du goût salé. L'intensité de la perception du goût salé dépend à la fois de la quantité de sel mais également de ses interactions avec l'aliment. Il est donc critique de cartographier la quantité de sel et de comprendre comment le sodium interagit avec le produit. Dans ce contexte, l'IRM est une approche de choix car elle permettrait de répondre simultanément à ces deux enjeux ; obtenir la répartition spatiale du sel et caractériser les interactions du sel avec la matrice.

Le ^{23}Na est un noyau quadripolaire (spin 3/2). Lorsqu'il existe des liens forts (d'origine électrostatique) entre le sodium et son environnement, des interactions quadripolaires détectables apparaissent. Il est accepté *in vivo* que l'ensemble des ions sodium présente un seul compartiment avec une interaction quadripolaire typique (non séparable dans le domaine spectral). Cette compartimentation reste à étudier

précisément dans les produits agroalimentaires. Mes études avaient donc deux objectifs. Le premier était de voir s'il existe des aliments avec un spectre RMN présentant de multiples pics dus aux interactions quadripolaires. Il est utile de rappeler en effet que l'imagerie spectroscopique rapide IDEAL repose sur un modèle connu *a priori* en fréquence. Le second objectif était de caractériser les interactions entre le sodium et l'aliment. Pour cela, les temps de relaxation transversaux T_2 ont été mesurés en simple et double quanta (SQ, DQ) dans différents aliments, salés à différentes concentrations. J'ai pu démontrer que dans certains de ces produits, contrairement à ce qui est admis dans les tissus biologiques *in vivo*, le sodium était compartimenté en deux fractions détectables qui se distinguent par la présence ou non d'interactions quadripolaires.

Le manuscrit est organisé de la manière suivante. Les deux premiers chapitres constituent l'état de l'art de l'imagerie spectroscopique rapide et de la RMN du sodium respectivement. Le troisième chapitre illustre mes travaux menés pour mettre au point et optimiser l'approche d'imagerie spectroscopique rapide. Le quatrième chapitre présente l'étude des interactions du sodium dans des aliments salés contrastés. Les discussions et principales publications sont intégrées à ces deux derniers chapitres. Pour autant, le document s'achève par une conclusion générale.

CHAPITRE I – ETAT DE L'ART : IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE PAR RESONANCE MAGNETIQUE

1. INTRODUCTION

L’imagerie par résonance magnétique (IRM) est une méthode d’imagerie non-invasive permettant de visualiser les tissus avec une grande diversité de contrastes, ce qui permet par exemple de différencier les conditions physiologiques normales et pathologiques. L’IRM est fondée sur la résonance magnétique nucléaire (RMN). Cette dernière a eu une énorme influence dans la médecine/biomédecine [1-17], l’alimentation [18-22] et l’agronomie [23-37]. Elle a notamment donné lieu à plusieurs prix Nobel : de la découverte du phénomène de RMN par Isidor Isaac Rabi (prix Nobel de physique, 1944), au premier développement mené par Felix Bloch et Edward Purcell (prix Nobel de physique, 1952), à la dernière reconnaissance de Paul Lauterbur et Sir Peter Mansfield (prix Nobel de physiologie et de médecine, 2003) pour leur découverte de la reconstruction d’image 2D en faisant intervenir des gradients modifiant l’intensité du champ magnétique. Une étape majeure dans le développement de la mesure du phénomène RMN est la spectroscopie par résonance magnétique (SRM) par transformée de Fourier (TF) par Richard Ernst (prix Nobel de chimie, 1991). Celle-ci apporte des informations complémentaires à l’IRM : les spectres et permet d’étudier le métabolisme.

Ainsi, l’imagerie spectroscopique par résonance magnétique (ISRM), également connue sous le nom de chemical shift imaging (CSI) en anglais, a été introduite pour la 1^{ère} fois en 1982 par Brown et *al.* [38] et développée par Maudsley et *al.* [39]. L’ISRM est importante pour évaluer la variation spatiale des métabolites *in vivo* et mesurer leurs concentrations. Les applications de l’ISRM ont été nombreuses, par exemple le suivi des changements dans les voies métaboliques [40-45], l’imagerie de l’eau et la matière grasse [15,46-48], l’identification et le traitement des tumeurs/lésions et des études de survie [11,49-51], l’imagerie du pH [52], la cartographie de la température [53-55], et le suivi des changements de lactate au cours de l’activation cérébrale [56].

La méthode d’ISRM conventionnelle est basée sur l’utilisation exclusive de gradients d’encodage de phase permettant de se déplacer dans le plan de Fourier et d’acquérir un signal de précession libre [38]. Cette méthode a permis d’acquérir des spectres RMN du ^1H *in vivo* dans le cerveau [57]. Ces spectres sont très complexes et présentent un fort chevauchement de pics. Ce chevauchement persiste même en augmentant l’intensité du champ magnétique [58]. Si la CSI conventionnelle est robuste, c’est au prix d’un très long temps d’acquisition qui ne permet pas d’étudier les métabolismes rapides.

Pour l’étude du métabolisme, un autre noyau d’intérêt est le carbone (^{13}C) pour lequel le spectre présente un moindre chevauchement de pics (on parlera de spectre clairsemé), mais ayant une très faible sensibilité RMN. Si cette sensibilité peut être significativement augmentée grâce à l’hyperpolarisation, il est nécessaire de disposer d’une méthode d’ISRM adaptée, c’est-à-dire suffisamment rapide pour l’étude du métabolisme en condition d’hyperpolarisation et suffisamment résolue dans la dimension spectrale pour mesurer les métabolites d’intérêt.

Ce chapitre dédié à l’ISRM rapide commencera par l’introduction des principes de base de la RMN puis de l’hyperpolarisation. Je présenterai ensuite les travaux menés dans l’équipe en spectroscopie RMN et plus particulièrement en ^{13}C hyperpolarisé sur des animaux modèles de la maladie de Parkinson. Je décrirai ensuite les différentes méthodes en ISRM. Je les ai regroupées en trois grandes familles : la sélectivité spectrale est réalisée à la reconstruction soit sans aucune connaissance *a priori* soit à l’aide d’un modèle ou alors à l’excitation. Je terminerai cet état de l’art en abordant les problématiques liées à l’état hyperpolarisé des métabolites.

2. QUELQUES PRINCIPES DE RMN

A la base, la RMN utilise l’absorption et l’émission d’ondes électromagnétiques radiofréquences (RF) par des noyaux placés dans un champ magnétique statique $\mathbf{B}_0$. Ces noyaux possèdent des propriétés magnétiques caractérisant leur spin nucléaire, et sont liés par la relation suivante :

$$\boldsymbol{\mu} = g\gamma\mathbf{S}, \quad (1)$$

avec $\boldsymbol{\mu}$ le moment magnétique, g le facteur de Landé, γ le rapport gyromagnétique et $\mathbf{S}$ le spin correspondant. Le rapport gyromagnétique est le rapport entre le moment magnétique dipolaire et le moment cinétique d’une particule portant une charge électrique en rotation. γ est ainsi une constante unique pour chaque atome. Si le spin nucléaire du noyau d’intérêt est non nul, son placement dans un champ magnétique le forcera dans des états quantiques particuliers. Par exemple, une particule ayant un spin $\frac{1}{2}$, comme le proton, peut occuper deux niveaux d’énergie $+\frac{1}{2}$ (état d’énergie moins élevée) ou $-\frac{1}{2}$ (état d’énergie plus élevée). La différence de ces deux niveaux est appelée effet Zeeman car découverte par Pieter Zeeman, lauréat du prix Nobel de physique en 1902 avec son mentor, Hendrik Lorentz. La différence d’énergie E entre ces deux états est proportionnelle à l’intensité du champ magnétique appliqué :

$$E = h\nu_0 ; \nu_0 = \gamma \times B_0, \quad (2)$$

avec h la constante de Planck ($6.626 \times 10^{-34} \text{J.s}$), ν_0 la fréquence de Larmor du noyau d’intérêt (Hz), $\gamma = \gamma/2\pi$ (MHz.T $^{-1}$), et B_0 l’intensité du champ magnétique statique (T).

Les noyaux observables en RMN sont ceux qui ont un proton ou un neutron non apparié. L'hydrogène (^1H , spin $1/2$) est le principal noyau étudié parce qu'il possède le rapport gyromagnétique le plus élevé ($\gamma = 42.576 \text{ MHz.T}^{-1}$) et une abondance naturelle très importante (99.9%). En considérant une population de noyaux de ^1H , et d'après la distribution de Boltzmann, une légère prédominance des noyaux dans l'état d'énergie inférieure ($+1/2$) se produit. Le rapport entre les populations de l'état d'énergie inférieure (N^+) et supérieure (N^-) s'exprime comme suit :

$$\langle N^+ / N^- \rangle = \exp(-E/k_B T) = \exp(-h\nu_0/k_B T), \quad (3)$$

avec k_B la constante de Boltzmann ($1.381 \times 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$) et T la température (K). Cette prédominance de spin dans l'état $+1/2$ contribue à une aimantation macroscopique M_0 parallèle à $\mathbf{B}_0$, appelée aimantation longitudinale à l'équilibre $M_z = M_0$. Dans ce cas, la totalité de l'aimantation est suivant l'axe Z. Seuls les noyaux contribuant à la production de M_0 sont considérés pour la suite.

Un champ magnétique perturbateur $\mathbf{B}_1$ perpendiculaire à $\mathbf{B}_0$, ayant une fréquence ν_0 , peut être appliqué dans le plan (XY) grâce à une impulsion RF. Celui-ci offre la possibilité d'une absorption de l'énergie avec laquelle le proton de l'atome d'hydrogène passe à un état d'énergie plus élevé. Ainsi, les noyaux deviennent excités. Une application de $\mathbf{B}_1$ plus longue conduit à un basculement d'un angle plus large par rapport à $\mathbf{B}_0$. Pour une durée suffisante, l'aimantation macroscopique M_0 peut être basculée d'un angle de bascule (FA) de 90° pour avoir la totalité de l'aimantation dans le plan (XY) ($M_{xy} = M_0$ et $M_z = 0$). A l'arrêt de $\mathbf{B}_1$, les noyaux excités retournent rapidement à l'état d'énergie inférieur en émettant des ondes électromagnétiques de fréquence ν_0 . En d'autres termes, les spins retournent à leur position d'équilibre parallèle à $\mathbf{B}_0$. Ces ondes, captées par des bobines de réception dans le plan (XY), induisent le signal RMN observé à une fréquence égale à la fréquence de précession des noyaux ν_0 . Ce signal induit est appelé précession libre ou free induction decay (FID) en anglais.

En réalité, les noyaux observés appartiennent à des molécules et baignent dans un nuage électronique. La densité électronique au voisinage d'un noyau dépend de la molécule et de sa position dans celle-ci. Cela va en quelque sorte constituer, en présence de $\mathbf{B}_0$, un champ magnétique opposé égale à $\sigma_i \mathbf{B}_0$ avec σ_i la constante d'écran. Le champ magnétique local observé par un noyau i a donc la forme suivante :

$$\mathbf{B}_i = \mathbf{B}_0 (1 - \sigma_i), \quad (4)$$

Les différents champs magnétiques subis par les noyaux font varier les fréquences de résonance observées selon l'équation (2). Les variations de fréquence du même type de noyau, dues aux variations de la distribution des électrons, sont appelées déplacements chimiques (δ). Celui-ci est exprimé en partie par million (ppm) par rapport à une molécule de référence selon l'équation suivante :

$$\delta_i = \sigma_{ref} - \sigma_i = (\nu_i - \nu_{ref})/\nu_0, \quad (5)$$

avec δ_i , σ_i , ν_i le déplacement chimique, la constante d'écran et la fréquence de Larmor, respectivement, du noyau étudié i . σ_{ref} et ν_{ref} sont la constante d'écran et la fréquence de Larmor, respectivement, de

la molécule de référence. Si l’environnement étudié comporte différentes molécules, la FID résultante rassemble les oscillations des différentes fréquences de résonance (ou déplacements chimiques). Les fréquences composites du signal acquis peuvent être séparées en appliquant la TF. Si un signal consiste en une oscillation à une fréquence unique de 2000 Hz, à titre d’exemple, alors sa TF contiendra un pic à cette fréquence (Figure 1a). Dans le cas où ce signal contient une superposition d’oscillations à différentes fréquences (2000 et 3500 Hz), la TF (qui est linéaire) fournit un « histogramme » de ce contenu spectral (Figure 1b).

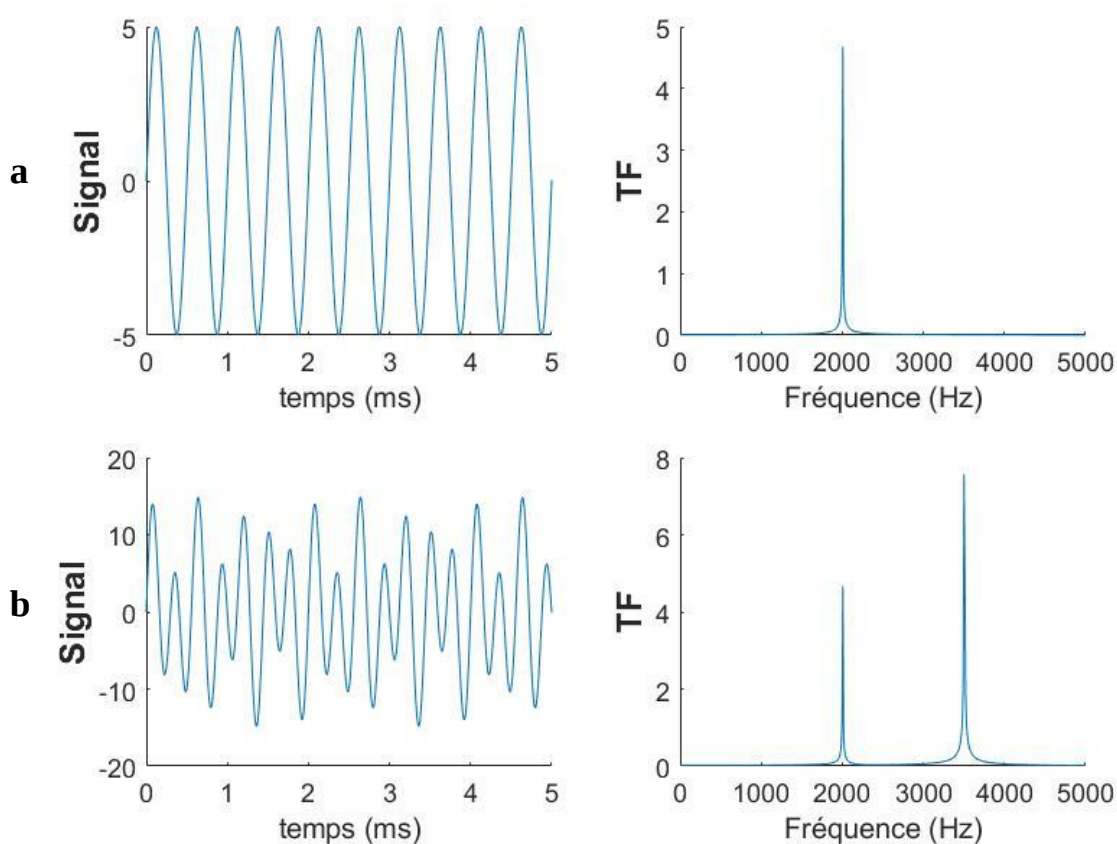


Figure 1 : (a) La partie réelle d’un signal oscillant d’une fréquence $f_1=2000\text{Hz}$ et ayant une amplitude de 5, et la valeur absolue de sa transformée de Fourier. (b) Signal oscillant composé de deux fréquences $f_1 = 2000\text{ Hz}$ et $f_2 = 3500\text{ Hz}$, d’amplitudes égales à 5 et 10, respectivement, et la transformée de Fourier correspondante.

L’objectif de l’ISRM est de retrouver la position des noyaux à l’origine du signal reçu. Il faut donc coder l’espace en modifiant spatialement le champ statique à l’aide de bobines de gradients. La variation temporelle d’un gradient correspond à un déplacement dans l’espace de Fourier (appelé l’espace-k), qui est la transformée de Fourier inverse de la distribution de l’aimantation transversale. Par conséquent, la reconstruction d’une image RMN nécessite d’échantillonner l’espace k et d’effectuer ensuite une TF. Si l’espace-k est échantillonné le long d’une trajectoire cartésienne, la TF discrète peut être effectuée

directement. Si un échantillonnage non-cartésien est utilisé, telle qu'une trajectoire en spirale, les données sont généralement extrapolées sur une grille cartésienne pour permettre l'utilisation de la TF discrète. La particularité d'un protocole d'ISRM est d'acquérir plusieurs images à différents instants de l'évolution libre du signal afin de pouvoir identifier les différents pics caractérisés par leur déplacement chimique.

La FID est généralement constituée d'une superposition de sinusoïdes amorties. Chacun de ces pics voit son évolution gouvernée par deux types de relaxation. L'aimantation longitudinale M_z repousse par relaxation longitudinale T_1 après une impulsion RF, une repousse à partir de 0 pour atteindre 95% de l'aimantation M_0 nécessite un temps de 3 fois le T_1 . La composante transversale M_{xy} décroît par relaxation transversale T_2^* .

Pour les applications *in vivo*, les noyaux couramment étudiés en RMN en plus du ^1H sont le phosphore (^{31}P) [59-62], le carbone (^{13}C) [3,7,63-74], le sodium (^{23}Na) [75-82] et le xénon (^{129}Xe) [83-85]. Quelques caractéristiques de ces noyaux sont résumées dans le Tableau 1.

Tableau 1 Quelques caractéristiques de différents noyaux/isotopes.

Noyau	Rapport gyromagnétique γ (MHz.T ⁻¹)	Abondance naturelle (%)	Spin nucléaire
^1H	42.576	99.9	1/2
^{31}P	17.235	100	1/2
^{13}C	10.705	1.07	1/2
^{23}Na	11.268	100	3/2
^{129}Xe	-11.777	26.4	1/2

Étant donné que la plupart des processus métaboliques impliquent du carbone, la spectroscopie du ^{13}C est une méthode d'intérêt pour mesurer le métabolisme *in vivo* de manière non invasive [12,86,87]. Comme évoqué précédemment, les spectres ^{13}C sont caractérisés par une large gamme spectrale (0-220 ppm) [3-6,11,45,63,64,88-96] et des pics singulets bien dispersés. Par contre, le ^{13}C présente une sensibilité insuffisante en raison du faible rapport gyromagnétique (un quart par rapport aux protons) et de sa faible abondance naturelle (cf. Tableau 1). Dans ces conditions, la RMN du ^{13}C exige l'utilisation de nombreuses accumulations pour détecter un signal suffisant, ce qui conduit à des temps d'acquisition rédhibitoires. Pour permettre les études *in vivo* en RMN du ^{13}C , la sensibilité doit être significativement augmentée avec l'injection de molécules enrichies en ^{13}C et/ou par l'hyperpolarisation.

3. HYPERPOLARISATION

La sensibilité nucléaire en RMN est directement proportionnelle à la polarisation du spin nucléaire P . Celle-ci, sous des conditions d'équilibre thermique gouvernées par la distribution de Boltzmann, est définie par la relation suivante :

$$\begin{aligned} P &\approx (2S(S+1)\gamma\hbar B_0)/(3k_B T) = (2S(S+1)h\nu_0)/(3k_B T) \\ &= 2S(S+1)/3 \times (\langle N^+/N^- \rangle - 1), \end{aligned} \quad (6)$$

avec S la valeur du spin nucléaire. La polarisation représente la fraction de spins en excès qui donnent lieu à l'aimantation macroscopique pour un champ magnétique donné. A l'équilibre, pour des champs utilisés en clinique (3T) et en préclinique (11.7 T) et une température physiologique de 310 K, les taux de polarisation pour le ^1H et le ^{13}C présentés dans le Tableau 2 sont très faibles.

Tableau 2 Taux de polarisation en partie par million du ^1H et du ^{13}C pour deux valeurs de champ magnétique externe.

Champ magnétique (T)	Polarisation en (ppm)	
	^1H	^{13}C
3	9.89	2,49
11.7	38.55	9.69

Par conséquent, par la seule action d'un champ magnétique externe, la grande majorité des spins nucléaires ne contribue pas au signal RMN. Cependant, P peut-être significativement augmenté par rapport au niveau d'équilibre thermique (EqTh), via un processus appelé hyperpolarisation (HP). Celui-ci augmente le taux de polarisation du ^{13}C de plusieurs ordres de grandeur par rapport à l'équilibre thermique. Le facteur d'amélioration correspondant, $\varepsilon = P_{\text{HP}}/P_{\text{EqTh}}$, est environ 10^4 à 3T [87]. L'hyperpolarisation offre donc une amélioration considérable de la sensibilité par rapport à la RMN conventionnelle [13], ce qui permet d'envisager l'utilisation de l'ISRM pour des études métaboliques.

Plusieurs techniques d'hyperpolarisation ont été développées et sont applicables *in vivo* : la polarisation dynamique nucléaire par dissolution (dDNP) [97], la polarisation induite par parahydrogène (PHIP) [98], l'amplification du signal par échange réversible (SABRE) [99] et le pompage optique à échange de spin (SEOP) [100].

L'utilisation d'une des techniques d'hyperpolarisation citées précédemment permet d'obtenir une polarisation nucléaire supérieure à celle obtenue à l'équilibre thermique. Cependant, parce que la polarisation est produite de manière exogène (c'est-à-dire dans un polariseur), l'aimantation

longitudinale (M_z) décroît jusqu’à l’équilibre thermique (M_0) au fil du temps à une vitesse dépendante de son temps de relaxation longitudinale T_1 :

$$\begin{aligned} M_z(t) &= M_0 + (M_{0,HP} - M_0) \times \exp(-t/T_1), \\ M_z(t) &\approx M_{0,HP} \times \exp(-t/T_1) \quad \text{car } M_{0,HP} \gg M_0, \end{aligned} \quad (7)$$

avec $M_{0,HP}$ l’aimantation à l’état HP initial. L’ordre de grandeur des valeurs T_1 pour les substrats typiques du ^{13}C HP sont de l’ordre de quelques dizaines de secondes [95]. La décroissance jusqu’à l’équilibre thermique de l’aimantation HP ne peut être récupérée. Cette polarisation décroît aussi avec l’application des impulsions d’excitation RF. Cela implique que chaque impulsion RF, consomme une partie de l’aimantation $M_{0,HP}$ de la manière suivante :

$$\begin{aligned} M_z(t) &= M_{0,HP} \times \exp(-t/T_1) \times \cos^{n-1} \beta, \\ M_{xy}(t) &= M_{0,HP} \times \exp(-t/T_1) \times \cos^{n-1} \beta \times \sin \beta, \end{aligned} \quad (8)$$

avec β le FA et n le nombre d’excitation. En d’autres termes, une excitation de 90° prélève la totalité de l’aimantation disponible par HP et cette dernière ne repousse pas vers la valeur $M_{0,HP}$. Par conséquent, un protocole d’acquisition dynamique doit être suffisamment rapide pour tenir compte de la décroissance en T_1 de l’aimantation et optimiser les angles afin d’obtenir une aimantation transversale suffisante pour chaque excitation. Des méthodes de spectroscopie rapide sont ainsi nécessaires pour bénéficier de l’hyperpolarisation des noyaux à faible sensibilité en RMN dans l’étude des conversions métaboliques rapides *in vivo*. L’application ciblée est l’ISRM de molécules hyperpolarisées pour caractériser les modifications du métabolisme rapide dans la maladie de Parkinson (MP).

4. RMN DU ^{13}C HYPERPOLARISE CHEZ UN MODELE MURIN DE LA MALADIE DE PARKINSON

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques de la substance noire pars compacta (SNc). Cette neurodégénérescence induit une diminution de la libération de dopamine au niveau du striatum dorsolatéral et ventral [101]. Ces taux plus faibles de dopamine au niveau du striatum sont à l’origine dans le cerveau d’un dysfonctionnement des voies cortico–basal ganglia–thalamo–corticales et de l’apparition des symptômes cliniques de la maladie de Parkinson (tremblement de repos, rigidité, akinésie et bradykinésie). De nombreuses études montrent que la perte des neurones dopaminergiques dans la SNc et les taux de dopamine diminués au niveau du striatum ont des effets sur la biochimie de ces structures cérébrales [102,103]. Ainsi, il existe des signes d’inflammation [102], de mort cellulaire par apoptose

dans la SNc [102] et des changements dans les taux de neurotransmetteurs dans le striatum [16,104-108]. Les changements dans la neurotransmission au niveau du striatum induisent une dérégulation des boucles cortico-basal ganglia-thalamo-corticales et pourrait expliquer les signes moteurs de la maladie de Parkinson.

Les premières études réalisées au laboratoire utilisant la SRM du carbone ^{13}C décrivent des niveaux de glutamate et de glutamine marqués sur le carbone C4 de la chaîne carbonée augmentés après la perfusion d'acétate de sodium marqué au ^{13}C sur son carbone 2 [$2\text{-}^{13}\text{C}$] dans le cerveau de modèles animaux de la maladie de Parkinson [109]. Ces résultats semblent montrer un rôle important du métabolisme du glutamate et en particulier du cycle glutamate-glutamine et les interactions neurone-glie dans la pathophysiologie de la maladie de Parkinson. Cependant, l'obstacle en termes de sensibilité de la SRM du ^{13}C et donc en termes de temps d'acquisition rend l'utilisation de cette technique peu informative pour l'étude de cycle. En effet, la durée d'acquisition fait perdre l'aspect dynamique du suivi de ce flux. Pour pallier au manque de sensibilité de cette technique, la dDNP a été utilisée. Ainsi, une première étude a été menée sur le dispositif hyperpolariseur, HyperSense® (Oxford Instruments, Oxfordshire, United Kingdom) ; imageur clinique corps entier 3T (imageur IRM GE MR750 discovery, General Electric Healthcare, Milwaukee, WI) du CHU de Clermont-Ferrand [40].

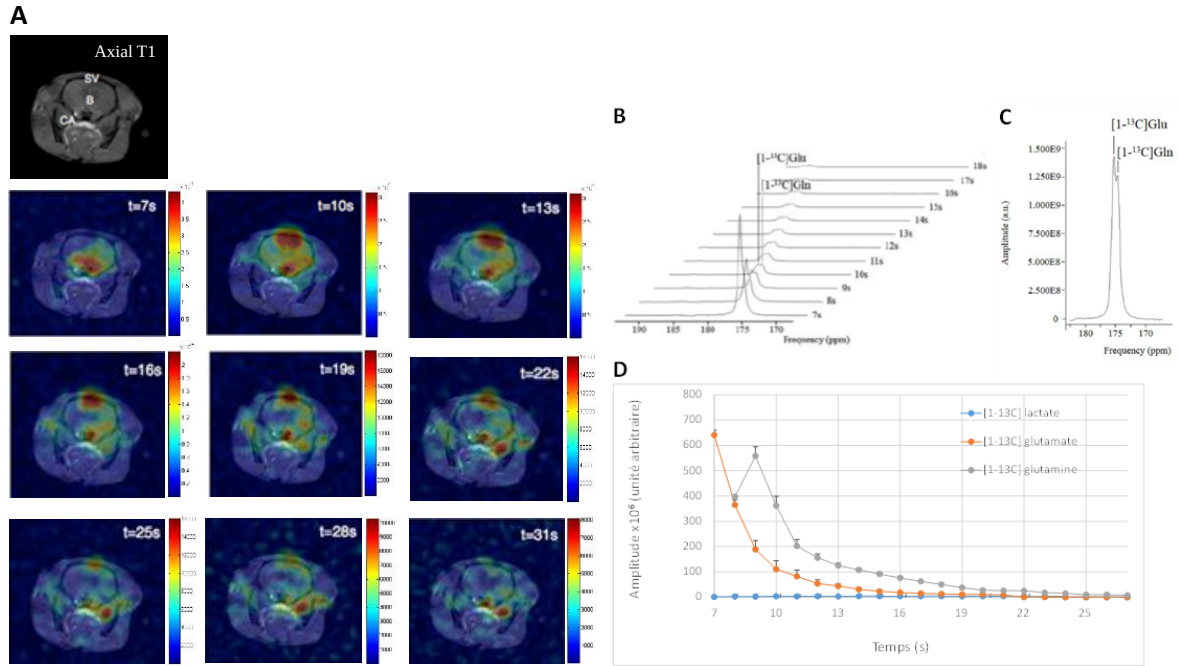


Figure 2 : Détection du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate et de son métabolite in vivo dans le cerveau du rat après rupture temporaire de la BHE. (A) Répartition du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate hyperpolarisé au cours du temps après perfusion de mannitol 25%. 7s après le début de l'injection du bolus de solution hyperpolarisée, le signal du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate apparaît d'abord au niveau de la carotide (CA), puis dans le cerveau (B) et finalement au niveau de la zone de la veine sagittale (SV). (B) Représentation des 12 premiers spectres acquis dès la 7ème seconde après le bolus de $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate hyperpolarisé au niveau d'une coupe recouvrant le cerveau du rat ($\text{TR} = 1\text{ s}$; flip angle = 15°). (C) Somme des 10 premiers spectres. La résonance mesurée à 175.4 ppm est celle du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate hyperpolarisé, et le pic à 174.9 ppm semble correspondre au signal de $[1-^{13}\text{C}]$ glutamine hyperpolarisée. (D) Les amplitudes des signaux des molécules hyperpolarisées sont mesurées sur chaque spectre, exprimées en unité arbitraire et l'évolution de ces amplitudes au cours du temps est représentée. Après rupture de la BHE et 7 s après son injection, le signal du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate est en phase de décroissance, la $[1-^{13}\text{C}]$ glutamine est détectée dès la 8ème seconde et l'intensité du signal atteint un maximum 9 s après l'injection du bolus. Les courbes représentent les amplitudes moyennes mesurées chez 3 rats. Les barres d'erreurs représentent la somme des écarts à la moyenne (SEM). Image reproduite à partir de (Mazuel et al. 2017) [40].

Du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate, précurseur pour le suivi du cycle glutamate-glutamine est hyperpolarisé. Bien qu'il présente l'avantage d'être facilement polarisable et de conduire directement à la synthèse de glutamine [110], l'un des inconvénients majeurs à l'utilisation du glutamate est son absence de transporteurs au niveau de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Pour pallier à ce problème, un protocole de rupture de la BHE est implémenté. Ainsi, l'injection de mannitol 25% réalisée de façon rétrograde dans l'artère carotide et préalable à celle du produit marqué entraîne l'ouverture réversible de la BHE sur une fenêtre de temps d'environ 10 minutes et permet au $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate de pénétrer dans le cerveau pour y être métabolisé. Dans ces conditions expérimentales, le $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate est détecté *in vivo* dans le cerveau du rat et semble être métabolisé de façon privilégiée en glutamine au regard de la correspondance des déplacements chimiques (décalage chimique de 0.5 ppm entre les 2 pics). La synthèse de son métabolite, la $[1-^{13}\text{C}]$ glutamine est aussi suivie en temps réel (Figure 2).

Nous proposons donc l'utilisation du $[1-^{13}\text{C}]$ glutamate hyperpolarisé comme précurseur prometteur pour évaluer l'activité enzymatique (Glutamine synthase) du cycle glutamate/glutamine à l'état physiologique et pathologique, dans le cadre de la maladie de Parkinson. Cette étude devait avoir lieu

au laboratoire AgroResonance afin de bénéficier des équipements spécialement dédiés aux expérimentations chez l’animal.

5. METHODES D’ACQUISITION POUR L’IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE

L’encodage de l’information spectrale dans une séquence d’imagerie spectroscopique peut être réalisé selon différentes approches. Dans cette section, différentes méthodes d’imagerie spectroscopique sont abordées et décrites. Les différentes méthodes appartiennent à trois familles majeures : méthode d’acquisition a) sans la connaissance *a priori* du spectre, b) selon un modèle et c) spécifique aux métabolites étudiés.

a. METHODE D’ACQUISITION SANS A PRIORI

L’ISRM conventionnelle (CSI) fournit des spectres RMN dans chaque voxel de l’image, qui sont ensuite analysés pour extraire les fréquences des métabolites sans connaissance *a priori* de leurs déplacements chimiques. Elle est donc considérée comme la méthode la plus robuste et de référence en imagerie spectroscopique. La CSI est basée sur l’encodage en phase, où l’amplitude des gradients de codage de phase est incrémentée une fois par temps de répétition (TR) avant d’acquérir le signal de FID [38]. A chaque TR correspond une position dans l’espace k, ce qui permet d’échantillonner cet espace librement et d’acquérir la FID dans les mêmes conditions, quelle que soit cette position. Cette méthode offre une large bande passante spectrale (SBW) et résolution spectrale. Cependant, le temps d’acquisition est souvent rédhibitoire car directement proportionnel à TR et au nombre de pas de codage de phase nécessaires pour couvrir l’espace k. Par exemple, la durée pour acquérir les informations nécessaires dans une coupe 2D de 64×64 voxels, avec un temps de répétition de 1s et une seule accumulation dépasse 1h. La CSI classique n’est donc pas adaptée ni aux études du métabolisme cérébral rapide (de l’ordre de quelques dizaines de secondes pour le cycle Glutamate (Glu) – Glutamine (Gln) entrant dans le cycle de Krebs [40]), ni aux expériences d’hyperpolarisation. C’est pourquoi de nombreuses stratégies d’acquisition rapide ont été développées afin de raccourcir le temps d’acquisition.

L’une des approches pouvant réduire de manière significative le temps d’acquisition est l’imagerie spectroscopique avec des gradients dits de lecture introduite par Mansfield [111]. Elle est fondée sur un entrelacement des codages spectral et spatial pour obtenir des images à plusieurs temps du FID. Une

démarche générique consiste à utiliser des trajectoires d'imagerie rapide, l'instant d'échantillonnage temporel correspondant au moment du passage par le centre de l'espace de Fourier. Dans ce cas, l'encodage spatial dans l'espace-k peut être réalisé avec de nombreuses trajectoires : cartésienne fondée sur une trajectoire écho-planaire (EPSI) [112], spirale [113], radiale [114] ou anneaux concentriques [115] (Figure 3A). La Figure 3B représente des caractéristiques de l'encodage spatial avec chacune des trajectoires. L'information spatiale acquise avec les trajectoires non cartésiennes peut être reconstruite à l'aide d'algorithmes de reconstruction, tels que le *Gridding* [116] ou la transformée de Fourier rapide non uniforme (nuFFT) [117].

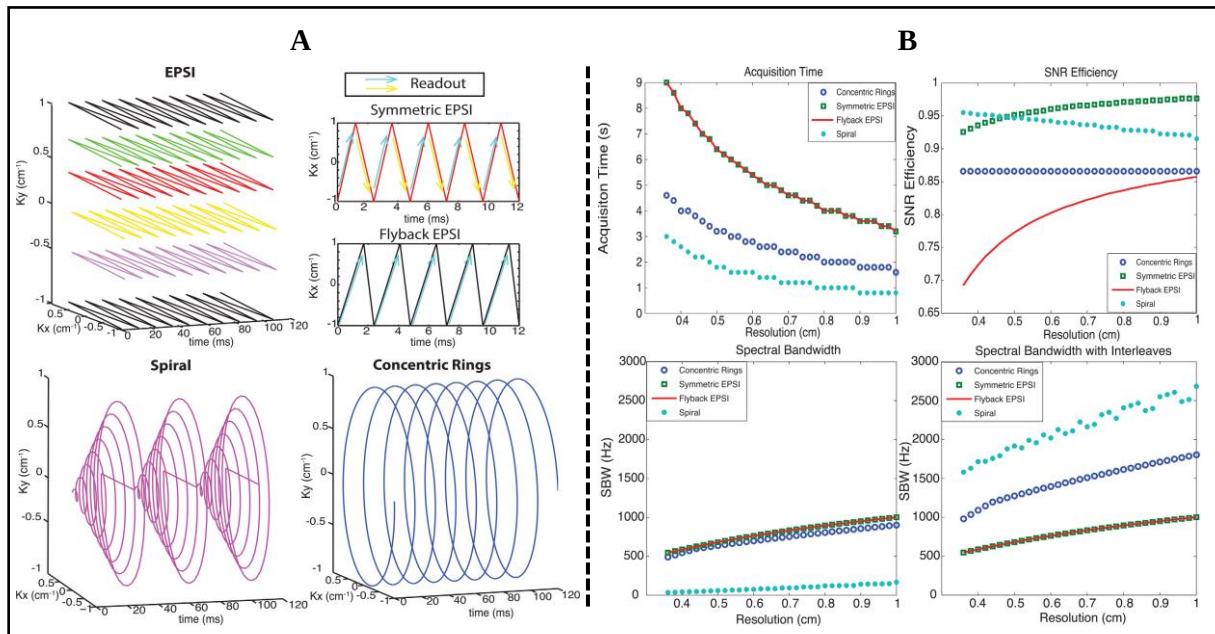


Figure 3 : (A) Différentes trajectoires dans l'espace-k pour l'imagerie spectroscopique rapide avec un gradient de codage cartésien, spirale et anneaux concentriques. (B) Caractéristiques d'encodage de ces trajectoires en fonction de la résolution spatiale : le temps d'acquisition; l'efficacité du SNR ; la SBW sans et avec des entrelacements spectraux. En supposant des gradients typiques du système d'IRM clinique avec une amplitude maximale de 40 mT.m^{-1} et une vitesse de balayage maximale de $150 \text{ mT.m}^{-1}.\text{ms}^{-1}$. Image reproduite à partir de (Jiang et al. 2016) [115].

Cependant, cette accélération se fait au détriment de la résolution temporelle pour échantillonner le signal FID. Par exemple, pour un échantillonnage régulier où toutes les images sont espacées de ΔTE , la bande passante spectrale SBW est limitée par la fréquence de Nyquist ($SBW = 1/\Delta TE$) (Figure 3B). Augmenter SBW nécessite de réduire ΔTE et donc de réduire la durée de la trajectoire. Cela entraîne généralement des compromis entre la bande passante spectrale et la résolution spatiale [112]. Ceci devient particulièrement problématique à haut champ, où les CS (en Hz) sont encore plus dispersés nécessitant une bande passante plus large. Le métabolisme du pyruvate a été étudié *in vivo* à 3 T et 11.7 T dans les études [118,119] et [2], respectivement. Une option complémentaire est d'entrelacer les trajectoires pour diminuer ΔTE . Elle consiste simplement à effectuer la trajectoire en plusieurs

excitations, plutôt qu’en une seule fois. Dans ce cas, le temps d’acquisition croît linéairement avec le nombre d’entrelacements (Figure 3B).

b. METHODE D’ACQUISITION FONDEE SUR UN MODELE SPECTRAL

Afin de rendre les résolutions spectrales et spatiales indépendantes l’une de l’autre et de réduire le nombre d’impulsions RF nécessaire, on peut se diriger vers des techniques alternatives basées sur la connaissance *a priori* des fréquences de chaque pic présent dans le spectre. Cette approche dite IDEAL a été utilisée principalement pour la décomposition eau/graisse [15,46,48,120-130]. L’idée est d’échantillonner la dimension temporelle avec le minimum de points permettant de résoudre l’amplitude des différents pics (Figure 4).

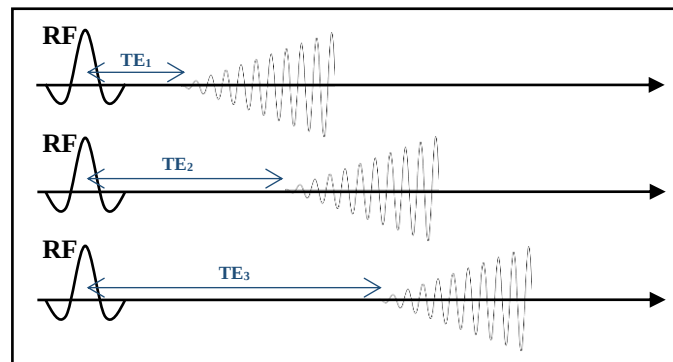


Figure 4 : Séquence d'impulsions de l'imagerie spectroscopique rapide basée sur un modèle en spirale pour l'encodage spatial : des impulsions RF sont appliquées suivies d'une longue acquisition pour l'encodage spatial de l'espace-k en entier. Un incrément de temps d'écho supplémentaire est appliqué pour chaque shot pour l'encodage spectral. Ce schéma peut être adapté pour n impulsions.

En tirant parti de la connaissance *a priori* des déplacements chimiques, l'avantage de cette technique est de réduire le nombre d'impulsions RF nécessaire et d'accélérer l'expérience, ce qui est précieux dans une expérience d'hyperpolarisation. Les paramètres expérimentaux doivent être optimisés pour correspondre aux fréquences de résonances des métabolites étudiés. Au moins $(n+1)$ images sont nécessaires pour l'étude spectrale de n métabolites. Les TE doivent aussi être optimisés pour résoudre les pics. Une approche simplificatrice consiste à optimiser l'incrément de TE, ΔTE , et conjointement le nombre d'acquisitions (NSA) [44,118,131]. Le NSA est une mesure du SNR relatif pour chaque métabolite, en fonction de la fréquence du $q^{\text{ième}}$ métabolite (ν_q), et des TE échantillonnés (n) :

$$NSA_q = 1/(\text{inv}(E^H E))_{q,q}, \quad (9)$$

$$E_{q,n} = \exp(i2\pi\nu_q TE_n),$$

où H désigne la transposée hermitienne. Ce facteur renvoie le nombre optimal et la valeur d'incrément du TE pour lequel les métabolites d'intérêt sont plus susceptibles d'être séparés. La Figure 5 présente un spectre RMN du pyruvate marqué au ^{13}C et ses produits métaboliques *in vivo*. Plutôt que d'avoir à satisfaire le taux d'échantillonnage de Nyquist pour une reconstruction correcte et précise de l'information spectrale, ces techniques permettent donc de remonter aux fréquences de résonance attendues à partir de beaucoup moins de points.

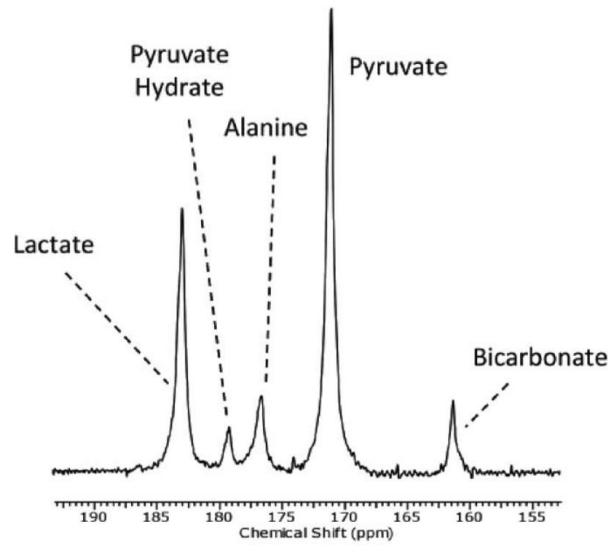


Figure 5 : Spectre RMN ^{13}C obtenu dans le cœur d'un rat après l'injection du $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate enregistré à $t = 10\text{s}$. Le pyruvate (et son produit d'équilibre, le pyruvate hydraté) et ses produits métaboliques : le lactate, l'alanine et le bicarbonate, sont annotés. Image reproduite à partir de (Atherton, Dodd et al. 2011) [2].

Les informations spectrale et spatiale sont acquises simultanément durant cette technique d'imagerie spectroscopique. Ainsi, l'information spectrale est sous-échantillonnée pour réduire le temps de la séquence d'impulsions ; en contrepartie, le nombre de TE enregistré (N_{TE}) et le ΔTE sont optimisés. Pour démêler les CS, il est nécessaire de séparer l'information spectrale de l'information spatiale. Or, la modélisation du signal acquis dépend essentiellement du mode d'encodage spatial : cartésien ou non-cartésien. Dans un premier temps, et pour une étude d'un noyau X (γ_x), considérons une distribution spatiale ρ_q d'un groupe de spins (CS) résonnant à une fréquence de ν_q .

Avec une lecture cartésienne, les cartes des métabolites peuvent être résolues directement dans l'espace image à l'échelle du voxel. Le signal acquis durant le $n^{\text{ième}}$ écho dans un voxel (i) peut être modélisé comme suit :

$$S_n(i) = \int_q \rho_q(i) \exp(i2\pi v_q T E_n). \quad (10)$$

où ρ_q correspond à la distribution spatiale du $q^{\text{ième}}$ métabolite. Pour prendre en compte les inhomogénéités du champ $\mathbf{B}_0$, la cartographie en fréquence du champ $\mathbf{B}_0$ est reconstruite à partir des données $^1\text{H}(\nu_{B_0})$. L'équation (10) devient :

$$S_n(i) = \left[\int_q \rho_q(i) \exp(i2\pi v_q T E_n) \right] \times \exp(i2\pi(\gamma_x/\gamma_{1H})\nu_{B_0}(i) T E_n), \quad (11)$$

Dans la modélisation du signal, le terme de phase lié aux inhomogénéités du champ $\mathbf{B}_0$ peut être démodulé et les cartes spécifiques à chaque CS sont résolues à l'échelle du voxel en utilisant la pseudo-inverse de Penrose-Moore [132]. Avec un encodage cartésien, et en présence des artefacts off-résonance, ces derniers se manifesteront par un décalage dans la direction de lecture et pourront être éliminés directement dans l'espace image si la règle de Nyquist est respectée.

Dans le cas d'un encodage non-cartésien, comme la spirale à titre d'exemple, le signal dans l'espace-k est acquis d'un seul coup. Et contrairement à l'encodage cartésien, les cartes des métabolites doivent être résolus dans l'espace des fréquences. Le signal acquis durant le $n^{\text{ième}}$ écho et au $j^{\text{ième}}$ point de la trajectoire, correspondant au temps de l'acquisition t_j , peut être modélisé comme suit :

$$S_n(j) = \int_q \rho_q(\mathbf{r}) \exp(i\mathbf{k}_j \mathbf{r}) \exp(i2\pi v_q (T E_n + t_j)). \quad (12)$$

où $\mathbf{r}$ est la position curviligne dans l'espace image. Après une décomposition matricielle point par point dans l'espace-k, un espace-k individuel à chaque métabolite est ajusté et une carte métabolique correspondante peut alors être reconstruite à partir de l'interpolation de l'espace-k individuel sur une grille cartésienne, par maillage (ou gridding en anglais) [116], puis d'une application de la TF, ou bien par application directe d'une nuFFT de chaque espace-k individuel [117].

Dans ce cas de trajectoire de lecture, les artefacts off-résonance se manifestent par un flou au lieu d'un décalage en fréquence. Il est donc important de prendre ces artefacts en considération dans l'espace-k lors de la décomposition des signaux pour une reconstruction correcte des cartographies métaboliques.

c. METHODE D'ACQUISITION SPECIFIQUE AUX METABOLITES

Le principe de l'imagerie spectroscopique spécifique aux métabolites consiste à utiliser une impulsion sélective dans la dimension spectrale. Une impulsion RF spectrale-spatiale (SPSP) à une seule bande est

utilisée pour exciter un métabolite unique dans une coupe, suivie par un encodage spatial rapide. La fréquence centrale de cette impulsion est ensuite décalée de ΔF , ΔF étant la différence en fréquence entre deux métabolites, pour exciter le métabolite suivant. Ce processus est répété pour les n métabolites.

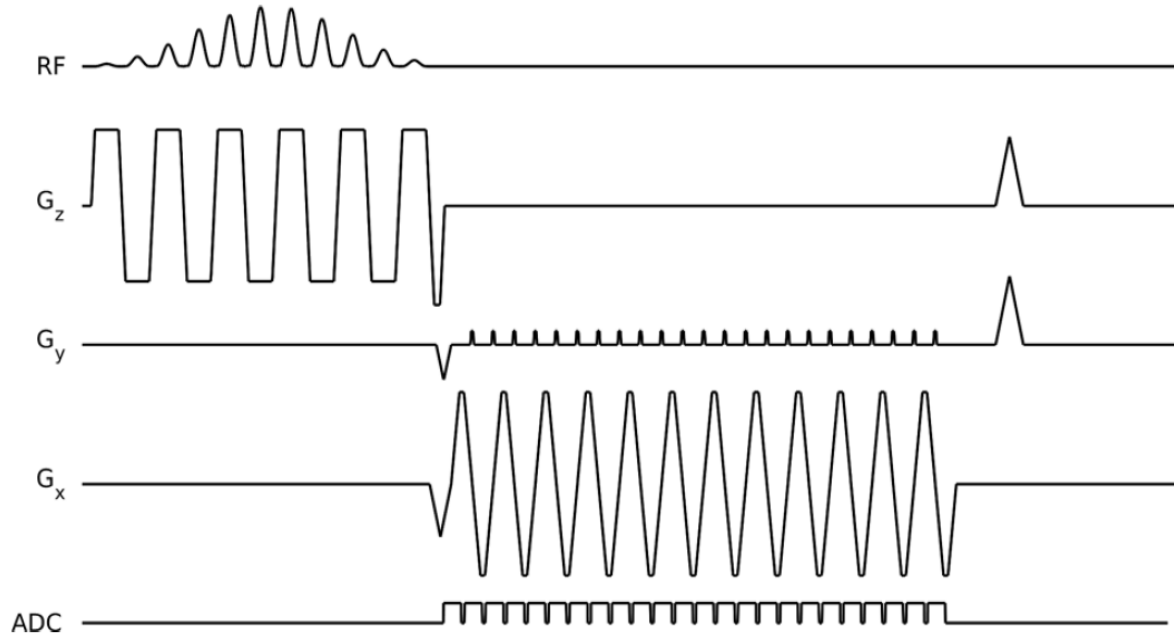


Figure 6 : Diagramme de la séquence d'impulsions EPI symétrique utilisée dans la référence (Gordon et al. 2017). La séquence consiste en une excitation RF SPSP à une seule bande, suivie d'une lecture EPI symétrique. Image reproduite à partir de (Gordon et al. 2017) [134].

L'encodage spatial se compose d'une lecture rapide, telle que les trajectoires proposées précédemment [91,133,134]. Un exemple de telle séquence utilisant une trajectoire EPI [134] est représenté dans la Figure 6, et les images reconstruites avec celle-ci montrant l'évolution du métabolisme du pyruvate sont représentés dans la Figure 7. Ce type d'approche est intrinsèquement plus flexible que la CSI ou les séquences basées sur un modèle (qui nécessitent un nombre d'images supérieur au nombre de métabolites présents dans le spectre), car seuls les métabolites d'intérêt doivent être excités. De plus, chaque métabolite étant excité séparément, différents angles d'excitation peuvent être utilisés.

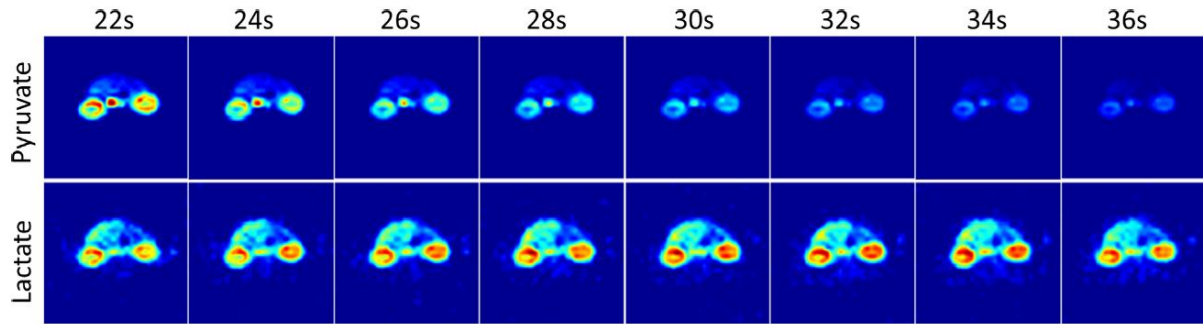


Figure 7 : Images dynamiques du métabolisme rénal acquises par la méthode SPSP décrite dans la Figure 6 après injection de pyruvate hyperpolarisé. Chaque image n’a nécessité qu’une excitation. Les images du pyruvate et du lactate ont été acquises alternativement. Image reproduite à partir de (Gordon et al. 2017) [134].

Par exemple, pour l’étude du métabolisme du pyruvate marqué au ^{13}C hyperpolarisé, des impulsions peuvent être conçues pour préserver la majorité de l’aimantation hyperpolarisée (faible FA) stockée dans le substrat du pyruvate et permettre ainsi une longue durée d’analyse. Des FA plus grands peuvent être utilisés pour imager les métabolites produits [42]. Avec cette technique, le temps d’acquisition des données peut être considérablement réduit en utilisant un encodage spatial en un seul passage comme l’EPI ou la spirale ($N_{\text{metab}} \times \text{TR}$).

Une autre approche est proposée utilisant des impulsions spectrales-spatiales à multi-bandes, permettant d’exciter en même temps tous les métabolites d’intérêt (Figure 8). Des stratégies d’optimisation des angles de bascule en fonction des métabolites peuvent aussi être intégrées [135]. Puisque plusieurs métabolites sont excités simultanément, plusieurs images à TE variables sont nécessaires afin de résoudre les différents pics selon un principe proche de l’approche précédente basée sur un modèle.

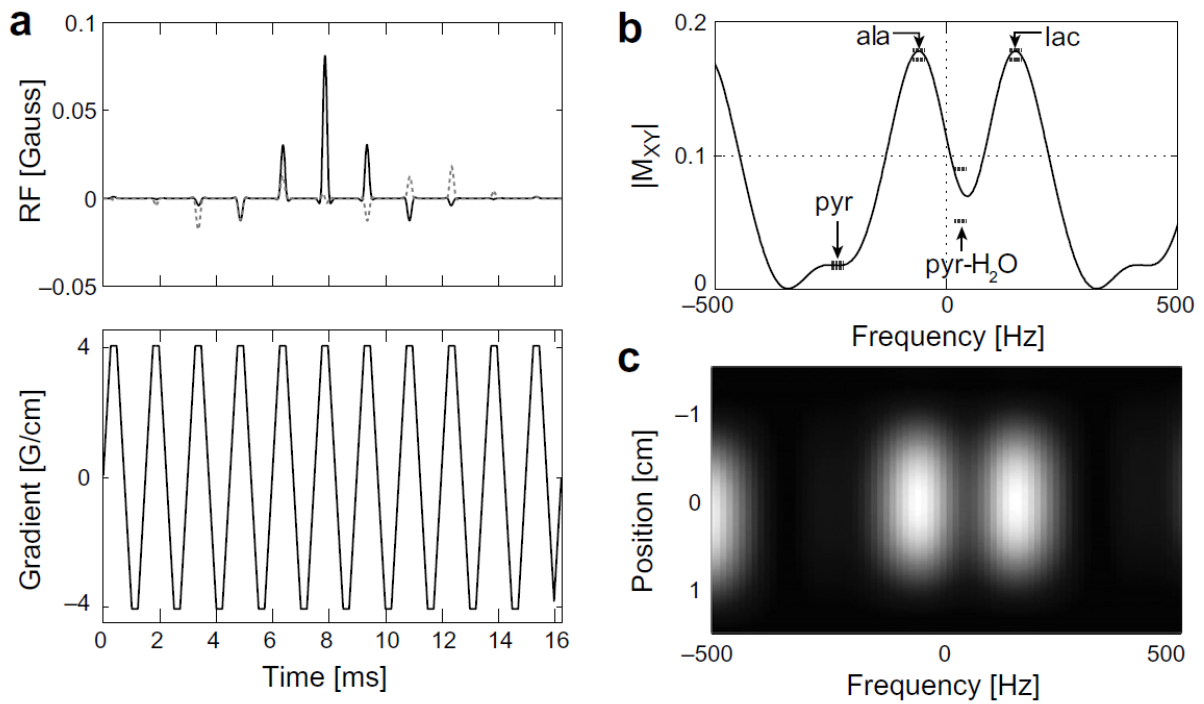


Figure 8 : Impulsion d'excitation multi-bande avec un gradient flyback et une épaisseur de tranche de 15 mm. (a) impulsion RF - composantes réelles (solides) et imaginaires (en pointillés) - et gradient qui l'accompagne. (b) Profil spectral, avec des bandes spécifiées (lignes pointillées) d'angle de bascule de 1° pour le pyruvate (pyr), de 10° pour l'alanine (ala), de 4° pour le pyruvate-hydrate (pyr-H₂O) et de 10° pour le lactate (lac). (c) Profil spectral et spatial. Image reproduite à partir de (Larson et al. 2008) [135].

Ces techniques d'excitation sélective des métabolites sont beaucoup plus sensibles aux inhomogénéités du champ statique B_0 et à la mauvaise calibration de la fréquence centrale des impulsions SPSP. Ces imperfections peuvent décaler la fréquence centrale de l'impulsion, décalant également la bande d'excitation et conduisant à l'accumulation d'une phase supplémentaire perturbant l'étude spectrale. Ces imperfections peuvent également réduire les angles de bascule effectifs en raison de leurs bandes passantes étroites.

Pour étudier le métabolisme rapide à travers l'imagerie spectroscopique du ^{13}C hyperpolarisé, il est nécessaire de choisir la méthode d'imagerie optimale pour répondre aux besoins de l'étude. Les caractéristiques qui seront critiques de ces applications seront la rapidité de la séquence, l'efficacité des impulsions RF (nombre d'impulsions et angle de bascule) et la robustesse des méthodes aux imperfections du champ magnétique.

6. ISRM RAPIDE APPLIQUEE AUX METABOLITES HYPERPOLARISES

Comme déjà décrit dans la section 3, le taux de polarisation atteint grâce à une technique d’hyperpolarisation d’un noyau n’est pas permanent. Ainsi, l’aimantation boostée décroît à la fois à cause de la relaxation longitudinale (T_1) et des impulsions RF appliquées ($FA = \beta$) comme montré dans l’équation (9). Pour bénéficier des avantages de l’hyperpolarisation, il est donc important de prendre en compte ces contraintes. L’étude du métabolisme par imagerie spectroscopique du ^{13}C hyperpolarisé nécessite alors une stratégie d’excitation et d’acquisition convenable pour avoir un nombre minimal d’impulsions RF et acquérir rapidement les données avant la disparition du signal HP.

Tout d’abord, les méthodes appartenant à la famille d’imagerie spectroscopique sans *a priori* ne sont pas considérées dans le cas de notre étude, et cela pour plusieurs raisons. Il est évident que la CSI conventionnelle n’est pas adaptée à cause d’un temps d’acquisition trop long. La dépendance entre la résolution spectrale et spatiale des approches aux gradients de lecture commutés en fait de mauvais candidats dans le cadre d’étude au ^{13}C hyperpolarisé, d’autant plus si les études sont réalisées à haut champ magnétique.

Ensuite, l’imagerie spectroscopique spécifique aux métabolites (SPSP) offre l’avantage d’une acquisition très rapide en excitant uniquement les métabolites étudiés. Cependant, cette méthode est sensible aux inhomogénéités du champ magnétique, inhomogénéités accentuées avec des champs magnétiques élevés. De plus, de telles impulsions sont compliquées à la fois à désigner et à mettre en place sur les imageurs.

Enfin, l’imagerie spectroscopique basée sur un modèle, type IDEAL, permet d’acquérir les données en quelques secondes en fonction du nombre d’incrément du TE nécessaire. Cette résolution temporelle, bien que plus faible que pour l’imagerie spectroscopique spécifique des métabolites, convient parfaitement pour les études en hyperpolarisation. La connaissance *a priori* des métabolites attendus et donc de leurs fréquences de résonance permet d’optimiser l’incrément des temps d’écho et de réduire le nombre d’impulsions RF. Cette méthode est moins sensible aux inhomogénéités du champ magnétique que celle spécifique aux métabolites, car une large bande spectrale est excitée et l’algorithme de reconstruction est basé sur les différences de fréquences.

Les particularités de chacune des méthodes d’imagerie spectroscopique sont présentées dans la **Erreur ! Source du renvoi introuvable..**

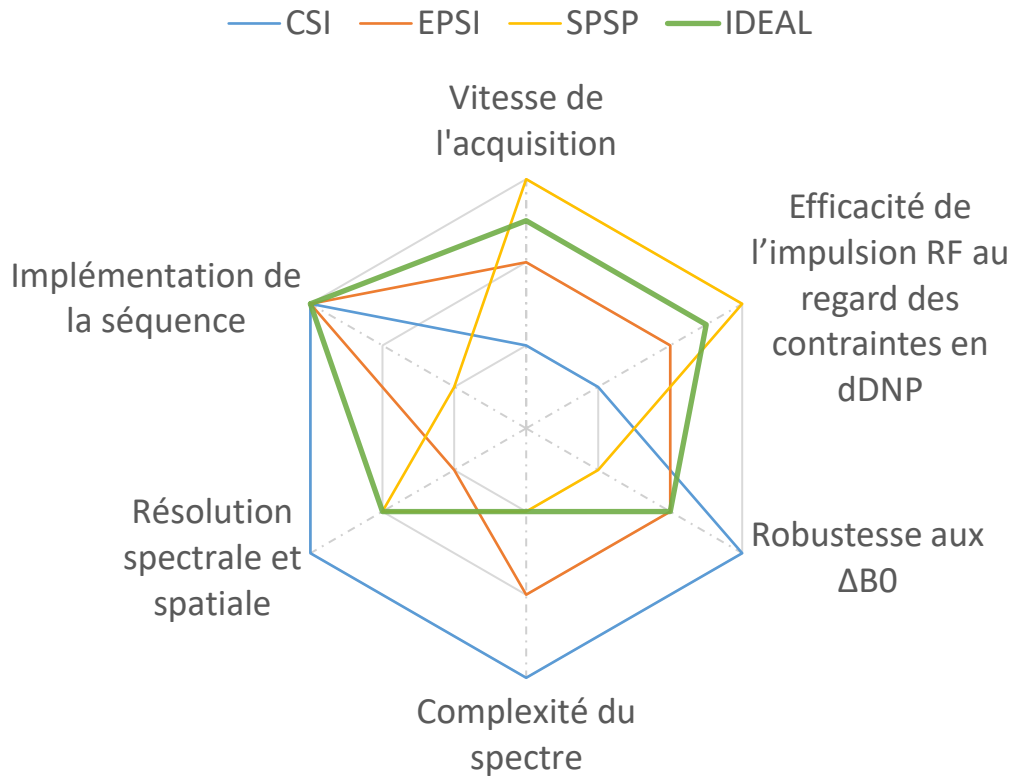


Figure 9 : Graphique des traits principaux des différentes méthodes d'imagerie spectroscopique.

L'imagerie spectroscopique basée sur un modèle semble offrir le meilleur compromis entre la vitesse d'acquisition, l'efficacité des impulsions, la sensibilité aux inhomogénéités du champ et la simplicité de mise en œuvre. L'imagerie spectroscopique rapide IDEAL 2D en ^{13}C à encodage non-cartésien a été développée, et son implémentation ainsi que son optimisation sont décrites dans le Chapitre III.

Les méthodes d'imagerie spectroscopique rapide peuvent être aussi utilisées pour l'étude d'autres noyaux conduisant à des spectres clairsemés comme le ^{23}Na . De plus, la méthode d'imagerie spiralée peut être avantageuse pour l'étude spectrale des noyaux ^{23}Na ayant des temps de relaxation transversale T_2 très courts.

CHAPITRE II – ETAT DE
L'ART : RESONANCE
MAGNETIQUE NUCLEAIRE DU
 ^{23}Na

1. INTRODUCTION

En biologie, le sodium est l'un des électrolytes les plus importants et il joue un rôle essentiel dans l'osmorégulation chez l'homme et en physiologie cellulaire [136]. La concentration du sodium dans l'espace intracellulaire est un dixième de celle dans l'espace extracellulaire (10-15 contre 100-150 mmol.L⁻¹). Cet important gradient de concentration entre les cellules et l'espace extracellulaire est une condition préalable au bon fonctionnement des cellules. Il est maintenu principalement par la pompe sodium-potassium dépendante de l'énergie (Na⁺/K⁺-ATPase) [137]. Tout dommage à l'intégrité de la membrane cellulaire ou des perturbations du métabolisme énergétique peuvent entraîner une altération de la pompe sodium-potassium, avec pour conséquence une augmentation de la concentration de sodium intracellulaire et un dysfonctionnement pouvant conduire à une éventuelle mort cellulaire. Par exemple, au niveau cérébral, de nombreuses pathologies neurodégénératives sont associées à un dysfonctionnement mitochondrial et à une altération du fonctionnement de la pompe Na⁺/K⁺-ATPase entraînant une entrée massive de sodium au sein de l'axone [138,139]. Des atteintes du fonctionnement de la pompe sodium-potassium sont également décrites dans les accidents vasculaires cérébraux [140], dans des pathologies cardiaques [141], musculosquelettiques [142] et en cancérologie [143]. Ainsi la caractérisation de la distribution du sodium dans les tissus vivants peut révéler des informations importantes sur l'état d'un organisme.

Dans les aliments, le rôle du sel est majeur tant sur le plan sanitaire avec son rôle clé pour la conservation [144] que sur celui du goût [145]. Pour maîtriser ces deux volets, il est nécessaire de connaître la quantité et la répartition du sel dans les aliments durant l'ensemble des procédés de transformation industriels et des préparations domestiques. Cette connaissance est nécessaire sur le plan sanitaire, pour s'assurer qu'il y ait suffisamment de sel en tout point du produit, quand la conservation est basée sur la présence du sel, comme dans les fromages ou les charcuteries. Dans ce type de produits, les concentrations en sodium sont plus élevées que dans les tissus biologiques, de 500 à 800 mmol.L⁻¹ environ. Sur le plan sensoriel, il est connu [146] que la répartition du sel joue un rôle crucial dans la sensation salée : à quantité de sel total égale, la sensation salée est plus importante si la répartition est hétérogène. Avec l'augmentation de la part des produits transformés dans notre alimentation, la consommation de sel est devenue excessive dans nos sociétés et l'organisation mondiale de la santé (OMS) [147] recommande une

diminution de 30% de la consommation de sel. Il est en effet reconnu qu’il augmente fortement les risques pour certaines maladies, principalement celles liées à l’élévation de la pression artérielle [148]. La connaissance de la quantité et de la répartition du sel dans les aliments est donc particulièrement importante pour mettre en œuvre des solutions visant la diminution des quantités de sel ingérées.

Pour atteindre sa localisation en 3D, deux voix existent : la modélisation mathématique de la diffusion du sel pendant les transformations des produits et la mesure expérimentale. La modélisation mathématique s’appuie souvent sur d’importantes simplifications de la structure des produits qui n’est donc pas complètement prise en compte. Quand le modèle mathématique n’existe pas, la solution reste la mesure locale de la répartition du sel à un moment donné du procédé. En agroalimentaire, les méthodes de dosage sont destructives, longues et peu résolues spatialement comme les dosages par chromatographie ionique [149].

Qu’il s’agisse de l’étude du sodium en recherche clinique ou préclinique, ou en sciences des aliments, les systèmes étant hétérogènes, la localisation est une information indispensable. Le sodium étant sensible à la RMN, l’imagerie est alors une technique de choix pour caractériser la répartition et l’interaction du sodium avec son environnement. C’est pourquoi, l’état de l’art abordera successivement la physique générale de la RMN du ^{23}Na puis l’imagerie. Nous verrons enfin que la caractérisation détaillée de la relaxation dans les aliments est une étape indispensable avant toute mise en œuvre de l’IRM quantitative. La caractérisation dans les systèmes biologiques *in vivo* ne sera pas abordée car elle est déjà bien établie dans la littérature.

2. THEORIE DE LA RMN DU ^{23}Na

Le sodium ^{23}Na a une abondance naturelle de 100% et possède un spin 3/2. Il est donc un noyau quadripolaire dont les spins se répartissent sur quatre niveaux d’énergie. Les interactions entre les charges du noyau et les gradients du champ électrique (GCE) environnants entraîne des interactions dites quadripolaires [150,151]. Dans ce cas-là, les trois transitions entre les niveaux d’énergie deviennent différentes. Dans les liquides, ces interactions sont ramenées à zéro et donc l’égalité des transitions est maintenue et un unique singulet est détecté. Dans les tissus biologiques, il existe des interactions quadripolaires qui se matérialise par une décroissance bi-exponentielle du signal RMN.

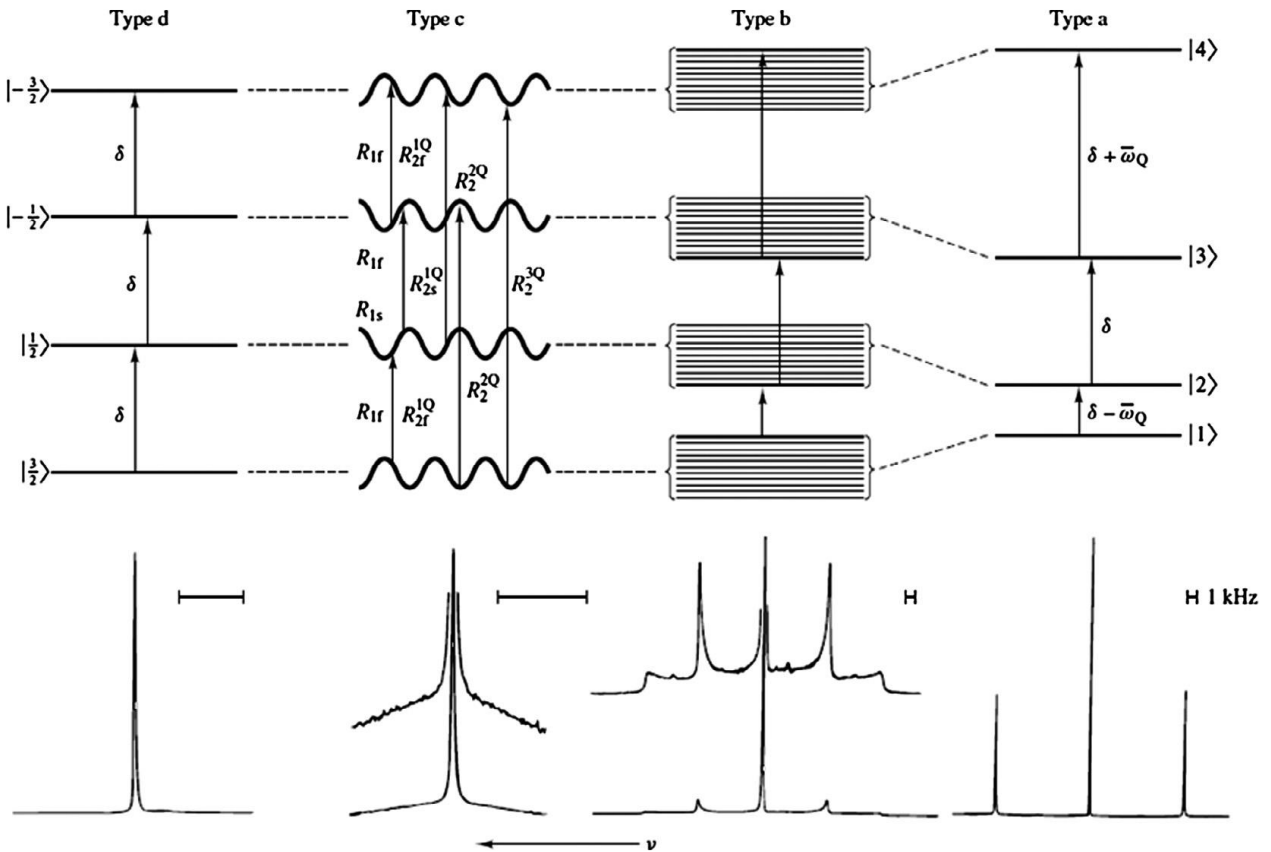


Figure 10 : Diagrammes de niveaux d'énergie pour les systèmes isolés de spin 3/2 décrivant les quatre situations possibles (a, b, c et d). Image reproduite à partir de (Rooney et al. 1991) [165].

La Figure 10 montre les différentes situations quantiques et les spectres simple quanta (c'est-à-dire, observés sans filtre de cohérence) correspondants pour le ^{23}Na en fonction de son environnement. Tout d'abord, deux cas extrêmes peuvent être considérés : prédominance des interactions quadripolaires (type a) ou absence de celles-ci (type d). En absence d'interactions quadripolaires ou dans le cas de fluctuations extrêmement rapides, toutes les transitions sont équivalentes et un seul pic et une seule vitesse de relaxation sont observés (type d). A l'opposé, lorsque les interactions quadripolaires sont bien définies (type a), l'effet de ce GCE est exprimé dans le terme de fréquence angulaire de couplage quadripolaire ν_Q moyenné dans le temps et dans l'espace ; où trois raies séparées d'une distance de ν_Q et d'intensité relative 3:4:3 apparaissent. En effet, les transitions énergétiques satellites sont modifiées alors que la transition centrale reste intacte. Pour un échantillon contenant une distribution de couplages quadripolaires non homogène dans le temps ou dans l'espace, des décalages de niveaux d'énergie apparaissent (type b et c). Le type c est le cas le plus courant dans les tissus biologiques. Il illustre l'effet d'interactions quadripolaires rapidement fluctuantes par rapport à l'échelle de temps d'une séquence RMN. Il n'y a plus de séparation des raies (splitting) mais le système conserve une relaxation bi-

exponentielle, où T_2 rapide et lent possèdent des fractions 3/5 et 2/5 correspondant aux transitions satellites et centrales, respectivement.

3. IMAGERIE DU ^{23}Na

En biomédical, le signal d'IRM ^{23}Na détectable provient généralement de régions à haute teneur en ^{23}Na , telles qu'au niveau du cerveau, du cœur, de la colonne vertébrale, de la vessie et du cartilage (Figure 11) [152]. Depuis les premières expérimentations en IRM du sodium, de nombreuses études ont été réalisées sur le cerveau, d'abord pour montrer la faisabilité de l'IRM cérébrale quantitative du sodium, puis pour évaluer son utilisation possible dans des pathologies telles que des tumeurs [75,153,154], des accidents vasculaires cérébraux [155] ou la maladie d'Alzheimer [156]. Cette technique a aussi été utilisée pour diverses applications telle que l'ostéoarthrite [157], l'évaluation de la réparation du cartilage [158] ou la détection des changements biochimiques précoces dans le disque intervertébral dus à sa dégénérescence [159,160]. L'IRM du sodium a également le potentiel de fournir des informations sur la physiologie musculaire, chez le sujet hypertendu [161,162]. Elle est enfin un bon candidat pour la détection de l'infarctus cardiaque en mesurant l'augmentation localisée de la teneur en sodium dans les tissus cardiaques et ainsi aider à différencier les tissus viables des non viables [163,164].

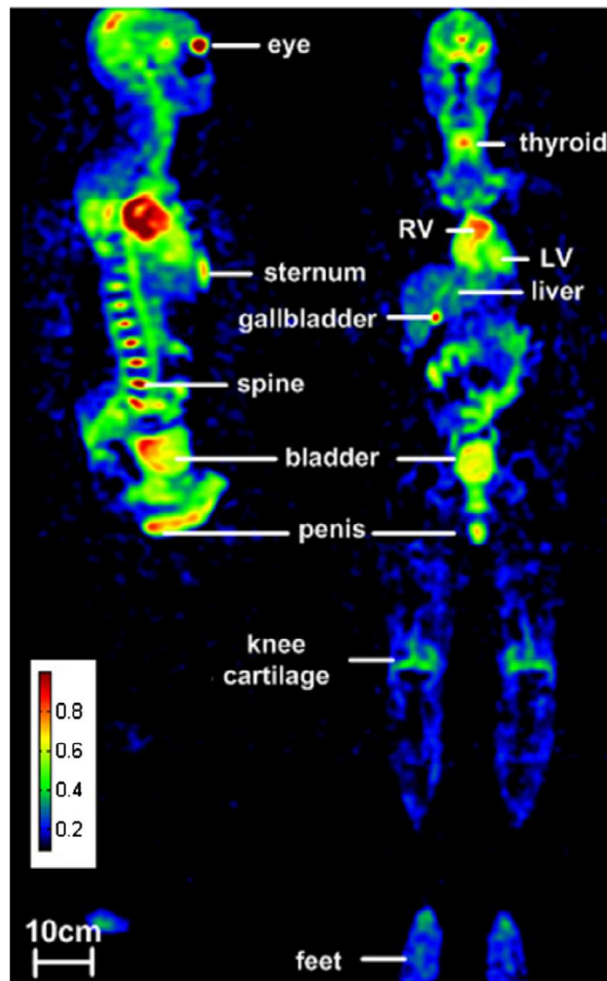


Figure 11 : Image qualitative en IRM du ^{23}Na à 3T du corps entier d'un volontaire humain en vues (gauche) sagittale et (droite) coronale. Image reproduite à partir de (Wetterling et al. 2012) [152].

Alors que les applications de l'IRM du proton aux sciences des aliments sont nombreuses, celles de l'IRM du sodium sont plus rares, principalement à cause des difficultés liées à la faible sensibilité relative du sodium par rapport au proton et au moment électrique quadripolaire du noyau sodium qui donne lieu à des temps de relaxation transversale T_2 à la fois courts et multiples [165,166]. En dépit de la faible sensibilité du noyau, la résolution spatiale doit permettre d'apprécier les variations spatiales de quantité de sel qui dépendent de la structure du produit (par exemple le gradient de sel dans un jambon en cours de salage dépend de la présence de tranches grasses). La résolution temporelle doit quant à elle permettre de suivre l'évolution de la répartition du sel au cours d'un procédé. Quelques résultats ont déjà été obtenus en IRM du sodium appliquée aux produits alimentaires. Ishida et al ont suivi pendant 6 jours la diffusion du sel lors de la conservation d'un concombre dans de la pâte de soja fermentée [167]. Ces images ont été obtenues à 6.3T avec un volume de voxels de $0.8 \times 0.8 \times 8 \text{ mm}^3$ et des teneurs en sel très élevées (1 M). Les auteurs concluent à la fois sur la nécessité de développer des séquences à TE courts pour accéder à l'ensemble de ions Na^+ , notamment les plus liés, et d'utiliser des antennes plus

performantes. L’équipe norvégienne du SINTEF a largement approfondi la question de l’optimisation du salage du poisson en utilisant l’imagerie quantitative du sodium dans l’étude du salage et dessalage du poisson, tel que le saumon ou la morue [168-170]. La Figure 12 présente des images quantitatives du sodium des filets de saumon salés dans lesquels des gradients de ^{23}Na sont observés, montrant la diffusion progressive du sel dans le muscle [168]. Les images montrent ici que le stress induit par une euthanasie sans anesthésie altère la structure tissulaire favorisant la diffusion du sel. L’importance de la méthode de salage sur la répartition du sel à l’intérieur du muscle a également été étudiée [22]. Cette technique a aussi été utilisée pour caractériser le séchage de la viande [171] et pour comprendre comment la graisse sous-cutanée peut limiter la diffusion du sel dans le saumon [172].

Comme nous l’avons vu précédemment, en IRM, les images sont obtenues à un temps caractéristique (le TE) qui est le plus souvent non négligeable par rapport au temps de relaxation transversal T_2 du sodium. Par conséquent, si les images ne sont pas corrigées de l’effet de la relaxation, elles sous-estiment la quantité de sodium [173,174]. Veliyulin et al. se sont particulièrement penchés sur la question de l’invisibilité du sodium le plus lié, celui qui relaxe le plus vite, dans le muscle de poisson salé [175]. Dans cette étude, la perte de signal est d’abord corrigée en faisant une hypothèse de décroissance mono-exponentielle. Cette amplitude corrigée est considérée comme représentant seulement 2/5 du signal total (hypothèse posée : tout le sodium est caractérisé par un type c unique). En dépit de cette correction, la part de sodium invisible est non négligeable et dépend de la concentration en sel. En effet, 89% du sodium est visible pour une morue peu salée et seulement 22% pour un saumon très salé.

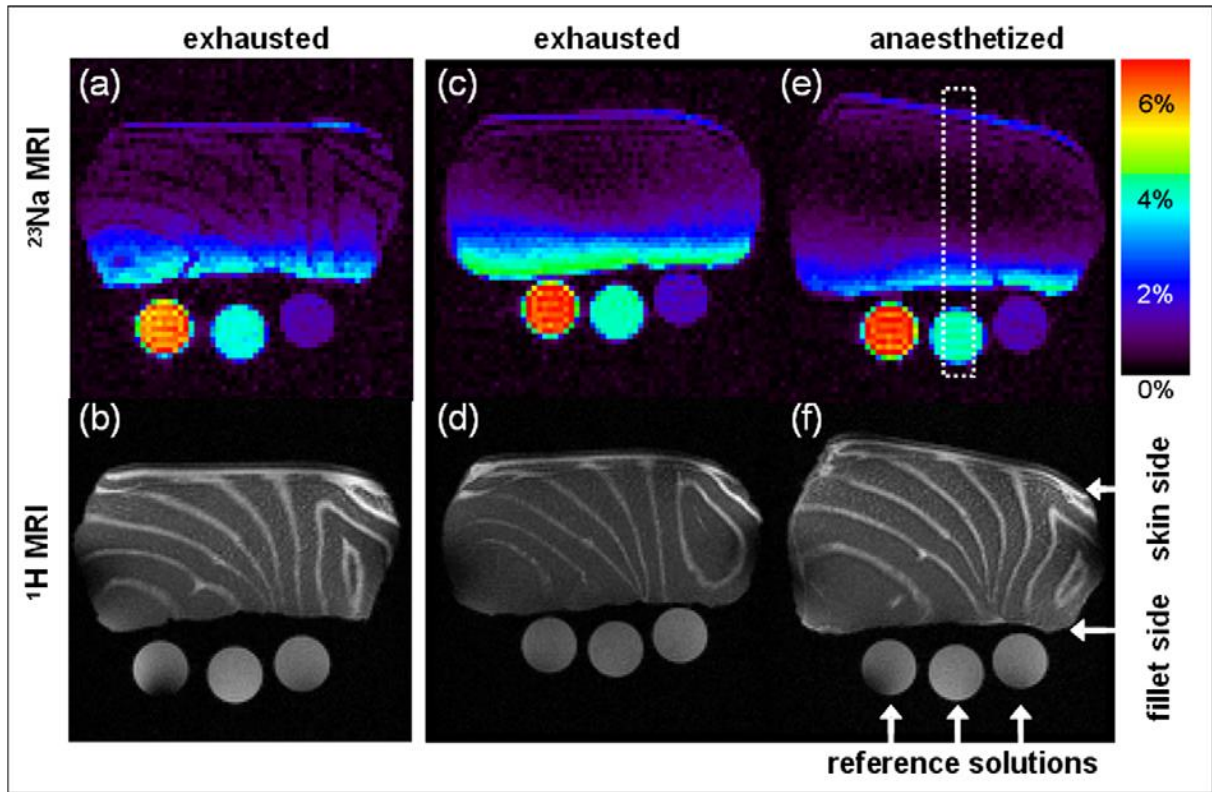


Figure 12 : Images de résonance magnétique du sodium (^{23}Na) et du proton (^1H) de la même tranche transversale de morceaux de filet de saumon de l'Atlantique salés sur la face inférieure. Les poissons ont été euthanasiés soit par épuisement, soit après anesthésie. Les solutions de référence (2%, 4% et 6% de NaCl) (sections de tubes de 10mm) apparaissent dans la partie inférieure de chaque image. Les zones plus claires sur les images IRM ^1H correspondent aux zones riches en graisse. Les épaisseurs de coupe d'images étaient de 2mm pour les images (a) et (b) et de 10mm pour les images (c)–(f). Image reproduite à partir de (Aursand, et al. 2010) [168].

Les méthodes d'IRM classiques n'incluent pas de filtre de cohérence. Dans ce cas, le signal imagé est un mélange des trois transitions simple quanta. Les méthodes incluant des filtres peuvent en revanche permettre de visualiser directement les compartiments très liés, c'est-à-dire ceux donnant lieu à des interactions quadripolaires (type a, b ou c). Pour sélectionner les cohérences double ou triple-quanta, l'approche standard est fondée sur une séquence incluant trois impulsions [176] :

$$(\beta_1)_{\phi_1} - t_1 - (\beta_2)_{\phi_2} - t_2 - (\beta_3)_{\phi_3} - t_3 - \text{Acq},$$

avec β l'angle et ϕ la phase de bascule. Cette séquence est minimale pour créer des cohérences DQ et TQ observables : $(\beta_1)_{\phi_1}$ pour l'excitation hors de l'état d'équilibre, t_1 pour faire apparaître les tenseurs de rang 1 à 3, $(\beta_2)_{\phi_2}$ pour "transférer" les rangs en ordres et donc obtenir des cohérences SQ, DQ et TQ, $(\beta_3)_{\phi_3}$ pour les rendre détectables avec un ordre -1, t_3 pour que les rangs évoluent par relaxation en tenseurs détectables $T_{1,-1}$. Après t_3 , toutes les cohérences sont détectables et mélangées. Un cycle de phase permet alors de sélectionner seulement les cohérences à double ou triple quanta.

L’approche la plus simple pour implémenter cette séquence en IRM est de conserver la séquence intacte (impulsions non-sélectives, cycle de phase adéquat) et d’ajouter un encodage spatial 3D après t_3 [177,178]. Toutes les approches d’encodage sont potentiellement applicables mais, comme nous l’avons vu plus haut, les approches à TE court sont préférables pour minimiser les pertes de SNR dues à la relaxation transversale T_2 rapide du sodium. Pour cela, un grand nombre de trajectoires sont possibles afin d’optimiser la densité d’échantillonnage de l’espace-k 3D [179].

Ces techniques sont difficiles à mettre en œuvre en raison de la sensibilité des filtres multi-quanta aux hétérogénéités de champ B_0 et B_1 . Au milieu de la période t_1 , il est classiquement proposé pour s’affranchir des hétérogénéités du champ B_0 d’appliquer une impulsion de re-focalisation ou d’utiliser des cycles de phase à 12 pas [180]. En raison de l’enchaînement des impulsions, l’amplitude du signal MQ est particulièrement sensible aux variations spatiales du champ radiofréquence B_1 ($S \propto \sin^5\beta$) [181]. Une correction est donc indispensable, en particulier lorsque les champs de vue sont de l’ordre de grandeur de la longueur d’onde, ce qui est souvent le cas à haut-champ, car ce sont des conditions propices à d’importantes hétérogénéités spatiales du champ B_1 . Pour cela, le champ B_1 doit être cartographié en sodium [182] et une correction effectuée sur les images MQ *a posteriori*.

4. ANALYSE DES INTERACTIONS DU ^{23}Na DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES

La quantification des interactions quadripolaires en agroalimentaire considère généralement que les interactions observées sont du même type que celles observées dans les milieux biologiques (Figure 10, type c). Ceci n’est pas complètement juste. En effet, dans les tissus biologiques, les concentrations du sel sont très faibles (10-150 mmol.L⁻¹) par rapport à celles observées dans les produits alimentaires salés (100-800 mmol.L⁻¹). De plus, la nature des matrices est très différente : dans les aliments les matrices sont d’origines animales, végétales et plus ou moins transformées, plus ou moins séchées, etc... Les temps de relaxation T_2 rapide et lent observés dans les produits alimentaires peuvent donc être plus courts que dans les tissus animaux *in vivo*, et différentes compartimentations du sodium peuvent apparaître. Les temps de relaxation sont parfois tellement courts que la caractérisation des états de liaison du ^{23}Na est difficile à réaliser en imagerie. Le passage à une étude spectroscopique s’impose alors. Plusieurs auteurs ont suivi cette approche sur des produits alimentaires réels ou des modèles d’aliments. Par exemple, les relations entre les propriétés RMN du sodium et la structure et la composition ont été largement étudiées, dans le fromage [21,183], mais également dans une émulsion modèle [18]. Une application intéressante de ces études est la mise en évidence d’une corrélation entre la liaison des ions

sodium à la matrice et la perception salée. L’hypothèse est qu’un ion Na^+ moins lié sera libéré plus facilement en bouche et contribuera plus significativement à la perception salée. Cette hypothèse a été vérifiée sur des gommages alimentaires [19] et un modèle de fromage [184,185]. Enfin, la spectroscopie RMN DQ a permis d’optimiser la fabrication de pain à basse teneur en sel tout en préservant le niveau de perception du sel [186]. Pour préserver le goût, il faut préserver la quantité d’ions libres dans le produit, et pour cela, l’utilisation d’un sel liquide ou encapsulé est meilleure que le sel sec, si l’incorporation est faite en début de pétrissage. Par contre, ce qui préserve le mieux la fraction d’ions Na^+ libres est l’incorporation du sel en fin de pétrissage. Parallèlement à ces travaux basés sur l’étude des relaxations simple et doubles quanta du sodium, une étude récente s’appuie sur la mesure de la diffusion du sodium pour expliquer les modulations de la perception salée [187]. Les conclusions sont cohérentes : un coefficient de diffusion plus élevé des ions Na^+ conduit, comme des T_2^* plus élevés, à une perception supérieure du goût salé. Il semblerait donc que dans la perception du goût salé, l’état de liaison du sel avec la matrice (caractérisé par diffusion et/ou relaxation) ait un rôle important tout comme la quantité de sel et sa répartition.

CHAPITRE III –
DEVELOPPEMENT DE
L'IMAGERIE
SPECTROSCOPIQUE RAPIDE
IDEAL 2D EN ^{13}C NON-
CARTESIENNE

1. INTRODUCTION

Ce chapitre présente les travaux menés pour le développement et l'optimisation d'une méthode d'imagerie métabolique rapide sur le spectromètre à haut champ installé à l'ISC AgroResonance. La méthode développée est basée sur l'IDEAL 2D utilisant un encodage spatial spiralé [118]. De par son efficacité à encoder rapidement à la fois l'information spectrale des spectres clairsemés du ^{13}C et spatiale, c'est une méthode de choix pour l'imagerie réalisée avec du ^{13}C hyperpolarisé. Cette méthode devait me servir par la suite pour l'étude *in vivo* du cycle métabolique Glu/Gln dans le cas de la maladie de Parkinson, en IRM du ^{13}C hyperpolarisé.

Pour mettre en place la méthode d'imagerie spectroscopique, nous nous sommes basés sur la séquence d'imagerie avec un encodage spiralé proposée par le constructeur. Cette acquisition est connue sous le nom de single-shot spiral (SSS) en anglais. Cette séquence a été modifiée en ajoutant les particularités de l'imagerie type IDEAL pour encoder l'information spectrale : répétition du couple excitation-acquisition et incrément du TE.

Après la mise en place de cette méthode, certaines procédures devaient être optimisées. Tout d'abord, l'utilisation d'une trajectoire spiralée a ses défis, et ceux d'autant plus pour les noyaux peu sensibles tel que le ^{13}C . En effet, pour pouvoir reconstruire l'image, il est indispensable de soit connaître la trajectoire réelle soit de s'assurer qu'elle corresponde à la consigne. Ensuite, pour optimiser les TE, les fréquences de résonance doivent être connues *a priori*. Il est donc nécessaire d'acquérir un spectre RMN durant l'expérience. Enfin, durant ce type d'acquisition, la phase acquise ne doit être due qu'aux différents déplacements chimiques des métabolites. Dans la suite de ce chapitre, je détaillerai chacun de ces trois points.

2. MAITRISE DE LA TRAJECTOIRE EN ^{13}C

La trajectoire spiralée $\mathbf{k}(t)$ utilisée dans ce travail pour échantillonner l'espace-k est une spirale d'Archimède [188,189] générée par un gradient $\mathbf{G}(t)$ ayant une variation temporelle telle que :

$$\mathbf{k}(t) = k_x(t) + ik_y(t) = \lambda\theta(t)\exp(i\theta(t)). \quad (13)$$

où $\theta(t)$ est une fonction temporelle donnant l'angle instantané. Le propre d'une spirale d'Archimède est que le rayon est proportionnel à l'angle selon un rapport $\lambda = M/(2\pi\text{FOV})$ où M est le nombre de spirales entrelacées et FOV la taille du champ de vue carré. Cette étude expérimentale se focalise uniquement sur la trajectoire qu'il est possible de réaliser avec le système de gradients utilisé. En effet, les démarches de correction fondées sur la mesure du gradient effectif au niveau de l'échantillon nécessitent des dispositifs particuliers et celles fondées sur des acquisitions de calibration préalables ne sont pas applicables en ^{13}C . Par conséquent, tous les effets *d'off-résonance* dus à l'échantillon seront négligés.

Les gradients possèdent trois caractéristiques : une intensité maximale G_0 , un temps de montée maximal S_0 et une fréquence maximale F_0 . Pour tout système de gradient, les deux premiers facteurs sont connus. Pour l'imageur sur lequel j'ai mené mes travaux, $G_0 = 760 \text{ mT.m}^{-1}$ et $S_0 = 4874 \text{ T.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$. En revanche, la fréquence limite (ou fréquence de coupure) F_0 n'est pas connue. La démarche expérimentale consistera donc à estimer F_0 en comparant dans le domaine fréquentiel la trajectoire réelle à celle appliquée. Pour cela, il faut être capable de mesurer la trajectoire, c'est pourquoi cette phase sera réalisée en ^1H . La validation en ^{13}C se fera en imagerie au moyen d'un fantôme enrichi.

Que ce soit pour la phase d'estimation de F_0 ou de la validation en respectant la contrainte de fréquence maximale, il faut disposer d'une technique permettant de maîtriser la fréquence maximale $F_{\max}$ de la trajectoire spirale. Pour cela, l'algorithme à trois domaines a été utilisé [190]. Il est fondé sur une première période limitant uniquement la fréquence telle que :

$$\theta(t) = (2\pi F_{\max} t)^2 / (3.35 + 2\pi F_{\max} t). \quad (14)$$

Pendant cette période, le temps de montée et l'amplitude du gradient croissent. Lorsque le temps de montée $S(t)$ atteint la valeur limite S_0 , la trajectoire est optimisée pour évoluer avec $S(t) = S_0$ (second domaine). Enfin, la trajectoire s'achève à $k_{\max}$ à amplitude de gradient maximale (troisième domaine). De cette manière, les trois contraintes sont toujours respectées et la durée de la trajectoire est minimisée. $k_{\max}$ dépend de la résolution spatiale choisie. Une trajectoire mesurée en ^1H pour un fantôme « tête de rat » est présentée dans la Figure 13 ainsi que les gradients correspondants. La trajectoire est générée avec un gradient d'intensité maximale de $G_{\max} = 186 \text{ mT.m}^{-1}$ (soit inférieur à G_0), une vitesse maximale de $S_{\max} = 4387 \text{ T.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (inférieur à S_0) et une fréquence maximale de $F_{\max} = 4000 \text{ Hz}$. Un champ de vue de $\text{FOV} = 50 \text{ mm}$ et une image de dimension $N_x = N_y = 64$ ont été choisis conduisant à $k_{\max} = 0.64 \text{ mm}^{-1}$. L'algorithme génère une trajectoire de 32 tours et d'une durée de 10.4 ms.

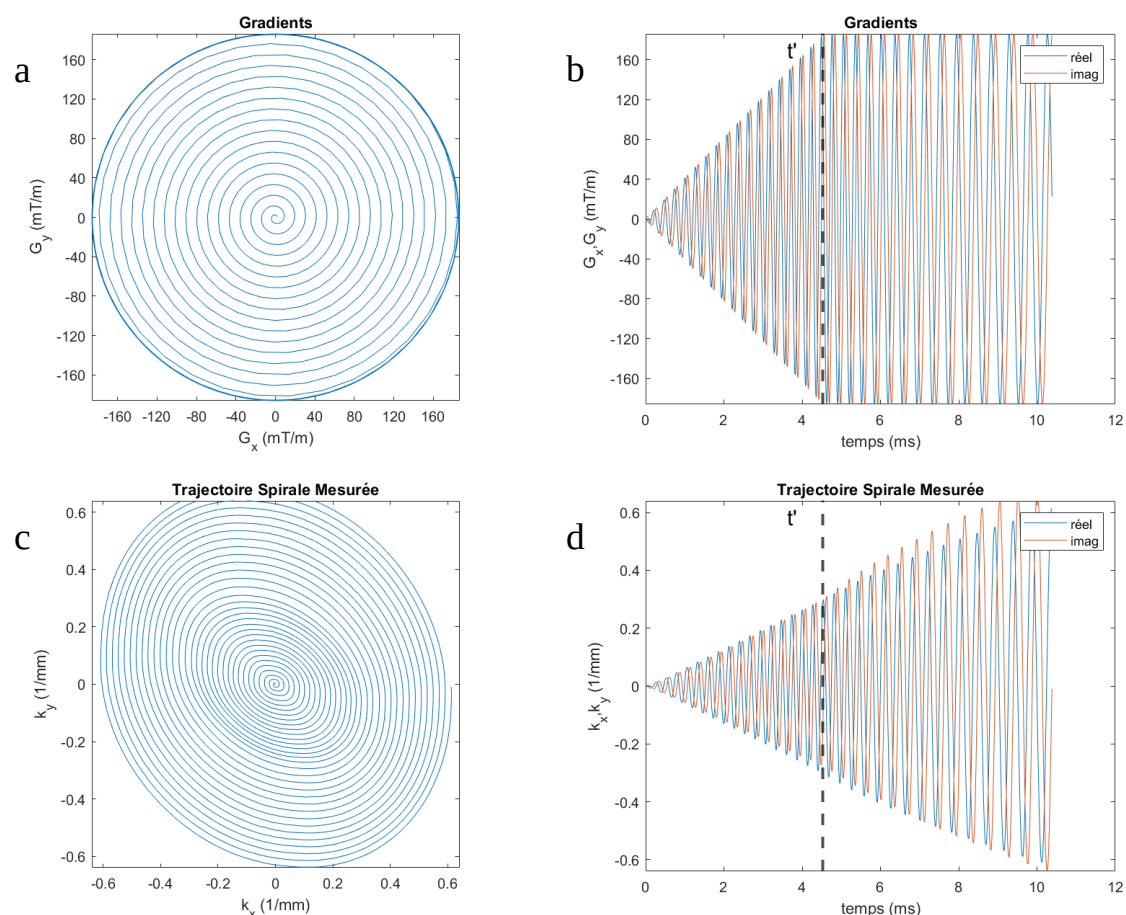


Figure 13 : (a-b) Intensités des gradients et (c-d) trajectoires spirales correspondantes. Les tracés représentent (a, c) l'évolution des paramètres dans les dimensions x et y tandis que (b, d) l'évolution des paramètres au cours du temps avec en rouge les tracés correspondant à x et en bleu ceux à y. La ligne en pointillée noire représente le temps auquel une cassure est observée dans l'évolution des paramètres.

La Figure 13c montre que la trajectoire expérimentale a une forme ovoïde plutôt que circulaire comme attendue. De plus, ces tracés permettent de distinguer le passage entre le premier et le deuxième domaine. Les gradients et les trajectoires théoriques et mesurées pour différentes valeurs de $F_{\max}$ sont présentées dans la Figure 14. Les paramètres de ces trajectoires sont résumés dans le Tableau 3.

Tableau 3 Paramètres des gradients ainsi que de la trajectoire spirale générée en ^1H pour différentes fréquences maximales.

	Fréquence maximale des gradients d'encodage (Hz)		
	1000	2000	4000
Amplitude de gradient limite du système G_0 (mT.m $^{-1}$)	760		
Amplitude de gradient maximale de l'acquisition $G_{\max}$ (mT.m $^{-1}$)	93	183	186

Vitesse de montée limite du système S_0 ($\text{T.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	4874		
Vitesse de montée maximale de l'acquisition S_{max} ($\text{T.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	4387		
Durée de l'acquisition (ms)	32.5	16.5	10.4
Nombre de points dans la trajectoire N_p	13004	6608	4153
FOV, N_x , N_y , k_{max} , N_T	50 mm, 64, 64, 0.64 mm^{-1} , 32		

L'augmentation de la fréquence maximale d'entrée diminue la durée de la trajectoire et donc le nombre de points puisque le délai entre deux échantillons est constant (Tableau 3). Nous remarquons également sur la Figure 14 que la déformation de la trajectoire (comparaison entre la trajectoire théorique et mesurée) semble plus accentuée au centre de l'espace de Fourier, c'est-à-dire pendant la première période. L'erreur quadratique moyenne (EQM) a été calculée pour comparer la trajectoire réelle mesurée à celle théorique. L'EQM (mm^{-2}) est définie comme suit :

$$\text{EQM} = 1/2n \sum^i \left[\left(k_x^{\text{th}}(i) - k_x^{\text{ms}}(i) \right)^2 + \left(k_y^{\text{th}}(i) - k_y^{\text{ms}}(i) \right)^2 \right]. \quad (15)$$

avec $1 \leq i \leq N_p$, $(k_x^{\text{th}}, k_y^{\text{th}})$ et $(k_x^{\text{ms}}, k_y^{\text{ms}})$ sont les positions dans l'espace k à l'index temporel i sur les trajectoires théorique et mesurée, respectivement. Les EQMs des différentes trajectoires sont présentées dans le Tableau 4. Les résultats montrent que l'erreur augmente quasi-linéairement avec F_{max} , ce qui confirme le comportement « passe-bas » du système de gradients.

Tableau 4 Erreurs quadratiques moyennes entre les trajectoires théoriques et mesurées en ^1H pour différentes fréquences maximales.

	Fréquence maximale des gradients d'encodage (Hz)		
	1000	2000	4000
Erreur quadratique moyenne entre les trajectoires réelle et théorique EQM ($10^3.\text{mm}^{-2}$)	0.99	2.07	4.81

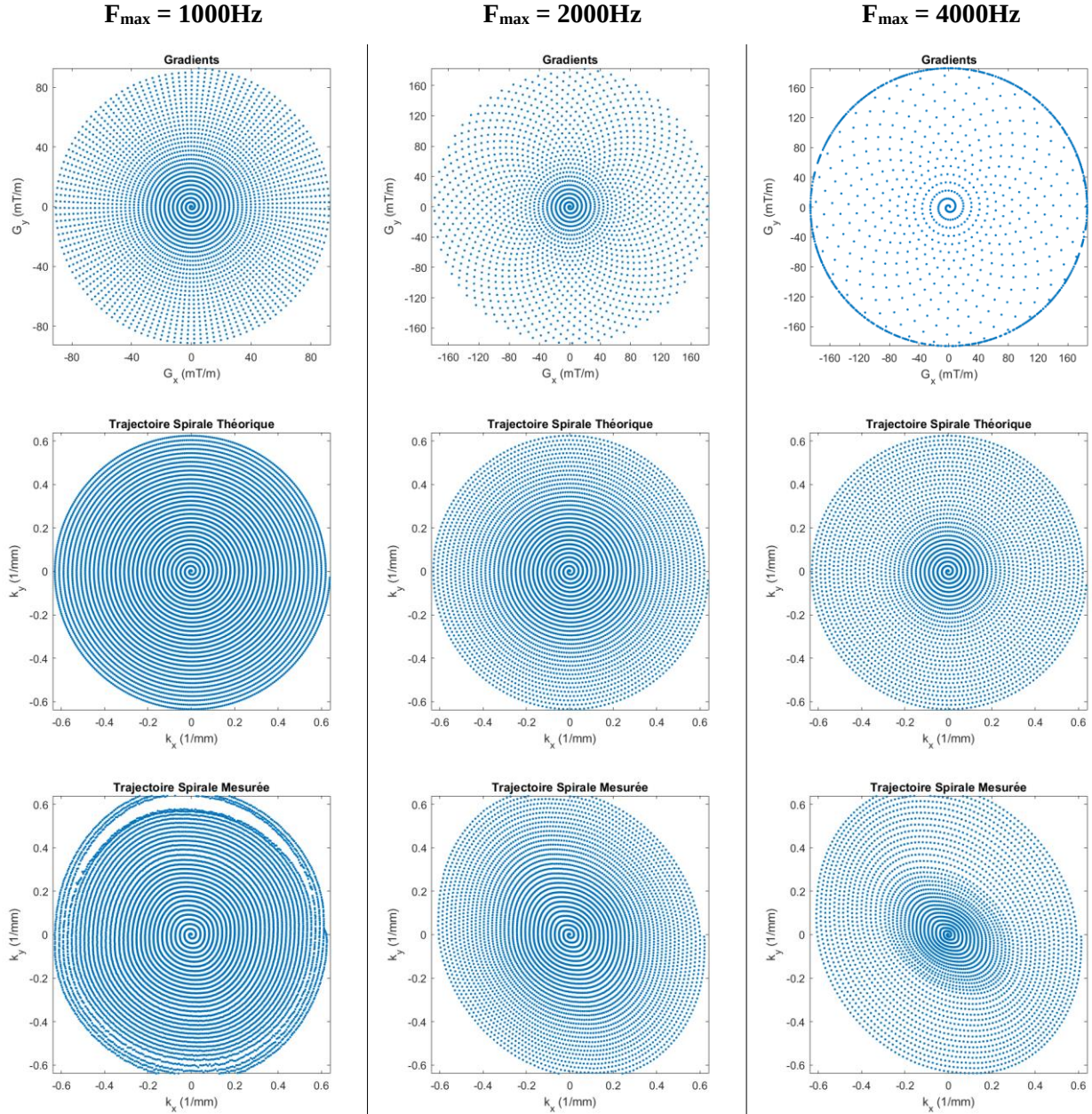


Figure 14 : Les gradients (1^{ère} ligne) et les trajectoires spiralées théoriques (2^{ème} ligne) et mesurées (3^{ème} ligne) correspondants aux différentes fréquences maximales des gradients $F_{\max}$.

Une façon plus directe pour identifier une éventuelle fréquence de coupure (F_0) est de représenter les trajectoires dans le domaine fréquentiel. Pour cela, la trajectoire est considérée sous une forme complexe $\mathbf{k}(t) = k_x(t) + ik_y(t)$ puis la TF est appliquée. La Figure 15 compare le contenu fréquentiel de la trajectoire théorique et mesurée pour une valeur de $F_{\max}$ de 4000 Hz. Pour mieux appréhender ces différences, l'erreur relative est également tracée. La trajectoire obtenue montre la présence de plusieurs pics, caractéristique d'une conception à trois domaines, et que la valeur de $F_{\max}$ est respectée. Ceci est une vérification expérimentale de l'efficacité de l'algorithme pour maîtriser les trajectoires. Les erreurs

relatives entre la trajectoire théorique et mesurée augmentent avec la fréquence. Nous remarquons que jusqu'à une fréquence d'environ 2300 Hz les erreurs sont faibles mais qu'elles augmentent au-delà. D'après ces résultats, nous pouvons en conclure que la fréquence de coupure F_0 est de l'ordre de 2300 Hz.

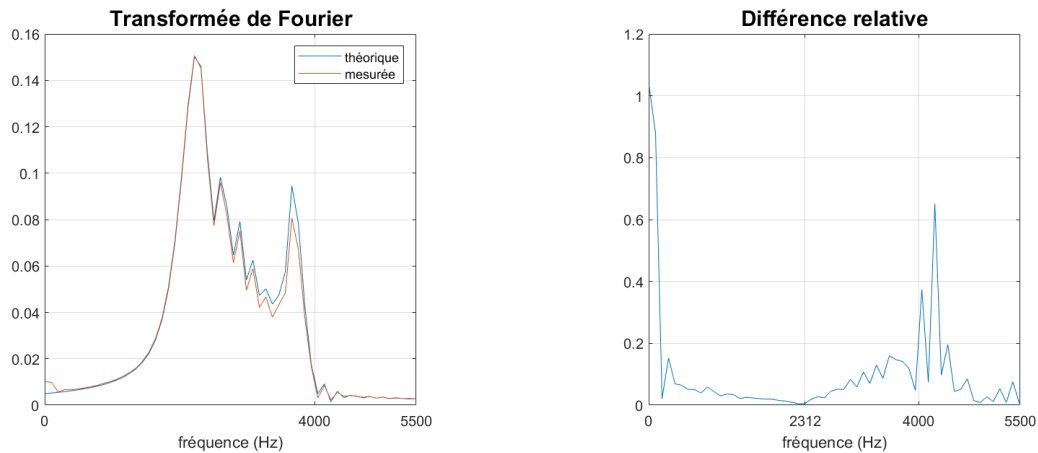


Figure 15 : Transformée de Fourier des trajectoires spirales théorique (bleue) et mesurée (rouge) en ^1H pour une fréquence maximale des gradients de 4000Hz, ainsi que leurs erreurs relatives.

Pour valider le travail de l'optimisation de la trajectoire, l'imagerie métabolique rapide utilisant notre séquence a été appliquée sur un fantôme ^{13}C pour deux valeurs de F_{max} , 1000 et 4000 Hz. Le fantôme était composé de quatre seringues remplies soit d'acide $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvique (16,4 M, $\delta = 0$ Hz), de $[1-^{13}\text{C}]$ lactate (4 M, $\delta = 985$ Hz), de $[1-^{13}\text{C}]$ alanine (1,85 M, $\delta = 135$ Hz) ou de $[1-^{13}\text{C}]$ urée (16,4 M, $\delta = -1500$ Hz) fixée dans 10% de gélatine. Les images métaboliques en ^{13}C , reconstruites à partir d'une trajectoire théorique, ont été superposées avec l'image de référence en ^1H (Figure 16).

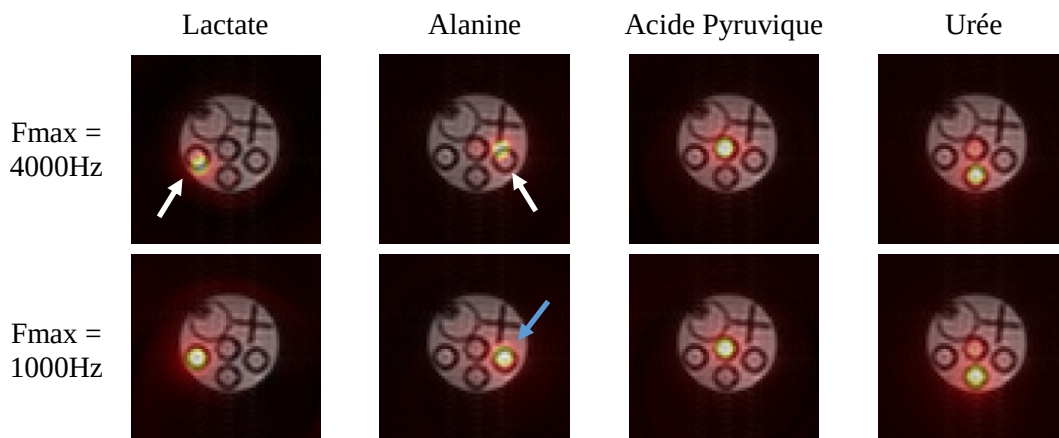


Figure 16 : Reconstruction des cartes métaboliques en ^{13}C pour le lactate, l'alanine, l'acide pyruvique et l'urée marqués au ^{13}C et pour une fréquence maximale des gradients soit de 1000 soit de 4000 Hz.

La reconstruction des différentes cartes est validée si la position du métabolite en ^{13}C se superpose avec la position de la seringue obtenue en ^1H . Avec un F_{max} de 4000 Hz, les signaux correspondants au lactate et à l'alanine sont mal reconstruits (flèches blanches). Avec un F_{max} de 1000 Hz, les signaux des différentes cartes métaboliques se superposent bien avec les seringues. Nous pouvons noter que la superposition de l'alanine n'est pas parfaite (flèche bleue). Ceci s'explique car les seringues n'étaient pas parfaitement parallèles dans le tube et que les épaisseurs de coupes en ^1H et ^{13}C sont très différentes (1 vs 15 mm, respectivement).

En conclusion, quelle que soit la façon de définir les trajectoires, son contrôle fréquentiel est critique car le système de gradients possède un comportement de type passe-bas (l'erreur augmente avec la fréquence et de manière plus importante au-delà d'un seuil). Nous montrons que ce comportement peut facilement être caractérisé en ^1H en appliquant une trajectoire large bande. L'algorithme de définition de trajectoire utilisé permet de respecter les trois contraintes (gradient, temps de montée et fréquence maximum). Les résultats obtenus en imagerie en ^{13}C permettent de confirmer les prédictions.

3. IMPLEMENTATION DE L'IDEAL

Une fois que la séquence d'imagerie est mise en place et que la trajectoire d'encodage est maîtrisée, il est important de l'optimiser afin de pouvoir imager des métabolites marqués au ^{13}C et hyperpolarisés.

a. A LA RECHERCHE DU TEMPS PERDU

La séquence développée permet d'acquérir n images afin de reconstruire une image propre à chacun des métabolites d'intérêt (acquisition IDEAL Spiral = n images). L'objectif de la méthode est d'obtenir des cartographies dynamiques de ces métabolites en ^{13}C hyperpolarisé. Plusieurs groupes de n acquisitions spiralées sont appliquées jusqu'à l'extinction de la polarisation. Pour faciliter le processus de reconstruction, un ou plusieurs spectres RMN en ^{13}C sont acquis dans la coupe durant l'expérience. En pratique, le basculement d'un mode Imagerie à un mode Spectroscopie induit des délais incompressibles de plusieurs secondes dus à des contraintes matérielles de notre équipement (Figure 17). La perte de temps est non négligeable à l'échelle du temps de relaxation longitudinal des métabolites.



Figure 17 : Délais perdus entre les différents modes d'acquisition Imagerie (blocs bleus) et Spectroscopie (bloc blanc). Les expériences s'enchaînent de la manière suivante : une acquisition IDEAL Spiral répétée x fois ($x \cdot n$ images) et suivie d'un spectre RMN en ^{13}C puis d'autres acquisitions IDEAL Spiral. Un délai de 5 secondes apparaît au début de chaque expérience, et un de 3 secondes à la fin.

Une solution pour éviter ces temps morts est de développer une méthode où l'ensemble des informations (imagerie et spectroscopie) serait enregistré au cours de la même séquence. Dans celle-ci, les délais inhérents à l'alternance entre les deux modes seraient éliminés. Pour ce faire, dans la séquence d'imagerie le signal peut être enregistré sans commuter les gradients d'encodage (Figure 18). Le signal enregistré est donc une FID qui sera, lors de l'analyse des données, convertie en spectre par une simple TF. D'autres solutions ont été envisagées et notamment l'utilisation des différentes mémoires (notion de 'jobs'). Cependant, la solution proposée est la plus simple à mettre en œuvre. Ce travail a été présenté sous forme d'un poster au congrès Journées RMN du Grand Sud 2021.

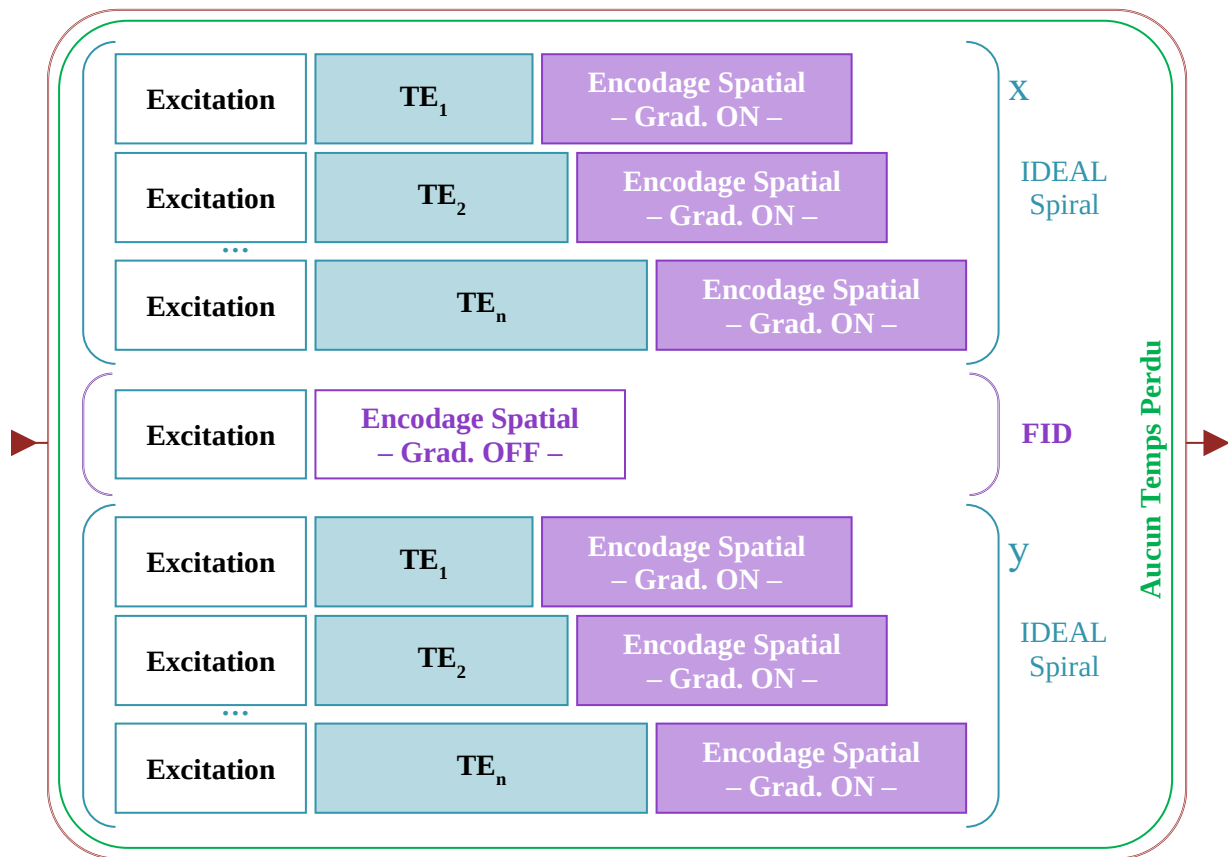


Figure 18 : Schéma d'imagerie et de spectroscopie dans une séquence unique, où une FID est enregistrée en absence des gradients d'encodage.

b. AU SUIVI DE L'ACCUMULATION DES ERREURS DE PHASE (ARTICLE)

Durant l'implémentation de la séquence, un problème de reconstruction a été observé lorsque la coupe n'était pas centrée dans l'aimant. Dans ce cas, des erreurs de phase s'accumulaient tout au long de l'expérience et perturbaient l'analyse spectrale. Ce constat est présenté et discuté dans l'article suivant.

Cet article, intitulé « Spurious phase correction in rapid metabolic imaging », a été publié dans **Journal of Magnetic Resonance** en septembre 2021 (doi.org/10.1016/j.jmr.2021.107065), et voici quelques points clés :

- Les séquences d'imagerie spectroscopique rapide multi-shot peuvent être sujettes à une accumulation de phases parasites ;

- Une accumulation de phase parasite conduit à une reconstruction incorrecte de la carte des métabolites ;
- La fréquence du repère tournant pendant le temps d'écho ajoute cette phase indésirable ;
- Il est donc essentiel de savoir comment la fréquence est commutée dans la séquence d'impulsion ;
- La méthode IDEAL utilisant un encodage spiralé appliquée à un fantôme ^{13}C illustre ce problème souvent négligé.

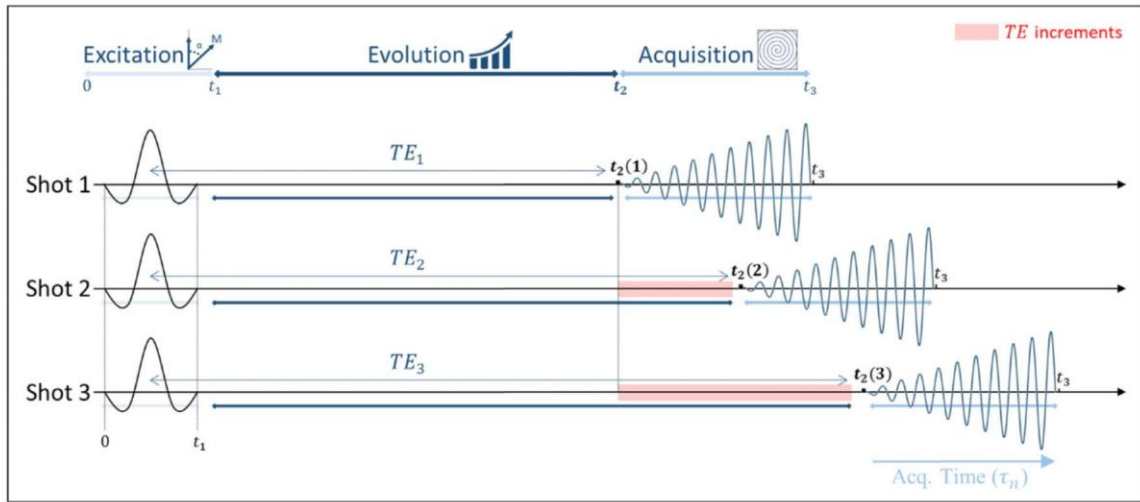


Fig. 1. Illustration of the IDEAL spiral spectral encoding scheme. It consists of radiofrequency (RF) pulses applied during an excitation time (t_1), and an acquisition with spiral spatial encoding ($t_3 - t_2$) applied after an evolution time ($t_2(m) - t_1$). Several shots with different evolution times are used to encode the spectral information.

and the rotating detection frame. To both limit the number of TEs and optimize the TE increments, it is important to have a sparse NMR spectrum as well as prior knowledge on the chemical shift values. In addition, the experiment timing needs to be optimized through the careful choice of the number of signal averages (NSA) [15,17]. Once the experiment is recorded, the various data obtained from the different shots are analysed as one to reconstruct one map per metabolite, as explained in [15]. To obtain a correct reconstruction, it is thus mandatory to get a correct phase, i.e., not prone to spurious influence. Rapid 3D encoding is also possible [19], but obtaining a higher spatial resolution in three dimensions is problematic. Several artefacts, such as motion, may introduce unwanted phase terms. To correct for this, several approaches have been developed [14,20–23]. Another source of phase errors that we address can occur in 2D or 3D with slab selection. Indeed, the radiofrequency (RF) excitation is applied with the transmit frequency (f_T) and the acquisition is done in reference to the receive frequency (f_R). A commutation between these two frequencies has to be made during the pulse sequence. However, depending on the mode and the position of the commutation, phase errors may occur. Two modes of commutation are considered and elaborated later: phase-continuous and phase-coherent switching [24].

The aim of this paper is to elucidate the impact of the frequency commutation's mode and position on the metabolite map obtained by 2D IDEAL-type method and to show how to overcome the resulting phase errors. This is, to our knowledge, not described in the literature and yet very critical. To experimentally validate this, the IDEAL spiral was applied to a ^{13}C phantom.

2. Theory

The reconstruction of metabolite maps from IDEAL-type sequences requires that the phase variation between shots is only dependent on the CS. All frequencies mentioned in the following are offset values from the reference frequency of the rotating detection frame. In 2D MRI pulse sequences, frequency selective pulses are performed at f_T , which depends on both the slice position and the slice selection gradient G_z intensity. The signal acquisition is performed at f_R .

To the best of our knowledge, there are two modes to commute from $f_T \rightarrow f_R$ set on both clinical and preclinical MRI scanners. The first one is the phase-continuous switch, where the rotation of the

receiver frame starts from the phase where the rotating transmitter frame ended (i.e., $2\pi f_T t$, for a commutation at a time t). The second one is the phase-coherent switch. A numerically controlled oscillator (NCO) is used to count the phase of the reference frame rotating at the on-resonance frequency. At the commutation moment t , the rotation of the receiver frame starts from the phase accumulated by the NCO up to this instant [24].

Fig. 2 illustrates the different cases of the transmit/receive frequency commutation during pulse sequence timing. We identified three options: a commutation before the signal acquisition, one after the slice selection or a combination of the two. In our case, the signal acquired during the m^{th} shot and at the n^{th} k-space sample location $\mathbf{k}_n$ (at the instant τ_n) can be formulated as:

$$S_{m,n} = \sum_{p,q} e^{ik_n r_p} e^{i2\pi[(f_T+f_q)t_1 + (f_{\text{evol}}+f_q)(t_2(m)-t_1) + (f_R+f_q)\tau_n]} X_q(\mathbf{r}_p), \quad (1)$$

where f_q and $X_q(\mathbf{r})$ represent the q^{th} metabolite frequency and its spatial distribution in the image space, respectively; $(t_2(m) - t_1)$ the evolution time of the m^{th} shot and f_{evol} being the frequency of the rotating frame during this time.

In the following sections, we present the three sequence configurations and only phases influenced by the pulse sequence are addressed and analysed, and not those owed to the CS. Therefore, to successfully maintain the unique-dependence of phase to CS during evolution time, the phase variation between shots at $t_2(m)$ (i.e., $\Delta\phi(t_2)$) should be nil. We considered that the phase accumulated up to t_1 is identical for all shots. In other words, a phase-coherent return $f_R \rightarrow f_T$ is done before the following excitation pulse, resulting in the same starting phase at the beginning of each shot.

Acq-Switch: Switch from f_T to f_R at t_2

For this first case, the phase-continuous frequency commutation from f_T to f_R is done once at $t_2(m)$, i.e., before the acquisition, as presented in Fig. 2 and leading to $f_{\text{evol}} = f_T$. Here, the phase accumulated at the beginning of the acquisition for the m^{th} shot is

$$\phi_m(t_2) = 2\pi f_T t_2(m). \quad (2)$$

The phase increment between shots can be expressed as

$$\Delta\phi_{t_2} = \phi_{m+1}(t_2) - \phi_m(t_2) = 2\pi f_T (t_2(m+1) - t_2(m)). \quad (3)$$

One can readily see that the phase increment is dependent on f_T , i.e., the slice position. As soon as the slice is not centered, a phase accumulation due to f_T is added to the CS-dependent phase.

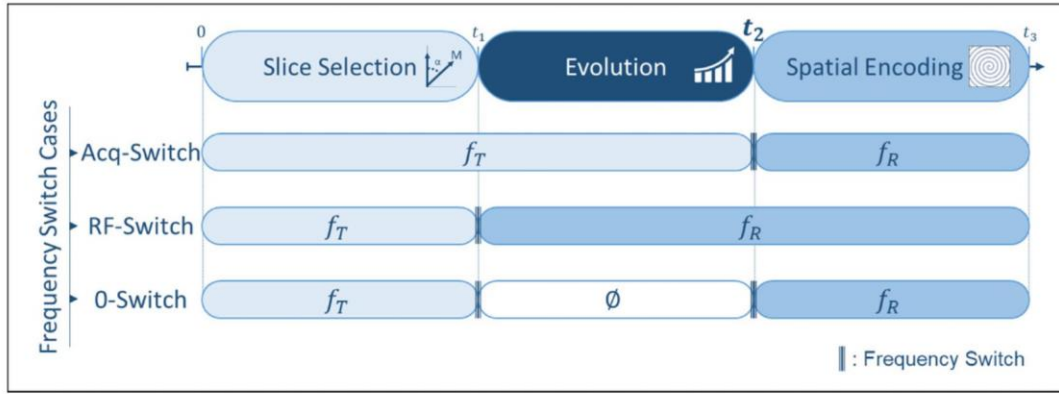


Fig. 2. General imaging pulse sequence timing scheme of a shot (an excitation). Radiofrequency (RF) pulses are applied during the slice selection (t_1) depending on the transmit frequency (f_T). Spatial encoding is applied during the acquisition time ($t_3 - t_2$) depending on the receive frequency (f_R). Spectral information is acquired as the chemical shifts (CS) of interest evolve during an evolution time ($t_2 - t_1$), after the excitation, that is increased for each shot. Three cases of frequency switch are possible, leading to different frequency dependence during evolution times (f_{evol}). **Acq-Switch** case: f_T is switched to f_R right before the acquisition time, **RF-Switch** case: f_T is switched to f_R right before the evolution time, **0-Switch** case: f_T is switched to a 0 transmit frequency before the evolution time (t_1), and this nil frequency is then switched back to f_R at the end of it (t_2).

In practice, this phase shift can be large ($\Delta\phi_{t_2} \gg 2\pi$) compared to the CS-related one and can thus appear to be random due to phase wrapping. To give an order of magnitude, let us consider a pulse bandwidth (BW) of 1 kHz selecting a slice thickness of 1 mm and shifted by 5 mm from the magnet's centre. During a TE of 1 ms, the phase accumulated in this slice is 10π . Incrementing the TE by 0.5 ms adds a spurious phase of 5π . This shot-dependent spurious phase must be removed for each data point (k_n) before metabolite map reconstruction, i.e.,

$$S'_{m,n} = S_{m,n} e^{-i2\pi f_T(t_2(m) - t_2(1))}, \quad (4)$$

where S' and S are the corrected and the raw acquired signal, respectively. The signal has to be corrected with respect to the first shot.

When the frequency commutation from f_T to f_R at t_2 is done in the phase-coherent mode, the rotation of the receiver frame starts from the phase accumulated by the reference rotating frame at this time, achieved by using an NCO. The phase variation due to the excitation is then cancelled and therefore, no spurious phase is accumulated.

RF-Switch: switch from f_T to f_R at t_1

In the second case, the phase-continuous frequency commutation from f_T to f_R is done right after the excitation, at t_1 . The phase variation between consecutive shots depends here on the receive frequency, i.e.,

$$\Delta\phi_{t_2} = \phi_{m+1}(t_2) - \phi_m(t_2) = 2\pi f_R(t_2(m+1) - t_2(m)). \quad (5)$$

Most of the single-shot trajectories require keeping f_R nil to not shift the k-space trajectory. No spurious phase shifts are accumulated between shots ($\Delta\phi_{t_2} = 0$), and therefore, no correction is needed. In the case of $f_R \neq 0$, e.g., for introducing an off-centre shift

as in spin-warp encoding [25], the resulting spurious phase should be corrected in the acquired signal as in Eq. (4) but by substituting f_T by f_R , i.e.,

$$S'_{m,n} = S_{m,n} e^{-i2\pi f_R(t_2(m) - t_2(1))}. \quad (6)$$

Since the commutation is done before echo time increments at t_1 , the spurious phase problem persists for $f_R \neq 0$ in the phase-coherent mode, and the correction presented in Eq. (6) remains crucial.

0-Switch: double switch, from f_T to 0 at t_1 and from 0 to f_R at t_2

In the last case, a double switch is done during the pulse sequence. A first switch from the transmit frequency f_T to a 0 one is done right before the evolution time at t_1 , and then switched again to the receive frequency f_R at t_2 . In this case, for both phase-continuous and phase-coherent modes, no additional phase is accumulated at t_2 even if the slice and/or the readout position are shifted.

Phase correction requirements for the three commutation cases (Acq-, RF- and 0-Switch) and in the two switch modes (phase-continuous and -coherent modes), are summarized in Table 1.

3. Method

All the experiments were performed on a BRUKER 117/16 (11.7 T) horizontal bore magnet equipped with a BGA-9 gradient coil (BRUKER BioSpin MRI GmbH). The magnet reference resonance frequencies were 500.34 and 125.83 MHz for ^1H and ^{13}C , respectively.

The phantom was composed of four syringes filled with either [^{13}C]Pyruvic acid (16.4 M, ~ 0 Hz), [^{13}C]Lactate (4 M, ~ 985 Hz), [^{13}C]Alanine (1.85 M, ~ 135 Hz) or [^{13}C]Urea (16.4 M, ~ 1500 Hz) fixed in 10% gelatine. A $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ volume coil (72 mm internal diameter; RAPID Biomedical GmbH, Rimpf, Germany) was used to excite both nuclei and receive the ^1H signal. ^{13}C

Table 1

Phase correction requirements during IDEAL-type sequences for Acq-, RF- and 0-Switch cases and in the phase-continuous and phase-coherent $f_T \rightarrow f_R$ switch modes.

Switch Cases		Switch Modes	
		Phase-Continuous	Phase-Coherent
Acq-Switch		Correction if $f_T \neq 0$ following Eq. (4)	No Correction needed
RF-Switch		Correction if $f_R \neq 0$ following Eq. (6)	
0-Switch		No Correction needed	

signal reception used a single-loop rat brain surface coil (RAPID Biomedical GmbH, Rimpf, Germany). ^1H images were recorded with a fast low angle shot method (FLASH) to validate the phantom position inside the magnet. For ^{13}C , a 15 mm thick slice was set to make sure a sufficient signal to noise ratio (SNR) was reached in a reasonable time. The field of view (FOV) was $50 \times 50 \text{ mm}^2$ with an image matrix of 64×64 and a reception BW of 400 kHz. Each one of the RF excitation pulses used was a Shinnar-Le Roux (SLR) set to 90° with a duration of 2.1 ms and a spectral BW of 2 kHz, exciting the whole ^{13}C -labelled nuclei window. The TR between each pulse excitation was set to 10 s and 26 averages per scan were acquired to ensure sufficient SNR. Seven scans were recorded; the first one at $t_2(1)$ of 1.69 ms and then increased in increments of 0.86 ms for the other scans. The spatial encoding was performed with a spiral out trajectory.

Images were acquired at two slice positions, 0 and -4 mm , leading to a transmit frequency f_T of 0 and -533 Hz , respectively. For the shifted slice, acquisitions were recorded in the phase-continuous mode, and for both, Acq-Switch and RF-Switch cases. The phase correction was only applied in the Acq-Switch case, following Eq. (4). For metabolic map reconstruction, the two-step process described in [15] was applied. Knowing the resonance frequencies of the metabolites, a k-space data was first reconstructed for each one fitting the signals acquired from all shots. These individual metabolite k-space data were then spatially reconstructed into metabolic maps.

Data processing for all experiments was performed on Matlab® R2019a (MathWorks, Natick, MA, USA) with home-made written

scripts. The dataset of this work is available at the following link <https://doi.org/10.15454/LY4VKC>.

4. Results

Fig. 3 illustrates the application of both Acq- and RF- switch cases. It shows four columns, one for each metabolite. The ^{13}C maps are superimposed on a ^1H reference image of the phantom for clear syringe borders. The 1st row presents the control maps, i.e., generated at the centre of the magnet where $f_T = 0$ (Acq-Switch case). The metabolic maps reconstructed for each of the metabolites fit with the corresponding syringe placement. As soon as the slice was shifted ($f_T \neq 0$), it was impossible to reconstruct the correct metabolic maps (2nd row) without correcting the raw signal to cancel the effect of the spurious phase acquired due to the slice offset (3rd row). When using the RF-Switch case (4th row), such artefacts were not observed. The 0-Switch case was unnecessary, hence not applied.

5. Discussion

Phase correction can be mandatory in some slice-selective IDEAL-type protocols depending on how the transmit/receive frequency switch is performed. Without phase correction, the slice selection or readout frequency offset can bias the CS-related phase evolution by adding different spurious phases during each shot.

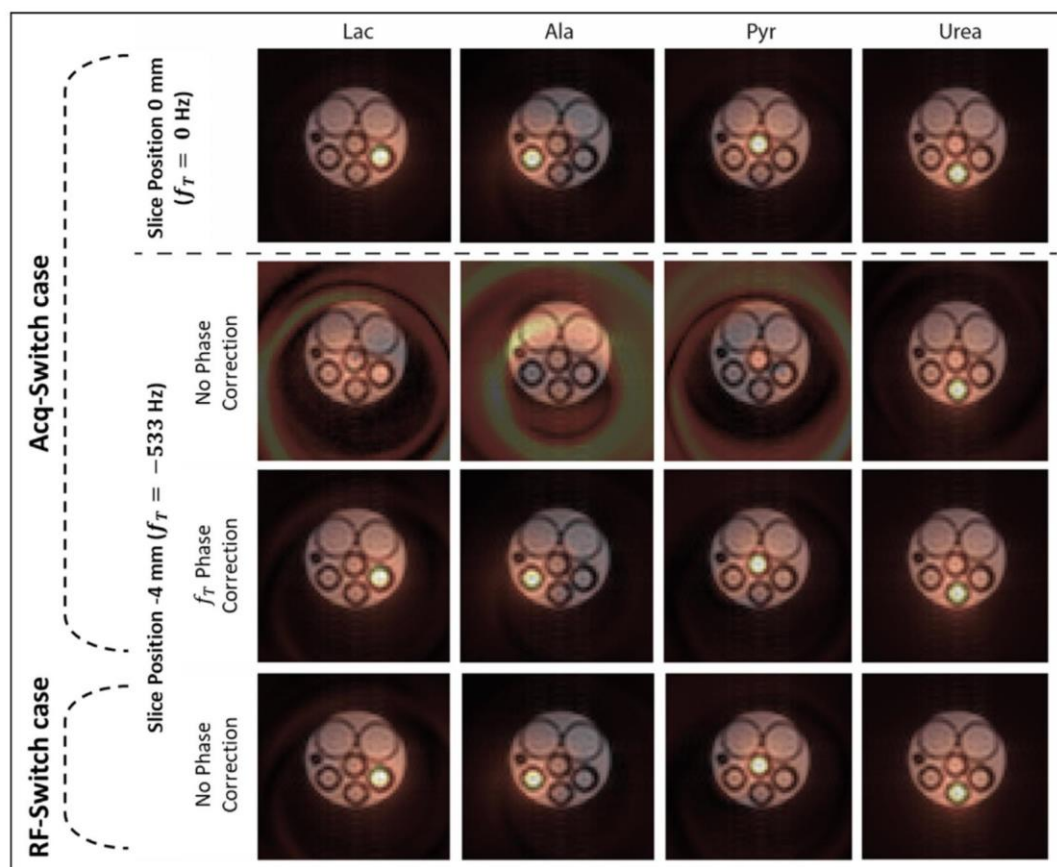


Fig. 3. Reconstruction of the ^{13}C metabolite maps acquired with the IDEAL spiral method (Lac = lactate; Ala = alanine; Pyr = pyruvic acid). For a slice centred at 0 mm, the map reconstruction of the data acquired with the **Acq-Switch** case was performed with no correction (top line). Lines 2 and 3 are ^{13}C metabolite maps acquired with the same switch case, but with a shifted slice (-4 mm), before and after phase correction. Urea map in line 2 was an artefact result due to frequency aliasing – as its frequency is equal to $3f_T$. Line 4, the **RF-Switch** case was used where no correction is required.

In our practical case, only phase-continuous switch is allowed for the commutation from the transmit to the receive frequency ($f_T \rightarrow f_R$) on the scanner. Although the proposed phase correction is valid to eliminate the possible spurious phases accumulated during the pulse sequence, it is desirable to avoid them. This is achieved by switching from the transmit frequency f_T to the reference frequency at t_1 . To do so, two options are possible: the RF-Switch case if and only if $f_R = 0$, or the 0-Switch case. In return, if the phase-coherent switch mode is at hand, one should favour the $f_T \rightarrow f_R$ commutation at t_2 before the acquisition, as it discharges one from any post-processing phase correction. Lastly, when the commutation mode is unknown, the only case requiring no correction is the proposed 0-Switch case.

Generally speaking, these phase accumulation artefacts are encountered as soon as several images obtained from different excitations with different TEs are processed together to extract the CS-related information. For example, this can be the case in high-spatial resolution B_0 -mapping, e.g., for susceptibility-weighted imaging [26]. Indeed, to reach a sufficient Nyquist limit, the TE must be incremented by a small delay, thus requiring image acquisition from multiple excitations. In this case, the same issues may be encountered and the described solutions remain valid.

While the described approaches cancel unwanted phase accumulation due to frequency commutation's mode and position, they do not correct for other mechanisms leading to additional spurious phase. One of the critical sources of phase errors is any physiological motions. To obtain exploitable data, it is then important to avoid such movements during the signal encoding and acquisition. To do so, using a trigger on one of the physiological parameters, a navigator echo [27] or one of the solutions mentioned in the introduction [21–23] is still mandatory.

We focused on the phase effects in IDEAL-type pulse sequences, due to the transmit-receive commutation before the acquisition time. However, for methods using multiple RF pulses and being phase cycled, similar frequency issues may arise and lead to inoperative coherence selection, as they may spoil the desired phase cycle [24].

To conclude, we demonstrated that the position and the mode of the frequency commutation in the pulse sequence are critical to record only the CS-dependent phase evolution. This point is under-addressed in the scientific literature and therefore relatively unclear for MRSI users. Regardless of the hardware efficiency and the sequence implementation, we proposed several solutions to eliminate possible spurious phase in rapid metabolic imaging.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgement

This research has received funding from the Conseil Régional d'Auvergne, Grant No CPER 2015–2020-EPICURE. We thank Sascha Köhler and Jérôme Voiron for the useful discussions and for their mention of reference [24].

References

- [1] M.A. Hadavand, D. Mayer, W.G. Chen, A. Wnorowski, M.M. Siddiqui, Role of metabolic imaging in diagnosis of primary, metastatic, and recurrent prostate cancer, *Curr. Opin. Oncol.* 32 (3) (2020) 223–231.
- [2] M. Julia-Sape, A.P. Candioti, C. Arus, Cancer metabolism in a snapshot: MRS(1), *NMR Biomed.* 32 (10) (2019) 21.
- [3] L. Mazuel, R.F. Schulte, A. Cladiere, et al., Intracerebral synthesis of glutamine from hyperpolarized glutamate, *Magn. Reson. Med.* 78 (4) (2017) 1296–1305.
- [4] S. Gruber, E. Heckova, B. Strasser, et al., Mapping an extended neurochemical profile at 3 and 7T using accelerated high-resolution proton magnetic resonance spectroscopic imaging, *Invest. Radiol.* 52 (10) (2017) 631–639.
- [5] R.F. Schulte, J.I. Sperl, E. Weidl, et al., Saturation-recovery metabolic-exchange rate imaging with hyperpolarized [^{13}C]pyruvate using spectral-spatial excitation, *Magn. Reson. Med.* 69 (5) (2013) 1209–1216.
- [6] J.J. Miller, A.Z. Lau, I. Teh, et al., Robust and high resolution hyperpolarized metabolic imaging of the rat heart at 7T with 3D spectral-spatial EPI, *Magn. Reson. Med.* 75 (4) (2016) 1515–1524.
- [7] S.B. Reeder, J.H. Brittain, T.M. Grist, Y.F. Yen, Least-squares chemical shift separation for ^{13}C metabolic imaging, *J. Magn. Reson. Imaging* 26 (4) (2007) 1145–1152.
- [8] T.A. Bley, O. Wieben, C.J. Francois, J.H. Brittain, S.B. Reeder, Fat and water magnetic resonance imaging, *J. Magn. Reson. Imaging* 31 (1) (2010) 4–18.
- [9] S.B. Reeder, I. Cruite, G. Hamilton, C.B. Sirlin, Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy, *J. Magn. Reson. Imaging* 34 (4) (2011) 729–749.
- [10] H.H. Hu, H.E. Kan, Quantitative proton MR techniques for measuring fat, *NMR Biomed.* 26 (12) (2013) 1609–1629.
- [11] K. Kuroda, Non-invasive MR thermography using the water proton chemical shift, *Int. J. Hyperthermia* 21 (6) (2005) 547–560.
- [12] N. McDannold, K. Hynynen, K. Oshio, R.V. Mulkern, Temperature monitoring with line scan echo planar spectroscopic imaging, *Med. Phys.* 28 (3) (2001) 346–355.
- [13] T.R. Brown, B.M. Kincaid, K. Ugurbil, NMR chemical-shift imaging in 3 dimensions, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.-Biol. Sci.* 79 (11) (1982) 3523–3526.
- [14] P. Mansfield, Spatial mapping of the chemical shift in NMR, *Magn. Reson. Med.* 1 (3) (1984) 370–386.
- [15] F. Wiesinger, E. Weidl, M.I. Menzel, et al., IDEAL spiral CSI for dynamic metabolic MR imaging of hyperpolarized [^{13}C]pyruvate, *Magn. Reson. Med.* 68 (1) (2012) 8–16.
- [16] W.W. Jiang, M. Lustig, P.E.Z. Larson, Concentric rings K-space trajectory for hyperpolarized C-13 MR spectroscopic imaging, *Magn. Reson. Med.* 75 (1) (2016) 19–31.
- [17] S.B. Reeder, A.R. Pineda, Z.F. Wen, et al., Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL): application with fast spin-echo imaging, *Magn. Reson. Med.* 54 (3) (2005) 636–644.
- [18] S.B. Reeder, Z.F. Wen, H.Z. Yu, et al., Multicoil Dixon chemical species separation with an iterative least-squares estimation method, *Magn. Reson. Med.* 51 (1) (2004) 35–45.
- [19] J.Z. Wang, A.J. Wright, D.E. Hu, R. Hesketh, K.M. Brindle, Single shot three-dimensional pulse sequence for hyperpolarized ^{13}C MRI, *Magn. Reson. Med.* 77 (2) (2017) 740–752.
- [20] P.E.Z. Larson, A.B. Kerr, A.P. Chen, et al., Multiband excitation pulses for hyperpolarized ^{13}C dynamic chemical-shift imaging, *J. Magn. Reson.* 194 (1) (2008) 121–127.
- [21] P.E.Z. Larson, S. Hu, M. Lustig, et al., Fast dynamic 3D MR spectroscopic imaging with compressed sensing and multiband excitation pulses for hyperpolarized ^{13}C studies, *Magn. Reson. Med.* 65 (3) (2011) 610–619.
- [22] S. Posse, G. Tedeschi, R. Risinger, R. Ogg, D. Lebiha, High speed ^1H spectroscopic imaging in human brain by echo planar spatial-spectral encoding, *Magn. Reson. Med.* 33 (1) (1995) 34–40.
- [23] L. Cordero-Grande, E.J. Hughes, J. Hutter, A.N. Price, J.V. Hajnal, Three-dimensional motion corrected sensitivity encoding reconstruction for multi-shot multi-slice MRI: application to neonatal brain imaging, *Magn. Reson. Med.* 79 (3) (2018) 1365–1376.
- [24] F. Hennel, The effective phase of soft RF pulses, *Concepts Magn. Reson. Part A* 43 (4) (2014) 127–137.
- [25] W.A. Edelstein, J.M.S. Hutchison, G. Johnson, T. Redpath, Spin warp NMR imaging and applications to human whole-body imaging, *Phys. Med. Biol.* 25 (4) (1980) 751–756.
- [26] S.J. Wang, D.J. Peterson, J.C. Gatenby, W.B. Li, T.J. Grabowski, T.M. Madhyastha, Evaluation of field map and nonlinear registration methods for correction of susceptibility artifacts in diffusion MRI, *Front. Neuroinform.* 11 (2017) 9.
- [27] R.J. Ordidge, J.A. Helpen, Z. Qing, R.A. Knight, V. Nagesh, Correction of motional artifacts in diffusion-weighted MR images using navigator echoes, *Magn. Reson. Imag.* 12 (3) (1994) 455–460.

Grâce à ce travail publié, le cas RF-Switch a été adapté dans la version finale de la séquence pour éviter l'accumulation des erreurs de phase.

Avec toutes les optimisations présentées précédemment, une séquence d'imagerie spectroscopique 2D, rapide et efficace permettant d'acquérir à la fois des images et des spectres RMN à n'importe quelle position dans l'aimant a été mise en place. Cette séquence est prête à être appliquée pour l'imagerie *in vivo* du ^{13}C hyperpolarisé.

4. PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET RESULTATS

Le protocole expérimental de l'imagerie métabolique et le post-traitement des données est décrit. Il est composé de trois parties : a) optimisation des paramètres de la séquence, b) acquisition des données et c) reconstruction des images. Le traitement des données est effectué sur Matlab® R2019a (MathWorks, Natick, MA, USA) avec des scripts propres à la doctorante.

a. OPTIMISATION DES PARAMETRES

Pour optimiser les paramètres de la séquence, il est nécessaire d'avoir une connaissance *a priori* des fréquences de résonance des métabolites. Le nombre de moyennes des signaux NSA est calculé selon l'équation (8) pour chacun des métabolites en variant le nombre et l'incrément du TE. L'algorithme est basé sur l'estimation du niveau de signal propre à un métabolite en prenant en compte la présence des autres métabolites grâce à leurs déplacements chimiques. Le choix optimal du nombre et de l'incrément du TE est un compromis entre les différents métabolites. Un exemple de ce calcul est présenté dans la Figure 19 pour le fantôme ^{13}C composé d'acide pyruvique, de lactate, d'alanine et d'urée. Pour ces fréquences, 7 TE et un incrément de 0.85 ms sont optimaux pour éviter le chevauchement des pics.

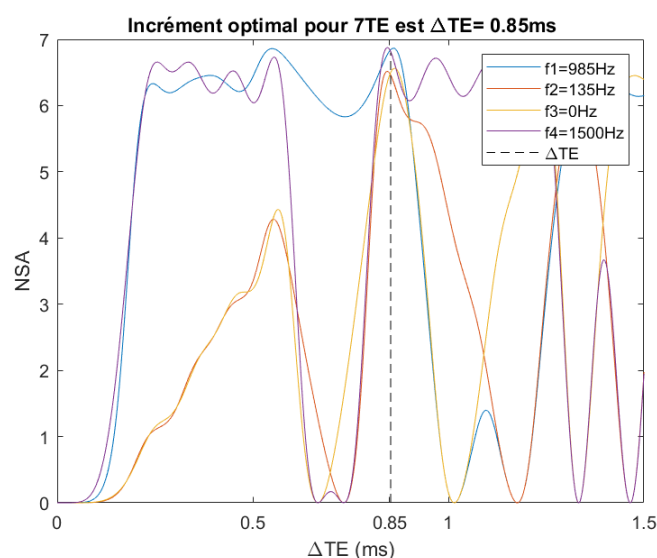


Figure 19 : NSA pour 7 TE calculé pour quatre fréquences de résonance. L'incrément optimal du TE est de 0.85 ms.

b. ACQUISITION DES DONNEES

La fenêtre principale de la configuration de notre séquence est présentée dans la Figure 20. Le nombre de TE et la valeur dont il doit être augmenté ont été définis précédemment et sont rentrés dans le système. La méthode permet également d'enregistrer un ou plusieurs spectres entre les acquisitions des blocs d'images. Une fois les données acquises, il est nécessaire d'utiliser Matlab pour les analyser.

Figure 20 is a screenshot of the configuration window for the optimized rapid metabolic imaging sequence. The window is divided into several sections:

- General Parameters:** Echo Time 1 (1.685 ms), Repetition Time (30000.000 ms), Averages (10), Experiment Repetitions (5), Spectrums (0), Spectrum at Repetition n (1 of 1), Scan Time (0h5m0s0ms), Time to record 1 Image (0h35m0s0ms), Spectrums record time (0.0ms), Timecourse duration (2h55m0s0ms), Signal Type (Fid).
- Slices:** Slices (1), Slice Orientation (Axial), Slice Thickness (30.000 mm), Image Size (64 x 64), Field of View (50.000 mm).
- IDEAL SPIRAL PARAMETERS:** Spiral repetition (1), Spiral repetition duration (40.01 ms), Shifted SPIRAL (6), TE increment (0.883 ms), Echo Time (1.69 ms), Interleaves (1), Receiver Gain Measurement (unchecked).
- Navigation:** Routine, Contrast, Resolution, Geometry, Sequence, Setup, System, Single Parameter, Instruction.

Figure 20 : Fenêtre de configuration de la séquence d'imagerie métabolique rapide optimisée.

C. RECONSTRUCTION DES DONNEES ACQUISES

Le post-traitement des données requiert plusieurs étapes. Tout d'abord il est nécessaire de séparer les spectres RMN des images. En appliquant la TF sur les FID, les spectres RMN sont reconstruits et les fréquences exactes des métabolites sont déterminées.

L'algorithme de reconstruction des cartes métaboliques utilisé est celui publié par Wiesinger et al [118]. Le signal acquis durant le $n^{\text{ième}}$ écho et au $j^{\text{ième}}$ point de la trajectoire correspondant au temps de l'acquisition t_j , a la forme suivante :

$$S_n(j) = \sum_{qp} \rho_q(\mathbf{r}_p) \exp(i\mathbf{k}_j \mathbf{r}_p) \exp(i2\pi v_q (TE_n + t_j)), \quad (16)$$

avec $TE_n = TE_{min} + (n - 1)\Delta TE$. Cette équation montre que les signaux correspondent à une combinaison linéaire des concentrations individuelles de métabolites dans l'espace-k, $\zeta_q(\mathbf{k})$, avec une pondération relative donnée par la matrice de l'encodage spectral, $E_{q,n}$, indépendant de l'encodage de l'espace-k, selon :

$$E_{q,n} = \exp(i2\pi v_q TE_n); \zeta_q(\mathbf{k}_j) = \sum_p \rho_q(\mathbf{r}_p) \exp(i\mathbf{k}_j \mathbf{r}_p), \quad (17)$$

L'étape suivante consiste à reconstruire les espace-k propre à chaque métabolite par inversion matricielle :

$$\zeta_q(\mathbf{k}_j) = \exp(-i2\pi v_q t_j) (E^\dagger S_n(j))_q, \quad (18)$$

où $\dagger$ désigne la pseudo-inverse de Moore-Penrose. Enfin, la reconstruction spatiale des images propres à chacun des métabolites est réalisée soit par une reconstruction gridding soit par l'inversion matricielle suivante :

$$\rho_q = \exp(i\mathbf{k}_j \mathbf{r}_p)^\dagger \zeta_q. \quad (19)$$

Cet algorithme permet d'obtenir des cartes en ^{13}C propres à chacun des métabolites détectés. Un suivi temporel de la conversion métabolique dans la région d'intérêt est réalisé grâce à la répétition des n acquisitions.

5. DISCUSSION

La majorité des articles en hyperpolarisation par dissolution se concentre soit sur l'amélioration du taux de polarisation soit sur les applications métaboliques, principalement *in vivo* chez le petit animal. La

mise en place du protocole d'acquisition rapide des images métaboliques ainsi que leur traitement ne sont que rarement détaillés. L'ensemble des travaux présentés dans ce chapitre montre que l'implémentation d'une séquence d'imagerie spectroscopique rapide se heurte à différents problèmes et que ceux-ci sont dépendants des constructeurs d'IRM. Il est par exemple indispensable de connaître à la fois le mode et la position dans la séquence du changement de fréquence entre l'émission et la réception. Cette information a été obtenue sur les imageurs précliniques mais les fabricants d'imageurs cliniques ont refusé de communiquer sur ce point. Grâce à ces travaux, AgoResonance peut proposer une méthode d'imagerie rapide pour explorer le métabolisme *in vivo* chez l'animal en carbone ^{13}C hyperpolarisé. Il est à noter que peu de groupes en France possède une telle expertise.

L'enregistrement rapide du signal IRM impose de connaître parfaitement la trajectoire réalisée. Pour cela, il existe deux options : la mesurer et faire en sorte de limiter les déviations de la trajectoire expérimentale par rapport à la théorique. Comme il n'est pas envisageable de mesurer cette trajectoire avec du ^{13}C hyperpolarisé, j'ai travaillé selon la seconde approche. Une piste d'amélioration serait de mesurer la trajectoire réelle en ^1H et de l'utiliser pour déterminer la position dans l'espace k de chacun des signaux enregistrés en ^{13}C .

La faible disponibilité d'hyperpolariseurs commerciaux capables de faire de la dDNP associée au coût financier (hélium nécessaire pour travailler à faible température ($\sim 1\text{ K}$), molécules « donneurs » d'électrons, précurseurs marqués au ^{13}C) et au temps nécessaire pour obtenir un état hyperpolarisé (1 à 2 heures d'irradiations microondes pour transférer la polarisation importante des électrons aux spins nucléaire ^{13}C de l'agent précurseur) font qu'aujourd'hui, seule une petite poignée de centres d'imagerie dans le monde possède un tel instrument. Dans cette optique, pouvoir produire des précurseurs marqués au ^{13}C hyperpolarisés de façon centralisée sur un site et pouvoir distribuer ces molécules sur des sites en capacité de réaliser des expériences *in vivo* permettrait de démocratiser cette technique comme cela a pu être le cas pour l'imagerie nucléaire. Une équipe à Lyon (laboratoire HMR du Prof. S. Jannin), avec laquelle AgoResonance collabore, travaille sur cette thématique. Le but est d'allonger le temps de relaxation longitudinal T_1 du métabolite à la température d'hyperpolarisation ($\sim 1,5\text{ K}$) et donc la durée de vie de cet état hyperpolarisé de la minute à la dizaine d'heures. Cela passe par une nouvelle formulation de l'échantillon pour éloigner les électrons des noyaux, par la mise en place de techniques d'hyperpolarisation plus complexes (polarisation croisée, balayage des microondes) ainsi que par le développement d'équipements spécifiques pour pouvoir transporter l'échantillon et le dissoudre dans le laboratoire d'accueil [191,192]. En plus de potentiellement démocratiser l'imagerie métabolique du ^{13}C en la rendant possible en routine dans des hôpitaux, ces approches permettent d'élargir les métabolites pouvant être hyperpolarisés. Par exemple, il devient possible d'hyperpolariser l' α -cétooglutarate (α -KG), un intermédiaire du cycle de Krebs et principal précurseur du glutamate. Utiliser l' α -KG renseignera en temps réel sur l'activité enzymatique de la *glutamate déshydrogénase* impliquée dans la synthèse de glutamate et la neurotransmission glutamatergique, voies métabolites altérées dans la maladie de

Parkinson. Cette molécule, contrairement au glutamate, présente l'avantage de passer la barrière hématoencéphalique et donc d'être injectable par voie systémique. Comprendre les processus métaboliques mis en jeu après la dénervation dopaminergique devrait apporter des informations supplémentaires sur la physiopathologie de la maladie de Parkinson et permettre de mettre en évidence des marqueurs de la maladie.

Enfin l'ensemble des travaux présentés dans ce chapitre supporte la possibilité de faire des acquisitions et des reconstructions de séquences d'imagerie spectroscopique des noyaux X dont les spectres sont clairsemés et constitués de résonances bien séparées comme le sodium ^{23}Na .

CHAPITRE IV – INTERACTIONS SEL/MATRICE DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES

1. INTRODUCTION

Comme décrit dans le chapitre II, les interactions du sel avec les matrices alimentaires jouent un rôle fondamental. Il est donc important de les caractériser précisément. Bien que les concentrations en sel puissent être significativement plus élevées dans les aliments que dans les systèmes biologiques, les interactions sel/matrice ont le plus souvent été considérées de même type que celui admis *in vivo* ; à savoir la totalité du sel interagit « faiblement » avec l'aliment produisant un spectre RMN de type c. Cependant, dans les aliments réels la complexité structurale et les concentrations en sel élevées rendent probables la présence de plusieurs compartiments (types c et d). La caractérisation de cette compartimentation est un préalable indispensable à toute quantification et à toute tentative de compréhension du lien interaction et sensorialité. Ceci est le but de l'article qui a été soumis à **Magnetic Resonance in Chemistry** en septembre 2021 intitulé « Characterization of the sodium binding state in several food products by ^{23}Na NMR spectroscopy ».

Dans cette étude, les interactions ont été caractérisées à l'échelle de l'échantillon entier par spectroscopie RMN. L'analyse du spectre RMN et la présence de pics satellites permet de conclure si du sodium de type a ou b existe (figure 1 dans l'article ci-après). Pour les produits étudiés, il n'y a pas de pics satellites nous permettant de conclure que le sodium n'existe que sous les formes c et/ou d. La présence d'un signal sur un spectre RMN filtré pour n'enregistrer que les transitions double quanta DQ permet de conclure quant à la présence d'interactions quadripolaires dans l'échantillon (sodium de type c). A partir de l'exploitation de ces seules expériences, il n'est pas possible de conclure quant à la présence ou non de sodium n'interagissant pas avec la matrice (type d). Pour ce faire, nous avons mené des mesures de relaxation transversale en simple quanta SQ. En présence de sodium de type c uniquement, deux composantes de relaxation devraient être obtenues avec des ratios de 3/2 et 2/5 pour la décroissance rapide et lente, respectivement. Le rapport obtenu entre les deux populations de T_2 s'éloignant de ces valeurs théoriques, nous en avons conclu qu'une fraction du sodium n'interagissait pas avec la matrice (type d). A notre connaissance, c'est la première fois que la coexistence de sodium de type d et c dans les aliments est démontré.

2. ETATS DE LIAISON DU SEL DANS LES MATRICES ALIMENTAIRES (ARTICLE)

Characterization of the Sodium Binding State in Several Food Products by ^{23}Na NMR Spectroscopy

Nour EL SABBAGH^{a,b,c}, Jean-Marie BONNY^{a,b}, Sylvie CLERJON^{a,b}, Carine CHASSAIN^{a,b,c}
& Guilhem PAGES^{a,b}

^a INRAE, UR QuaPA, F-63122 Saint-Gènes-Champanelle, France

^b INRAE, PROBE research infrastructure, AgroResonance facility, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

^c Université Clermont Auvergne, CHU, CNRS, Clermont Auvergne INP, Institut Pascal, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

Short title: ^{23}Na properties in food
(up to 70 characters)

Corresponding author: Guilhem PAGES
Guilhem.Pages@inrae.fr
+33 (0)4 73 62 41 75

Institution Information: INRAE
Route de Theix
63122 Saint-Genès-Champanelle, France

Funding: Conseil Régional d'Auvergne (Grant No CPER 2015-2020-EPICURE)
European FEAMP project InnoSalt (PFEA470018FA1000012 2019-2022)
French ANR project Sal&Mieux (ANR-19-CE21-0009 2020-2024)

ABSTRACT

In food, salt plays several roles amongst which conservative or food perception. For this latter, it is well known that the interaction of sodium with the food matrix modifies the consumer perception. It is then critical to characterize these interactions in various real foods. For this purpose, we exploited the information obtained on both single and double quantum ^{23}Na NMR spectroscopies. All salted food samples studied showed strong interactions with the food matrix leading to quadrupolar interactions. However, for some of them, the single quantum analysis did not match the theoretical prediction. This was explained by the presence of another type of sodium population, which did not produce quadrupolar interactions. This finding is of critical importance to perform quantitative MRI and to understand the consumer salty taste perception.

KEYWORDS

NMR; ^{23}Na ; Multiple quantum coherences; T_2 amplitude; Relaxation time; Salt concentration

WORD COUNT

3002 words

1. Introduction

The role of salt in food is multiple. It contributes to the product sensory properties and is also a key molecule regarding the food structural and stability characteristics. However, its consumption must be limited to avoid health issues as highlighted by several international agencies [1]. From the consumer point of view, this salt content reduction should not be associated with a decrease of salty expected taste. The taste buds leading to the saltiness feeling are sensitive to the sodium ions released from the sodium chloride. Once the solid food is into the mouth, several complex processes are involved which conduct to percept saltiness. They can be merged into three main actions [2]. First, the salt is migrating to the surrounding part of the bolus food particles. Then, the sodium ions are released into the oral cavity through the saliva. Finally, sodium ions reach the tongue's taste receptor cells generating the brain signal responsible for saltiness [3]. Sodium ions binding with the food matrix is then one of the critical parameters, which may be correlated with saltiness perception. For example, products containing a same amount of salt but a higher quantity of dry matter or protein were felt less salty [4-7] because the salt release from the matrix was reduced. The complexity and composition variability of food products make difficult to correlate saltiness to a global food characteristic, highlighting the importance of having information on the salt local repartition.

^{23}Na MRI appears then as a technique of choice to characterize the repartition and the interaction of sodium with the matrix. One of the first work in this field studied the sodium repartition during the pickling of a cucumber in a fermented soybean paste [8]. ^{23}Na MRI was combined with other NMR approaches to study the salting/desalting process of salmon [9,10] and cod [11] for several muscle conditions (e.g. frozen vs thawed) or to characterize meat curing [12]. ^{23}Na MRI helped also in understanding how subcutaneous fat can limit the salt diffusion [13] or what is the importance of the salting method (brine injection with or without an adjuvant vs pickle) on the repartition of salt inside the muscle [14]. Most of these works targets to map the sodium concentration in food and then to better control the effect of processes on this repartition. However, there is a lack of knowledge on the bounding state of such ions in real foods. ^{23}Na relaxation times can be really short (few ms) and, in consequence, difficult to detect - and a fortiori complicated to quantify - by MRI. Furthermore, difference of relaxations may modulate the saltiness perception. It is then necessary to study the food sample as a whole for performing thorough ^{23}Na NMR relaxation studies and characterize all the sodium pools.

Relaxation ^{23}Na NMR has been used to characterize several food matrices. For example, the relationship between sodium properties and the structure and composition of cheese had been extensively studied [15,16]. Similarly, the sodium mobility was characterized in an emulsion gel model [17]. Sodium mobility deduced by NMR was also correlated with saltiness perception. One of the first study demonstrated that the sodium mobility in gums was positively correlated with saltiness perception [18,19]. Boisard et al. correlated the sodium ions release in the oral cavity (and so to the saltiness perception) to the lipid/protein ratio [19]. In another study, Mosca et al. did a similar study on cheese model matrices [20]. The sodium mobility was in general an indirect measurement through the T_2 relaxation times. Recently Wang et al. proposed to directly use NMR diffusion measurements to correlate the sodium mobility with the saltiness perception [21].

The sodium mobility and its binding to the solid part of the food have been characterized only for a few real systems. Gaining a deeper knowledge on the sodium state in several food products

is then critical before going to quantitative NMR/MRI-based methods. The aim of this paper is to characterize the sodium state in contrasted food products by single quantum (SQ) and double quantum (DQ) ^{23}Na NMR spectroscopy. To accurately interpret our results, we will detail and explain the different energy level configurations which can be encountered in ^{23}Na NMR and describe the experimental strategy implemented.

2. Theory and experimental strategy

Sodium nucleus has a nuclear spin of $3/2$, which leads to quadrupolar interactions between the charges in the nucleus and the surrounding electrical field gradients (EFG). The equal transitions between the four nuclear spin energy levels become unequal under the effect of this quadrupolar interaction. At the macroscopic observation scale, the NMR spectra depends on how this interaction is averaged with time for a large number of spins. Indeed, EFG fluctuates in time due to molecular motion. For a deeper analysis, the interested reader is referred to the excellent review by Madelin et al. [22].

Figure 1 illustrates the four different motional regime situations, each leading to a typical SQ spectrum. The different situations are related to the EFG fluctuation frequency in regards of the NMR timescale and are classified following Rooney and Springer proposition [23,24]. The effect of this EFG is expressed in the quadrupolar coupling angular frequency term ω_q averaged over time and space. For very fast EFG variations, ω_q is null leading to the situation depicted in **Figure 1d**. This is typically observed for sodium nuclei in solution and a single NMR peak, which merges all the transitions, is then observed in the frequency domain. At the opposite, in situation **a** (**Figure 1a**), the EFG term is well-defined and different from 0 leading to a difference between the energy levels depending on ω_q . This is only observed in few oriented and spatially homogeneous solid samples [25]. In this case, a triplet of intensities 3:4:3 is then observed in the NMR spectrum with chemical shifts of δ for the center line and $\delta \pm \bar{\omega}_q$ for the outer ones. In between these two cases, it exists two intermediate situations. Type **b** (**Figure 1b**) corresponds to a less oriented medium. The EFG varies slowly on the NMR timescale leading to a non-null but fluctuating ω_q . The energy levels are still shifted but they are distributed over a range of levels. In term of NMR spectra, this leads to a central narrow peak and a frequency distribution for the outer ones. The fourth case appears when the EFG variations are similar to the NMR timescale. In this case, the energy level differences stay constant (type **d**) with a fluctuation around the averaged value. This is the type **c** (**Figure 1c**). The NMR spectrum of this situation correspond to a narrow peak for the central line overlapped with a broad signal for the outer energy levels. By recording a DQ or triple quantum filtered (DQF, TQF) NMR spectrum, only sodium presenting quadrupolar interactions leads to a signal. Regarding the different situations described, sodium of type **a**, **b** and **c** gives rise to a signal while type **d** does not give any signal.

The transverse relaxation time T_2 can help to characterize the different spectrum types. Let first describe the SQ T_2 relaxation. For type **a** in which the quadrupolar effect is well defined, a mono-exponential decay is observed for each of the three NMR signals. The central line has a longer T_2 than the two outer peaks, which have the same relaxation time. At the opposite, type **d** spectrum is characterized by a mono-exponential decay as ω_q is null and the motion is isotropic with motional narrowing. For slower motional regimes, i.e. type **c** in **Figure 1**, a bi-

exponential behavior is observed characterizing the central and satellite transitions for the slow and fast relaxation times, respectively. Furthermore, their amplitudes can be predicted to be 2/5 and 3/5 for the inner and outer transitions, respectively. Considering the DQ T_2 analysis, only two coherences exist with an equal probability. It is then expected to obtain a fast and a slow DQ T_2 relaxation time contributing to the same percentage to the NMR signal.

Based on this knowledge, we used the following approach to characterize the sodium interactions into the food matrices. First, a SQ spectrum was analyzed to determine if the interactions were of type **a**, **b** or **c** and **d**. As type **c** and **d** could not be differentiated from their SQ spectra, DQF data were then acquired. The presence of a DQ signal highlighted the presence of type **c** quadrupolar interactions with the food matrix. DQ T_2 relaxation parameters were calculated to confirm the presence of two equal populations. Finally, SQ T_2 signal decay was analyzed by using a bi-exponential model. If the T_2 amplitudes were 3/5 and 2/5 for the fast and slow relaxation times, respectively, we considered that 100% of the sodium was of type **c**. A difference from these theoretical values suggests the presence of an additional fraction of free sodium of type **d**.

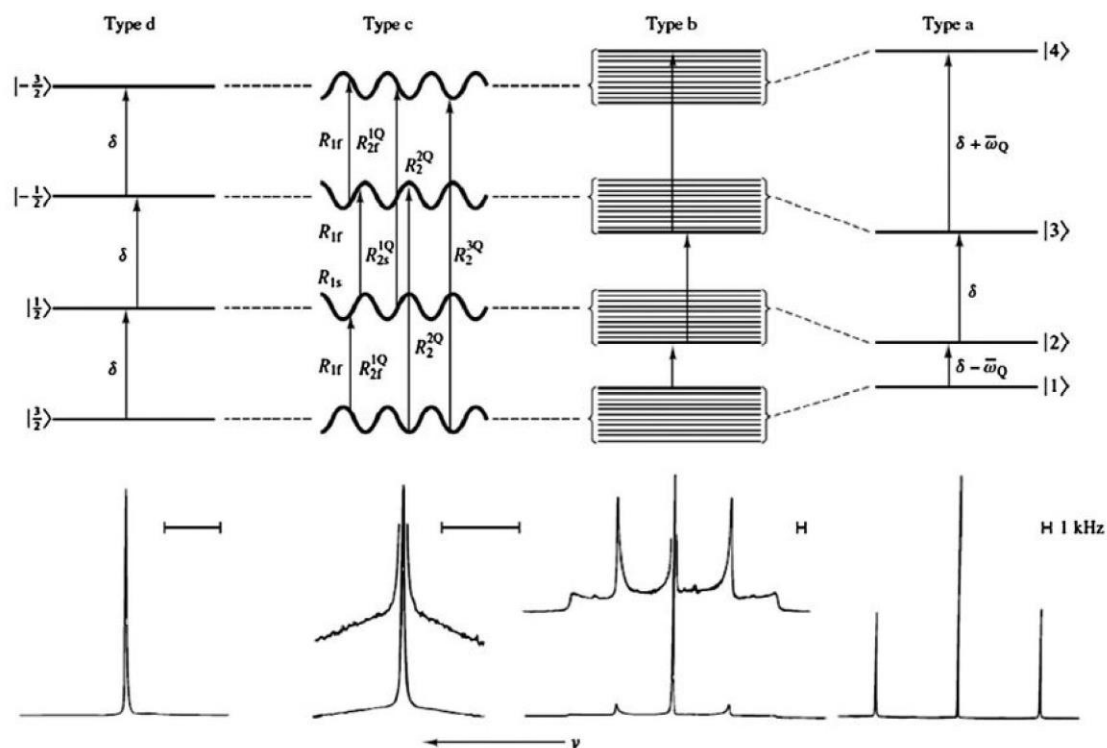


FIGURE 1 Energy level diagrams for isolated systems of spin 3/2. Four different motional regime situations are possible (**a**, **b**, **c** and **d**). ^{23}Na spectra corresponding to each situation are presented: type **d** spectrum was that of NaCl in H_2O . Type **c** spectrum was that of Na^+ in an aqueous solution which has a high concentration of micelle-solubilized gramicidin channels. The type **b** and type **a** spectra were that of Na^+ in aqueous suspensions of un-oriented and oriented dodecylsulfate micelles, respectively. Reproduced with permission from Ref. [23].

3. Material and Methods

3.1 Sample preparation

In our work, we studied several foods with different salting processes. The first one was a farmed trout salted filet (*Oncorhynchus aguabonita*). The filet weighted 589 g and was salted with 6% in weight of dry salt on the internal filet face during 3.5 hours at 8°C. After the salting period, it underwent 6 hours at 24°C to simulate the smoking period (water loss) and was then stored at 5°C. A 16 g sample was placed in a 30-mm (50 mL) Falcon tube for NMR experiments.

Three other foods were cooked in salted water: a piece of a chicken breast, carrots and Tagliatelle pasta. First, each food sample was placed in a salted boiling water for a duration sufficient for being properly stewed. After cooking, the food sample was placed in the fridge to cool for 15 min. A small amount of each sample was inserted in a 5-mm NMR tube. **Table 1** summarizes the experimental conditions for the different samples.

TABLE 1 Sample preparation details.

Food sample	Volume of cooking water (mL)	[Salt] of the cooking water (g/L)	Cooking time (min)	Weight of the sample (g)		
				prior cooking	post cooking	in the NMR tube
Pasta	500	10.11	9	20.84	-	0.18
	250	20.04		3.72	7.87	0.16
Chicken	250	20.32	7	6.94	4.88	0.12
Carrot	250	5.00	10	6.65	6.21	0.24
		10.01		6.73	6.25	0.23
		15.01		6.67	6.20	0.30
		20.05		6.77	6.20	0.30

3.2 NMR experiments

All experiments were performed on a 9.4T Bruker UltraShielded widebore magnet (Karlsruhe, Germany) equipped with Avance III electronics and piloted by TopSpin 3.5. The magnet reference resonance frequencies were 400.18 and 105.86 MHz for ^1H and ^{23}Na , respectively. $^1\text{H}/^{23}\text{Na}$ volume coils were used to excite and receive both nuclei. A 30-mm insert (Bruker BioSpin, Karlsruhe, Germany) was used for the trout, and a 5-mm BBO probe (Bruker BioSpin, Karlsruhe, Germany) for the other samples. Once the sample was inserted inside the spectrometer, the first step consisted in adjusting the magnetic field homogeneity based on a ^1H spectrum. Then, the ^{23}Na 90° pulse length was calibrated. It was found to be around 88 μs at 280 W and 9 μs at 50 W for the 30-mm insert and the BBO probe, respectively. Finally, SQ and DQ ^{23}Na experiments were run. The repetition time was set to 0.5 s and the receiver gain to 256 for all experiments. The main parameters of the experiments are presented in **Table 2**. DQ coherences were selected using the phase-cycled pulse sequence below

$$(\pi/2)_{\varphi_1} - \tau/2 - (\pi)_{\varphi_2} - \tau/2 - (\pi/2)_{\varphi_1} - \delta - (\pi/2)_{\varphi_3} - \text{Acq}(t)_{\varphi'},$$

where τ is the DQ creation time and δ , the DQ evolution time. The basic four-step phase cycle of the sequence to eliminate SQ coherences was: $\varphi_1 = 0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$; $\varphi_2 = \varphi_1 + 90^\circ$, φ_3

$= 0^\circ$ and $\varphi' = 0^\circ, 180^\circ, 0^\circ, 180^\circ$ [26]. This DQF was applied with 4 μs evolution time (δ) and for several creation time (τ) duration, ranging from 0 to 120 ms.

TABLE 2 Main parameters of the SQ (FID, CPMG) and DQ experiments.

Food Matrix	~ [Salt] of the cooking water (g/L)	SQ			DQF	
		FID		CPMG ¹		
		NS	TD	NS	NS	TD
Trout	-	20	2048	100	1600	2048
Pasta	10	40	1024	1000	4600	2048
	20	20	4096	500	8000	4096
Chicken	20	70	2048	500	8600	4096
Carrot	5	100	4096	500	8600	4096
	10				6500	
	15				8000	
	20				6800	

¹ The CPMG was recorded with 256 echoes obtained every 175 μs . Only one data point per echo was recorded and calculated by the mean value of the 8 data point intensity around the echo

3.3 Data processing

Several DQ NMR data were acquired with different creation times. The DQ peak intensity of each spectrum was extracted and then fitted by the following bi-exponential expression

$$A_S^{DQ} \exp \left(-\tau / T_{2,S}^{DQ} \right) - A_F^{DQ} \exp \left(-\tau / T_{2,F}^{DQ} \right). \tag{1}$$

where $T_{2,S}^{DQ}$ and $T_{2,F}^{DQ}$ are the slow and fast DQ relaxation times, respectively, and A_S^{DQ} and A_F^{DQ} their corresponding amplitudes. A_S^{DQ} and A_F^{DQ} fractions were predicted to be equal. Then, the SQ CPMG echoes were analyzed using a similar approach but with the following bi-exponential model

$$A_S^{SQ} \exp \left(-t / T_{2,S}^{SQ} \right) + A_F^{SQ} \exp \left(-t / T_{2,F}^{SQ} \right). \tag{2}$$

where $T_{2,S}^{SQ}$ and $T_{2,F}^{SQ}$ are the slow and fast SQ relaxation times and A_S^{SQ} and A_F^{SQ} their corresponding amplitudes.

4. Results and discussion
4.1. Characterization of different food

At first, we studied different food samples (pasta, chicken and carrot) cooked in a salted water (20g/L) alongside salted trout. For the different food matrices, the SQ ^{23}Na FID provided only one-peak as illustrated for the trout ^{23}Na SQ spectrum (**Figure. 2A**). This eliminated the possibility of having ^{23}Na pools of type **a** or **b** because of the absence of lateral and symmetric peaks around the central bulk one. However, multiple pools of type **d** could be confused with a pool of type **c**. Considering that only type **c** carries DQ coherences because of significant dynamic quadrupolar effects, a DQF experiment allowed ascertaining the presence or not of type **c** interactions. **Figure 2B** shows the evolution of the experimental DQF data with the creation time as well as the fitting and residual curves on the trout. The resulting relaxation times and amplitude fractions are summarized in **Table 3**. All samples led to a DQ NMR spectrum giving a first evidence of the presence of type **c** sodium. Then, an equal fraction between both fast and slow populations was found for the different matrices in agreement with what was expected from the theory. This demonstrated that sodium quadrupolar interactions of type **c** were clearly detectable in the different salted food matrices.

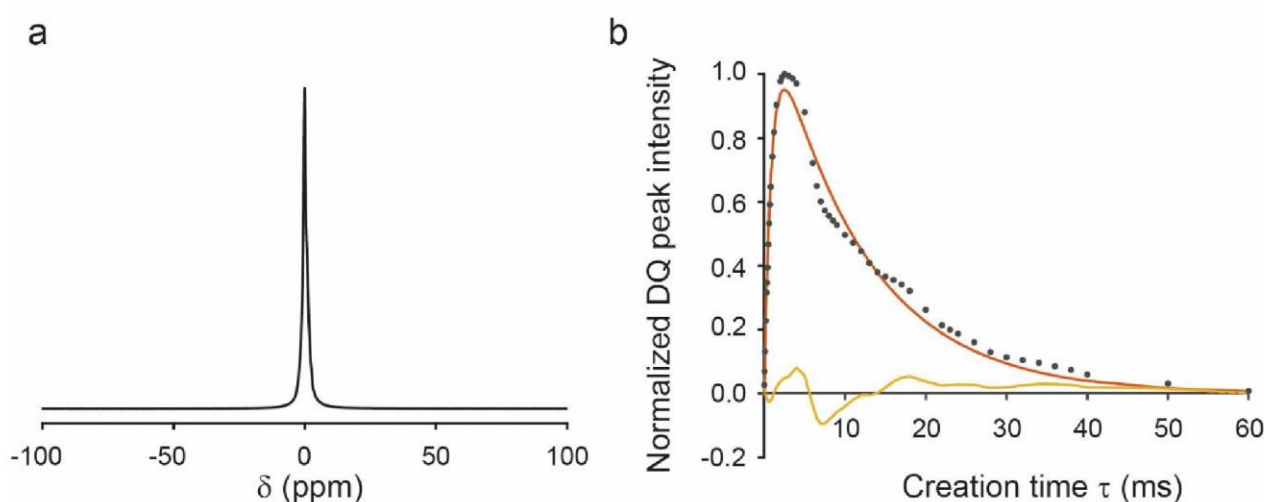


FIGURE 2 Trout (a) SQ ^{23}Na spectrum and (b) DQ-filtered ^{23}Na peak evolution in function of the creation time. Data were fitted according to equation 1 (red curve) and the residuals were plotted in orange.

TABLE 3 Fast and slow T_2 relaxation times and population fractions resulting from the fitting of the ^{23}Na DQF spectra. Results for the salted trout and for the pasta, chicken and carrot cooked in water with a salt concentration of 20g/L.

Food Matrix	T_2 (ms)		Population	
	Fast	Slow	Fast	Slow
Trout	0.9 ± 0.1	11.5 ± 0.9	0.50 ± 0.03	0.50 ± 0.03
Pasta	0.8 ± 0.1	6.1 ± 0.4	0.50 ± 0.03	0.50 ± 0.03
Chicken	1.4 ± 0.2	14.1 ± 1.2	0.50 ± 0.04	0.50 ± 0.04
Carrot	0.6 ± 0.1	22.8 ± 2.5	0.50 ± 0.06	0.50 ± 0.03

Figure 3 represents the SQ CPMG bi-exponential fitting for the trout. It shows that this model matches the signal decay. Furthermore, the residuals were carefully visually checked to validate the fit quality. For all the samples, no significant deviations of the residuals was detected. When only a type **c** is present and by using such model, the amplitude of fast and slow components should be 3/5 and 2/5, respectively. Obtaining different amplitude values would highlight the presence of type **d** sodium. The fitting results for the different food matrices are summarized in **Table 4** and **Figure 4**. For the salted trout, the relative fractions were found as 3/5 and 2/5 with transversal relaxation times of 2.7 ms and 22.4 ms for the fast and slow components, respectively. Combining these SQ results with the DQ ones, we concluded that the whole sodium population in the salted trout was of type **c**. The amplitudes estimated for the salted chicken were close to the predicted ones suggesting that almost all the sodium experienced quadrupolar interactions. Regarding the pasta and carrot, the measured population fractions between fast and slow components were far from the expected values of only type **c**. The significant differences from the theoretical values demonstrated the presence of free sodium of type **d** for both salted pasta and carrot samples.

Because of the strong evidence of having two different pools of sodium of type **c** and **d** in the latter food samples, such system should ideally be fitted with a three-exponential model: two components belonging to the type **c** sodium and one for the type **d**. The sodium T_2 relaxation time in water was measured to 53 ms at a concentration of 20 g/l. To be able to resolve this model with such narrow relaxation range, it is critical to have high-SNR data, i.e. higher than 1000 for 3 exponentials [27]. Unfortunately, our experimental conditions were far to reach a sufficient SNR (see **Table 4**), which appears challenging considering the sodium sensitivity.

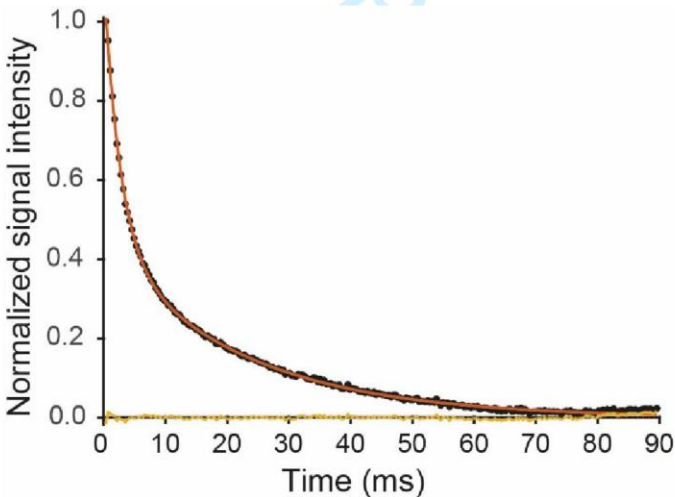


FIGURE 3 Trout ^{23}Na SQ CPMG echoes (black dots) and fitted curve (red line) according to equation 2. The orange line represents the residuals.

TABLE 4 Fast and slow T_2 relaxation times and population fractions resulting from the fitting of the SQ CPMG ^{23}Na data. The SNR is also reported for all samples. Results for the salted trout and for the pasta, chicken and carrot cooked in water with a salt concentration of 20g/L are presented.

Food Matrix	T_2 (ms)	Population	SNR
-------------	------------	------------	-----

	Fast	Slow	Fast	Slow	
Trout	2.7 ± 0.1	22.4 ± 0.3	0.61 ± 0.01	0.39 ± 0.01	34.09
Pasta	2.7 ± 0.1	30.7 ± 1.9	0.80 ± 0.02	0.21 ± 0.01	6.06
Chicken	3.1 ± 0.2	21.9 ± 1.5	0.67 ± 0.03	0.34 ± 0.03	3.72
Carrot	4.4 ± 0.8	25.2 ± 2.2	0.46 ± 0.05	0.54 ± 0.05	2.90

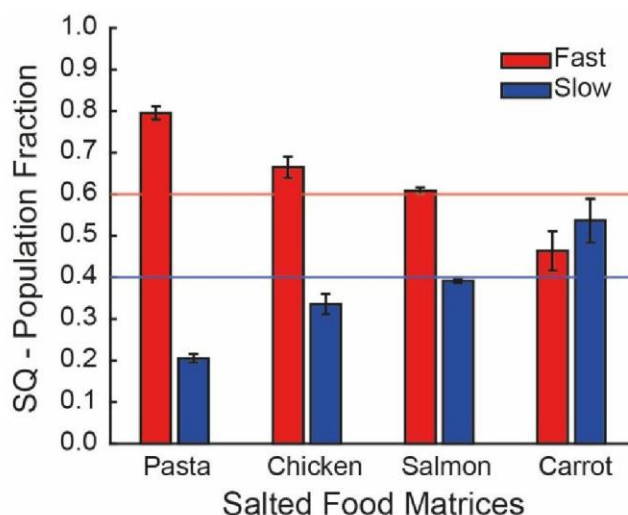


FIGURE 4 Fast and Slow population fraction extracted from the SQ CPMG fitting curve for the smoked salmon and for the pasta, chicken and carrot cooked in water with a salt concentration of 20g/L. The lines represented the theoretical fractions.

4.2. Effect of the salt concentration on the sodium interactions

To strengthen our analysis, we studied the pasta and carrot samples for different salt concentrations as a variation of the quantity of type **c** and type **d** is expected. The SQ and DQ results are summarized in **Table 5**. DQ fitting was not performed for the carrot cooked in 5 g/L salted water because a signal was detectable but too low for being fitted. DQ experiments showed equal fractions for both fast and slow populations for all samples as expected. This confirmed the presence of the sodium of type **c** for the different salt concentrations.

Figure 5 shows the amplitude for each of the two relaxation components for each food and salt concentration. For the pasta samples, the fast population fraction increased with the increase of the salt concentration. An interpretation would be that a pool of free sodium (type **d**) was detected with an increase of its fraction with the cooking water salt concentration. Its relaxation time was probably relatively short as it mostly induced an increase of the fast relaxing SQ fraction. For the carrot samples, it was the slow population fraction that rose with the enhancement of the salt concentration from 5 to 15 g/L, indicating a larger pool of free sodium at every salt level. For the most salted carrot sample, the results were comparable to those obtained at 10 g/L.

TABLE 5 DQ and SQ ^{23}Na relaxation results for the pasta and carrot samples cooked in water with different salt concentrations.

Food Matrix	[Salt] (g/L)	DQ				SQ			
		T ₂ (ms)		Population		T ₂ (ms)		Population	
		Fast	Slow	Fast	Slow	Fast	Slow	Fast	Slow
Pasta	10	0.8 ±0.2	6.9 ±1.2	0.51 ±0.08	0.50 ±0.08	3.0 ±0.2	27.4 ±1.5	0.70 ±0.02	0.30 ±0.02
	20	0.8 ±0.1	6.1 ±0.4	0.50 ±0.03	0.50 ±0.03	2.7 ±0.1	30.7 ±1.9	0.80 ±0.02	0.21 ±0.01
Carrot	5	-	-	-	-	4.9 ±1.0	25.3 ±3.3	0.51 ±0.07	0.49 ±0.08
	10	0.4 ±0.1	25.6 ±3.7	0.51 ±0.08	0.49 ±0.03	3.4 ±0.5	21.9 ±1.4	0.46 ±0.04	0.54 ±0.04
	15	0.8 ±0.2	28.5 ±3.1	0.50 ±0.05	0.50 ±0.03	3.8 ±0.6	23.4 ±1.2	0.39 ±0.03	0.61 ±0.04
	20	0.6 ±0.1	22.8 ±2.5	0.50 ±0.06	0.50 ±0.03	4.4 ±0.8	25.2 ±2.2	0.46 ±0.05	0.54 ±0.05

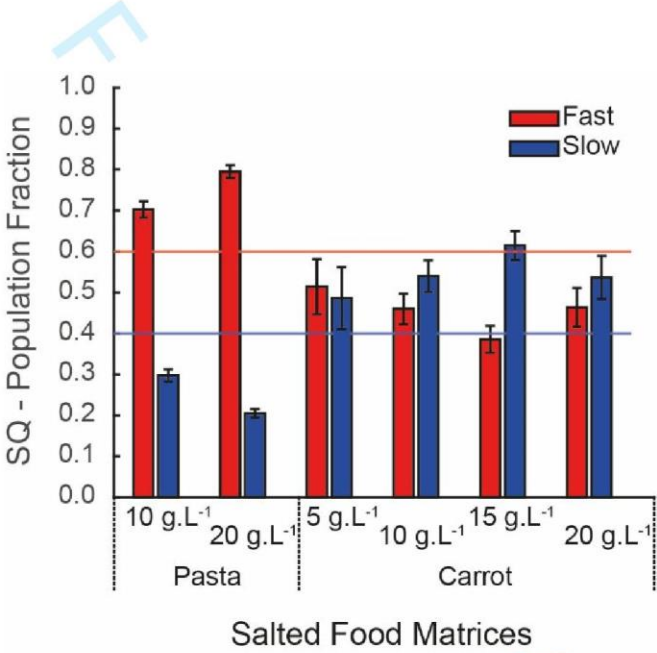


FIGURE 5 Effect of the salt concentration on the SQ fast and slow fraction values for both the pasta and carrot. The lines were drawn at the theoretical fraction values.

Although the DQ study demonstrated the presence of sodium quadrupolar interactions of type **c** for the different salted matrices; the relaxation times, their relative amplitude fractions, and their evolution with the salt concentrations were diverse. Additionally, the salt concentration gradients in the same food matrix, leading to different relaxation times, cannot be ignored. This can be studied through imaging techniques. However, it is difficult to obtain the same accuracy as the analysis presented in this work because it is almost impossible to obtain readily a narrow echo time sampling.

5. Conclusions

This work was a proof of concept that different sodium pools may coexist in food matrices. Indeed, the sodium interactions in food is complex with a combination of type **c** and type **d** sodium. The characterization of the sodium type is critical to quantify it and to understand the relationship with the salted taste. These preliminary results deserve further investigation by repeating the experiments to consider the inter-matrix variability. A larger range of salt concentrations may help to study the evolution of the sodium pools behaviour with the food. Other types of food can be examined to investigate the dependence of the quadrupolar interactions with various matrices. For proper salt quantification, it is critical to have an excellent knowledge of the different sodium pools.

ACKNOWLEDGEMENT

This research has received funding from the Conseil Régional d'Auvergne (Grant No CPER 2015-2020-EPICURE), the European FEAMP project InnoSalt (PFEA470018FA1000012 2019-2022) and the French ANR project Sal&Mieux (ANR-19-CE21-0009 2020-2024).

References

- [1] Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020: World Health Organization; 2013.
- [2] Kuo WY, Lee YS. Effect of Food Matrix on Saltiness Perception-Implications for Sodium Reduction. *Compr. Rev. Food. Sci. Food Saf.* 2014;13(5):906-923.
- [3] Kobayakawa T, Saito S, Gotow N, Ogawa H. Representation of Salty Taste Stimulus Concentrations in the Primary Gustatory Area in Humans. *Chemosens. Percept.* 2008;1(4):227-234.
- [4] Colmenero FJ, Ayo MJ, Carballo J. Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Sci.* 2005;69(4):781-788.
- [5] Ruusunen M, Vainionpää J, Lyly M et al. Reducing the sodium content in meat products: The effect of the formulation in low-sodium ground meat patties. *Meat Sci.* 2005;69(1):53-60.
- [6] Lauverjat C, Deleris I, Trelea IC, Salles C, Souchon I. Salt and Aroma Compound Release in Model Cheeses in Relation to Their Mobility. *J. Agric. Food Chem.* 2009;57(21):9878-9887.
- [7] Panouille M, Saint-Eve A, de Loubens C, Deleris I, Souchon I. Understanding of the influence of composition, structure and texture on salty perception in model dairy products. *Food Hydrocolloids* 2011;25(4):716-723.
- [8] Ishida N, Kobayashi T, Kano H, Nagai S, Ogawa H. ^{23}Na -NMR Imaging of Foods. *Agricultural and Biological Chemistry* 1991;55(9):2195-2200.
- [9] Aursand IG, Erikson U, Veliyulin E. Water properties and salt uptake in Atlantic salmon fillets as affected by ante-mortem stress, rigor mortis, and brine salting: A low-field ^1H NMR and $^1\text{H}/^{23}\text{Na}$ MRI study. *Food Chem.* 2010;120(2):482-489.
- [10] Aursand IG, Veliyulin E, Bocker U, Ofstad R, Rustad T, Erikson U. Water and Salt Distribution in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Studied by Low-Field ^1H NMR, ^1H and ^{23}Na MRI and Light Microscopy: Effects of Raw Material Quality and Brine Salting. *J. Agric. Food Chem.* 2009;57(1):46-54.
- [11] Erikson U, Veliyulin E, Singstad TE, Aursand M. Salting and desalting of fresh and frozen-thawed cod (*Gadus morhua*) fillets: A comparative study using ^{23}Na NMR, ^{23}Na MRI, low-field ^1H NMR, and physicochemical analytical methods. *J. Food Sci.* 2004;69(3):E107-E114.
- [12] Bertram HC, Holdsworth SJ, Whittaker AK, Andersen HJ. Salt diffusion and distribution in meat studied by ^{23}Na Nuclear Magnetic Resonance Imaging and Relaxometry. *J. Agric. Food Chem.* 2005;53(20):7814-7818.
- [13] Gallart-Jornet L, Barat JM, Rustad T, Erikson U, Escriche I, Fito P. A comparative study of brine salting of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Eng.* 2007;79(1):261-270.
- [14] Gudjonsdottir M, Traore A, Jonsson A, Karlsdottir MG, Arason S. The effects of pre-salting methods on salt and water distribution of heavily salted cod, as analyzed by ^1H and ^{23}Na MRI, ^{23}Na NMR, low-field NMR and physicochemical analysis. *Food Chem.* 2015;188:664-672.
- [15] Boisard L, Andriot I, Arnould C, Achilleos C, Salles C, Guichard E. Structure and composition of model cheeses influence sodium NMR mobility, kinetics of sodium release and sodium partition coefficients. *Food Chem.* 2013;136(2):1070-1077.
- [16] Gobet M, Foucat L, Moreau C. Investigation of Sodium Ions in Cheeses by ^{23}Na NMR Spectroscopy. Guojonsdottir M, Belton P, Webb G, editors. Cambridge: Royal Soc Chemistry; 2009. 57-64 p.
- [17] Okada KS, Lee Y. Characterization of Sodium Mobility and Binding by ^{23}Na NMR Spectroscopy in a Model Lipoproteic Emulsion Gel for Sodium Reduction. *J. Food Sci.* 2017;82(7):1563-1568.
- [18] Rosett TR, Shirley L, Schmidt SJ, Klein BP. Na^+ Binding as Measured by ^{23}Na Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Influences the Perception of Saltiness in Gum Solutions *J. Food Sci.* 1994;59(1):206-210.

- [19] Boisard L, Andriot I, Martin C et al. The salt and lipid composition of model cheeses modifies in-mouth flavour release and perception related to the free sodium ion content. *Food Chem.* 2014;145:437-444.
- [20] Mosca AC, Andriot I, Guichard E, Salles C. Binding of Na⁺ ions to proteins: Effect on taste perception. *Food Hydrocolloids* 2015;51:33-40.
- [21] Wang XJ, Wang XW, Feng TT, Shen Y, Xia SQ. Saltiness perception enhancement of fish meat treated by microwave: The significance of conformational characteristics, water and sodium mobility. *Food Chem.* 2021;347:9.
- [22] Madelin G, Lee JS, Regatte RR, Jerschow A. Sodium MRI: Methods and applications. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 2014;79:14-47.
- [23] Rooney WD, Springer CS. A Comprehensive Approach to the Analysis and Interpretation of the Resonances of Spins 3/2 from Living Systems. *Nmr in Biomedicine* 1991;4(5):209-226.
- [24] Rooney WD, Springer CS. The Molecular Environment of Intracellular Sodium: ²³Na NMR Relaxation. *Nmr in Biomedicine* 1991;4(5):227-245.
- [25] Meadows MD, Smith KA, Kinsey RA, Rothgeb TM, Skarjune RP, Oldfield E. High-Resolution Solid-State NMR of Quadrupolar Nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Physical Sciences* 1982;79(4):1351-1355.
- [26] KempHarper R, Brown SP, Hughes CE, Styles P, Wimperis S. ²³Na NMR methods for selective observation of sodium ions in ordered environments. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 1997;30:157-181.
- [27] Clayden NJ, Hesler BD. Multiexponential Analysis of Relaxation Decays. *Journal of Magnetic Resonance* 1992;98(2):271-282.

3. DISCUSSION

Nous avons démontré qu'en fonction de l'aliment plusieurs compartiments de sel pouvaient coexister se différenciant ainsi de ce qui est décrit dans la littérature du vivant. Ce travail préliminaire s'est focalisé sur quelques aliments contrastés qui seront à l'avenir étudiés par analyse sensorielle. Des études plus approfondies sont nécessaires en RMN. La multiplication des aliments et des conditions expérimentales comme la concentration en sel ou le processus (aliment entier vs purée par exemple) sont indispensables pour pouvoir mieux comprendre/prédire la présence des différents compartiments de sel. De plus, il est nécessaire d'étudier la répétabilité des mesures (même échantillon) ainsi que leurs reproductibilités (même produit mais préparation à différents temps, par différents opérateurs). Tandis qu'il est facile de mettre en évidence la présence d'interactions quadripolaires en utilisant des filtres multi-quanta, la population de sodium ne présentant pas ces interactions n'est mise en évidence que de manière indirecte à partir de l'analyse de la décroissance CPMG. Idéalement, un modèle à (au moins) trois exponentielles devrait alors être ajusté : deux exponentielles pour la population interagissant avec l'aliment et une pour la population « libre ». Cependant, le SNR de la décroissance CPMG est trop faible pour ajuster un tel modèle d'où l'utilisation du modèle bi-exponentiel suivi d'une analyse basée sur le rapport des populations. La mise en œuvre d'une méthode permettant de filtrer le sodium ne présentant pas d'interactions quadripolaires serait idéale. A notre connaissance, une telle séquence n'existe pas. Cette caractérisation en spectroscopie RMN est indispensable mais ne prend pas en compte les possibles hétérogénéités qui peuvent exister localement dans l'aliment tant dans la compartimentation du sel que dans la quantité. Pour obtenir une information locale dans le produit, il est indispensable d'aller vers de l'IRM.

L'imagerie IDEAL spiral développée dans le chapitre précédent aurait pu être une méthode de choix pour imager les interactions quadripolaires du sodium avec l'aliment. En effet, le spectre du sodium dans les aliments ne contient que peu de fréquences. La présence de sodium de type a ou b produisant des pics satellites, les images reconstruites aux fréquences de ces signaux correspondraient spécifiquement aux signaux DQ. Pour aucun des aliments étudiés, du sodium de type a ou b n'a été observé. Il est probable que ceci soit le cas pour la plupart des aliments car leur matrice n'est pas suffisamment structurée. Toutefois, tout le travail réalisé sur la conception de la trajectoire spirale avec des noyaux X (voir chapitre II – 3. Imagerie du ^{23}Na) est utile pour l'imagerie du ^{23}Na pour une analyse de relaxation simple quanta (équivalente à celle réalisée en spectroscopie dans le manuscrit). Une autre solution pour localiser les populations de type c est de réaliser une séquence d'imagerie contenant un filtre multi-quanta. De telles expériences peuvent théoriquement être réalisées [193] mais se heurtent à

un SNR faible. Cependant, cette expérience ne permettra pas de conclure quant à la présence ou non d'une fraction n'étant pas liée à l'aliment.

Pour pouvoir quantifier le sel en imagerie, à cause des temps de relaxation très courts de ce noyau, il est indispensable d'enregistrer le signal à partir d'un TE suffisamment court par rapport au T_2^* et avec une résolution temporelle suffisante pour pouvoir ajuster le modèle de décroissance et ainsi estimer le signal à TE nul. Un des moyens est d'enregistrer une expérience CSI et d'exploiter la FID en chaque voxel. Cette approche donne de bons résultats comme démontré dans le papier auquel j'ai participé et présenté en annexe. Cette approche repose sur la validité du modèle. Dans cet article, comme dans la plupart des articles de quantification en imagerie, le modèle considéré est un type c unique. Or, les résultats de spectroscopie ont démontré que cela n'était pas forcément le cas. Cela peut expliquer l'invisibilité persistante du sodium dans les études portant sur les aliments. Une solution est d'aller vers de l'imagerie à TE nul pour voir l'ensemble des populations.

Ces caractérisations de l'état de liaison du sel avec l'aliment sont aussi indispensables pour mieux comprendre et prédire le ressenti de la sensation salée par le consommateur. La consommation de sel dans nos sociétés étant trop élevée, la problématique est d'arriver à diminuer la quantité de sel dans les aliments ingérés tout en préservant les propriétés organoleptiques auxquelles le consommateur est habitué. Partant du principe que la sensation salée dépend de la concentration, de la répartition et de l'état de liaison du sodium, les analyses RMN capables de mesurer simultanément ces trois dimensions dans les aliments réels sont donc des méthodes de choix pour aider à la conception d'aliments à la fois moins salés et appréciés.

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce manuscrit a été consacré tout d'abord à la mise en place d'une méthode d'imagerie spectroscopique rapide dans le but d'étudier le métabolisme *in vivo* à l'aide de molécules marquées en ^{13}C et hyperpolarisées. Sans travail expérimental sur des molécules hyperpolarisées, ce travail méthodologique a été difficile à valoriser. Pourtant, mettre en place de telles approches n'est pas trivial et a occupé une part importante du temps consacré à cette thèse. De plus, ce travail a permis de renforcer plusieurs collaborations. La reconstruction des cartes métabolites ainsi que la correction des erreurs de phases ont été menés avec Hélène Ratiney (Université de Lyon, INSA-Lyon, CNRS, CREATIS). Ce dernier travail a été valorisé sous forme d'article dans *Journal of Magnetic Resonance* et présenté dans plusieurs congrès. Une collaboration avait également été initiée avec Sami Jannin (Université de Lyon, Centre de RMN à Très Hauts Champs de Lyon, CNRS) pour mener à bien des développements sur l'hyperpolariseur et notamment la mise en place de la polarisation croisée. L'équipement étant toujours dysfonctionnel, notre collaboration s'est tournée sur l'imagerie *in vivo* à l'aide de molécules hyperpolarisées à Lyon puis transportées à Theix où elles seront injectées. Ce front de science est une révolution dans le domaine de l'imagerie utilisant des produits hyperpolarisés. En effet, un seul site central pourrait hyperpolariser les molécules puis les distribuer aux différents utilisateurs pour l'imagerie préclinique et clinique. Cette perspective est à l'image de ce qui existe aujourd'hui en imagerie nucléaire de type TEP, présente dans beaucoup d'hôpitaux pour l'imagerie chez l'homme mais pour laquelle la production du radiotracer n'est effectuée que dans quelques cyclotrons. Grâce à ces collaborations, un consortium regroupant trois expertises complémentaires a été formé : l'hyperpolarisation des molécules et leur transport par l'équipe de Sami Jannin, l'expérimentation préclinique à AgroResonance et le traitement des données avec Hélène Ratiney.

La seconde partie de mon travail a consisté à caractériser les états de liaison du sodium dans les matrices alimentaires salées. La coexistence de plusieurs états de liaison a été démontrée dans la plupart des produits étudiés, ce qui est un résultat princeps dont les conséquences sont de plusieurs ordres. Cette compartimentation complexifie d'abord la quantification du sodium par IRM et plus particulièrement les approches fondées sur un modèle pour s'affranchir de l'invisibilité par relaxation T_2 . Connaître localement les proportions de chacun des compartiments nécessite des recherches futures. Par ailleurs, l'existence de plusieurs types de sel, plus ou moins liés à la matrice, est une piste intéressante pour comprendre et optimiser l'intensité de la perception du goût salé dans les aliments.

L'augmentation de l'intensité des champs magnétiques dans les imageurs cliniques (à 7 T aujourd'hui) rencontre aujourd'hui un réel engouement. Il s'explique bien sûr par l'augmentation de la sensibilité qui autorise notamment l'imagerie des noyaux X et notamment du sodium. Il n'est alors pas à exclure que la compartimentation du sodium, mis en évidence dans les aliments à des concentrations pas si différentes, puisse être observée aussi dans certains tissus *in vivo*.

Si, pour des raisons extérieures, il n'a pas été possible de mener des expériences en hyperpolarisation par dissolution, mon travail ouvre des perspectives pour les mêmes applications mais avec d'autres approches d'hyperpolarisation. J'ai dû évidemment m'adapter et cibler un autre noyau X pour des applications en agroalimentaire et à moyen terme en imagerie *in vivo*. Au cours de cette thèse, j'ai acquis des compétences pluridisciplinaires en biologie et science des aliments, en RMN au sens large et en traitement de signal pour analyser les données obtenues. En effet, j'ai à la fois développé des méthodes d'acquisition originales et les traitements des données en imagerie et en spectroscopie. Outre que les compétences acquises me seront utiles à titre personnel, mes recherches possèdent un caractère générique qui permettent d'entrevoir un large spectre d'applications en sciences des aliments, en physiologie et en médecine.

ANNEXE

Quantitative sodium MRI in foods: addressing sensitivity issues using single quantum chemical shift imaging at high field

Sylvie Clerjon, Nour El Sabbagh, Guilhem Pages, Amidou Traore, Jean-Marie Bonny

Abstract

According to various health organizations, the global consumption of salt is higher than recommended and needs to be reduced. Ideally, this would be achieved without losing the taste of the salt itself. In order to accomplish this goal, both at the industrial and domestic level, we need to understand the mechanisms that govern the final distribution of salt in food. The in-silico solutions in use today greatly over-simplify the real food structure. Measuring the quantity of sodium at the local level is key to understanding sodium distribution. Sodium MRI, a non-destructive approach, is the ideal choice for salt mapping along transformational process. However, the low sensitivity of the sodium nucleus and its short relaxation times make this imaging difficult. In this paper, we show how sodium MRI can be used to highlight salt heterogeneities in food products, provided that the temporal decay is modelled, thus correcting for differences in relaxation speeds. We then propose an abacus which shows the relationship between the signal to noise ratio of the sodium MRI, the salt concentration, the B₀ field and the spatial and temporal resolutions. This abacus simplifies making the right choices when implementing sodium MRI.

Keywords

²³Na; sodium MRI; food; quantitative MRI; relaxation time; quadripolar interactions; dry cured ham; cooked carrot

Introduction

Although the role that salt plays in food conservation (Sofos 1984) and as a flavoring agent (Leshem 2009, Liem, Miremadi et al. 2011) cannot be underestimated, public health organizations recommend reducing its consumption (World Health Organization 2013). Currently, in western countries, the elevated sodium intake strongly increases the risks for certain diseases, mostly those associated with an increase in blood pressure (Sacks, Svetkey et al. 2001, Dickinson, Mason et al. 2006). Excessive consumption of salt is also associated with gastric cancer (Correa 1992, Yang, Chen et al. 2011). Finally, the excessive consumption of salt is suspected in elevating the risk of osteoporosis (Devine, Criddle et al. 1995), kidney stones (Cappuccio, Kalaitzidis et al. 2000), cataracts (Tavani, Negri et al. 1996) and type II diabetes (Hu, Jousilahti et al. 2005). There exist two principal levers to diminish consumption: reducing the quantities used during industrial food production, as well as modifying domestic culinary practice. In order to take advantage of these two levers, it is necessary to precisely know the exact distribution of salt throughout every step of the industrial and domestic food preparation process. Understanding this distribution is necessary, both for sanitary reasons as well as for organoleptic function. The reduction of salt in food must be achieved without diminishing its perception, as its taste is an essential organoleptic property of food. To this end, it is well known (Emorine, Septier et al. 2013, Syarifuddin, Septier et al. 2016) that the distribution of salt plays a crucial role in its perception. Being able to determine its location in 3 dimensions becomes indispensable when

addressing the question of reducing salt in food. To achieve this, there exist two approaches: mathematical models and experimental measurement. Mathematical models often rely on significant oversimplification of the structure of the food product, leading to an incomplete analysis. However, there do exist some thorough, in-depth models such as a whole dried ham with bone (Harkouss, Chevarin et al. 2018). When a mathematical model does not exist, local measurements are used at specific moments during salt distribution. Magnetic Resonance Imaging (MRI) of sodium is a non destructive tool which allows local, 3D measurement of the concentration of sodium nuclei in an intact article of food. MRI is therefore the tool of choice when mapping the salt content of food throughout every stage of its production. It provides an alternative to destructive, time-consuming and spatially unresolved analysis methods such as ion chromatography (Sherman, Danielson et al. 1988, Mirade, Portanguen et al. 2020).

Although the applications of proton MRI in food science are numerous, MRI is not as common. This is principally because of the difficulties associated with the low relative sensitivity of sodium compared to the proton (0.0925) and the quadrupolar electric moment of the sodium nucleus. The relaxation of sodium is very sensitive to internal electric fields, which can cause both short and multiple T2 (Rooney and Springer 1991, Madelin, Lee et al. 2014). Despite the low sensitivity of the nucleus, spatial resolution should be able to assess the spatial variations of the quantity of salt in relation to the structure of the product (for example, the salt gradient of ham during salting is affected by the presence of fat tissue). Temporal resolution should be sufficient to track the distribution of salt during every stage of a given food process. Unfortunately, the low sensitivity of the ^{23}Na nucleus will of course limit the signal to noise ratio, and is also the reason why spatial and temporal resolutions degrade in relation to ^1H .

Some researchers have already obtained results by applying sodium MRI to food products. Ishida et al. tracked salt diffusion for six days during the pickling of a cucumber in soybean paste (Ishida, Kobayashi et al. 1991). These images were captured at 6.3T with a voxel volume of $0.8 \times 0.8 \times 8 \text{ mm}^3$ and a very elevated salt content (1M). After their experiment, the authors concluded that it was necessary to develop short TE sequences in order to access the entirety of the Na^+ ions, especially the most bounded ones, and to use more powerful antennas. The Norwegian team at SINTEF used sodium MRI to extensively investigate the optimization of the salting of fish, in particular studying the effect of the raw material on salt diffusion (Erikson, Veliyulin et al. 2004, Aursand, Veliyulin et al. 2009, Aursand, Erikson et al. 2010). In these three papers, the authors obtained images of the sodium in a fish filet from about 171mM with field dependent voxel volumes. The images were $1.25 \times 1.25 \times 30 \text{ mm}^3$ and $1 \times 1 \times 15 \text{ mm}^3$ at 2.35T and $1 \times 1 \times 10 \text{ mm}^3$ at 7 T. In these studies, the sodium MRI was combined with a low-field T2 relaxation analysis. This combination demonstrated that the mobility of certain water populations in muscle tissue increases with salting due to the alteration of interactions between water molecules and macromolecules. Intense fields of 7T were used (Aursand, Erikson et al. 2010) in order to counteract the low sensitivity of sodium and to reduce the voxel volume to $1 \times 1 \times 10 \text{ mm}^3$. In this paper, classical imaging techniques were used and the low sensitivity necessitated certain adaptations. According to Bertram 2005, when acquiring images at 2T in a full body scan, the larger voxel volume of $1.9 \times 1.9 \times 40 \text{ mm}^3$, induced blurring when mapping the sodium, due to the larger thickness of the slice. All of these examples of sodium MRI applied to food products demonstrate that the voxel value may be reduced when the B_0 field is increased. Currently this optimization is performed in a heuristic manner, on a case by case basis, as no mathematical models exist which allow us to estimate the signal to noise ratio as it pertains to voxel value, B_0 field and salt concentration.

In MRI, images are obtained at a specific time (called echo time, TE), which is often non negligible when compared to the T2 relaxation time of sodium. Consequently, if the images are not corrected

for the relaxation time, they underestimate the quantity of sodium (Renou, Benderbous et al. 1994, Vestergaard, Risum et al. 2005). Veliyulin et al. (Veliyulin and Aursand 2007) are particularly involved in studying the question of the invisibility of the most bonded sodium, which has the fastest relaxation, in the muscle tissue of salted fish (cod and salmon). In Veliyulin study, the signal loss is corrected by assuming a mono-exponential decay of the signal. Despite this correction, invisible sodium content is non negligible and depends on the salt concentration. Indeed, 89% of sodium is visible for the lightly salted cod, and only 22% for the heavily salted salmon. One solution to improve the visibility of the sodium nucleus while reducing the confusing effects of T2 relaxation is to use short TE sequences, such as Single Point Imaging (SPI) or SPRITE (Veliyulin, Aursand et al. 2009, Veliyulin, Egeland et al. 2009). Recently, quicker alternative short TE sequences have been introduced (Nielsen-Vallespin, Weber et al. 2007) (Utzschneider, Muller et al. 2021). The principle is to traverse the Fourier plane during relaxation, since spatial resolution (i.e. the point spread function (PSF)) depends on the relaxation and strongly degrades as the T2* diminishes.

In this paper, quantitative sodium nucleus maps obtained at 4.7T and 9.4T were reconstructed on two food products, whose salt concentrations covered a wide range. The two products used were a carrot cooked in slightly salted water which presented a final salt content in the order of 100 mM, as well as a dry Norwegian ham with a salt content of about 800 mM. Instead of using short TE approaches, a spectroscopic method was used which allows for the acquisition of a very well resolved free induction decay (FID) in the temporal dimension without the interdependence of spatial resolution and relaxation. Although these techniques are not generally used due to their lack of speed, they are well suited to our context, where the distribution of salt is stable during image set acquisition time (approx. 2 hours). To correct for the visible sodium, an AMARES model was adjusted for temporal signals (Vanhamme, van den Boogaart et al. 1997). Based on the map obtained, a mathematical model was developed that allowed to link the signal-to-noise ratio to the voxel volume, the salt concentration and the B0 field.

Materials & Methods

Samples

The first sample was a peeled carrot cultivar (*Daucus carota* subsp. *Sativus*, local purchase) length 8 cm, diameter 2 cm (weight=24g) cooked for 25 minutes in boiling salted water ([NaCl]=171mM). The carrot was surrounded by three reference tubes containing respectively 85, 171 and 342 mM of NaCl in gelatin from porcine skin (5% in weight, gel strength 300, Type A, Sigma).

The second sample was a 3 kg entire Norwegian dry cured ham (length 33 cm, width 12 cm, height 8 cm). The ham was surrounded by four reference tubes divided in two groups containing respectively 0.513 and 1.71 M of NaCl in gelatin from porcine skin (5% in weight, gel strength 300, Type A, Sigma).

Three other reference tubes were used for the abacus construction at 9.4 T. One tube consisted of 150mM of NaCl and 1mM CuSO4 in gelatin from porcine skin (5% in weight, gel strength 300, Type A, Sigma), one tube consisted in 150mM of NaCl and 1mM CuSO4 in agar gel (1.5 % w/w, Noble Agar, Sigma-Aldrich) and the last tube consisted of 75mM of NaCl and 0.5mM CuSO4 in agar gel (1.5 % w/w, Noble Agar, Sigma-Aldrich).

MRI

Carrot investigations were performed on a 9.4 T Bruker Ascend 400WB instrument (Bruker, Ettlingen, Germany) equipped with a microimaging accessory and using a 32 mm diameter linear 1H/23Na

birdcage radiofrequency Bruker coil used for both excitation and signal reception at 106 MHz for sodium.

For the entire ham, investigations were performed on a horizontal Biospec 4.7 T MRI system (Bruker GmbH, Ettlingen, Germany), with a 26 cm diameter bore equipped with a BGA-26 gradient system and a Doty (DOTY Scientific Inc., Columbia, USA) quadrature-polarized coil ($^1\text{H}/^{23}\text{Na}$) for both emission and signal reception at 53 MHz for sodium (Doty, Doty et al. 2018).

The MRI method is based on the chemical shift imaging (CSI) approach introduced by Brown et al. (Brown, Kincaid et al. 1982). It is based on a Cartesian path of the 2D Fourier plane using gradient pulses in the x and y directions (i.e. phase encoding steps) and a selective excitation of a thick slice in the z direction. Shinnar-Le Roux (SLR) type selective pulses are calibrated at 90° . For a given slice, the information is multidimensional, since an FID signal is obtained in each voxel. The temporal sampling of this decay is obtained from the echo time (TE) with an elevated resolution (see Table 1).

B0 (T)	Object	In plane vox. size (mm)	Slice thickness (mm)	Temporal resol. (μs)	TE/TR (ms/ms)	Total duration
9.4	Carrot and tubes	0.5*0.5	8	12	0.95/500	1h30
4.7	Ham and tubes	2*2	8	5	5.4/200	2h15

Table 1: CSI sequence details for 9.4 and 4.7 T sodium MRI acquisitions.

Post-processing

In each voxel, the FID signal was adjusted with the AMARES approach (Vanhamme, van den Boogaart et al. 1997). The principle was to fit the time-domain FID signal in each voxel with an exponentially dampened sinusoid (i.e. Lorentzian lines after Fourier transform). This fitting provided 4 parameter estimates of amplitude a , damping $d = 1/T_2^*$, frequency offset and phase shift. This adjustment was performed in several steps. First, parameter guesses were obtained separately, then all the parameters were estimated in the least-squares sense based on the complex time-domain data. The quality of this adjustment is shown in the supplementary data. The main benefit of this approach is the ability to control the quality of the mono-exponential relaxation model on a lot of points in order to obtain an amplitude which has been corrected for the effects of relaxation as well as for inhomogeneities in the B0 field. To highlight the effect of AMARES correction, amplitude maps were compared to the raw images. Raw images are obtained from the CSI acquisitions by averaging the first points of the FID; for the carrot, the first twenty points out of 2048 were averaged, for the ham, the first 80 points out of 8192 were averaged.

The final stage consists of converting the amplitude map obtained by AMARES into a volumetric concentration map. To this end, the average AMARES amplitude a_i in each reference tube was measured. A linear model $a_i = k[\text{concentration}]_i$ was adjusted in order to link these amplitudes with previously known reference tubes volumetric concentrations. The final concentration map was generated by dividing the amplitude map by the obtained k coefficient. The same conversion steps were performed on the raw image.

The SNR of the AMARES amplitude a map was also mapped. This parameter indicated the achieved amplitude in relation to the propagated noise levels in the map acquired by AMARES. It is based on the Cramér-Rao lower bound for a single peak (Cavassila, Deval et al. 2000) which provides an algebraic expression of the minimal standard deviation (SD) of the estimated amplitude

$$CRB_a = 2\sqrt{-\hat{d}t_s\sigma}$$

where t_s is the temporal resolution given in the tab. 1 and σ is the SD of noise affecting the FIDs. σ is obtained by calculating the SD of the terminal part of the complex FID, as this is the only part where noise is expressed. In each voxel the SNR is obtained as follows

$$SNR = \hat{a}/CRB_a$$

The mean SNR was measured in each reference tube. Then, each SNR measurement is normalized by $(\sqrt{N} \times \text{voxel volume})$, N being the accumulation factor during acquisition. These measurements were represented as a function of the known salt concentration.

Results and discussion

We applied the multidimensional MRI method on our carrot and ham samples. For both samples, we compare here the raw images, and the amplitude maps resulting from the AMARES fitting. Figure 1a presents sodium MRIs obtained at 9.4 T in a carrot cooked for 25 minutes in boiling salted water ([NaCl]=171mM). The carrot is surrounded by three reference tubes containing respectively 85, 171 and 342 mM of NaCl in gelatin. The left image is the raw MRI and the right image is the AMARES amplitude map. The first positive effect of such processing is the correction of different relaxation behavior in the reference tubes. Indeed, in figure 1b, the relation between the FID mean signal (raw image, left) and the AMARES amplitude (right) and the salt content is compared. At 9.4 T, for our range of reference tubes, the linear model fits better with the AMARES amplitude than with the FID mean signal.

The results obtained in the carrot sample show an inhomogeneous distribution of salt concentration. The gradient in the carrot is consistent with the salting process, as the salt water permeates the carrot during the cooking process from the exterior to the interior. The concentration around the periphery (approx. 120mM) is logically inferior to that of the salt water (171mM). We also observed that the AMARES correction significantly highlighted the spatial differences of the concentrations, which is explained by the effect of the salt concentration on the relaxation. Indeed, an increase in sodium leads to faster relaxation (Veliyulin and Aursand 2007). On the non-corrected images, a signal increase due to higher nucleus density is compensated by a decay due to relaxation, and vice versa. These results demonstrate that the relaxation of the visible signal should not be ignored.

The same quantitative MRI protocol was applied to the second sample, a Norwegian dry cured ham at 4.7T. Figure 2a presents raw (left) and corrected (right) sodium MRI of the whole ham surrounded by four reference tubes (2 x 513mM and 2 x 171mM). It should be noted that the correction does not improve sodium calibration (fig.2b). In other words, the relaxation behaves here identically in the four reference tubes. However, AMARES correction significantly changed the measured salt content in the whole ham from 172 to 206mM. Just as before, this result demonstrates that relaxation cannot be ignored when the imaging method leads to TE of the order of magnitude of the T2* of the food (about 8ms in our ham).

Figure 2c also presents a comparison between salt content in the fat covered muscle and in the uncovered muscle (see position on fig.2a), for the raw and for the corrected sodium MRI. The AMARES correction enables to significantly differentiate the salt content in these two parts.

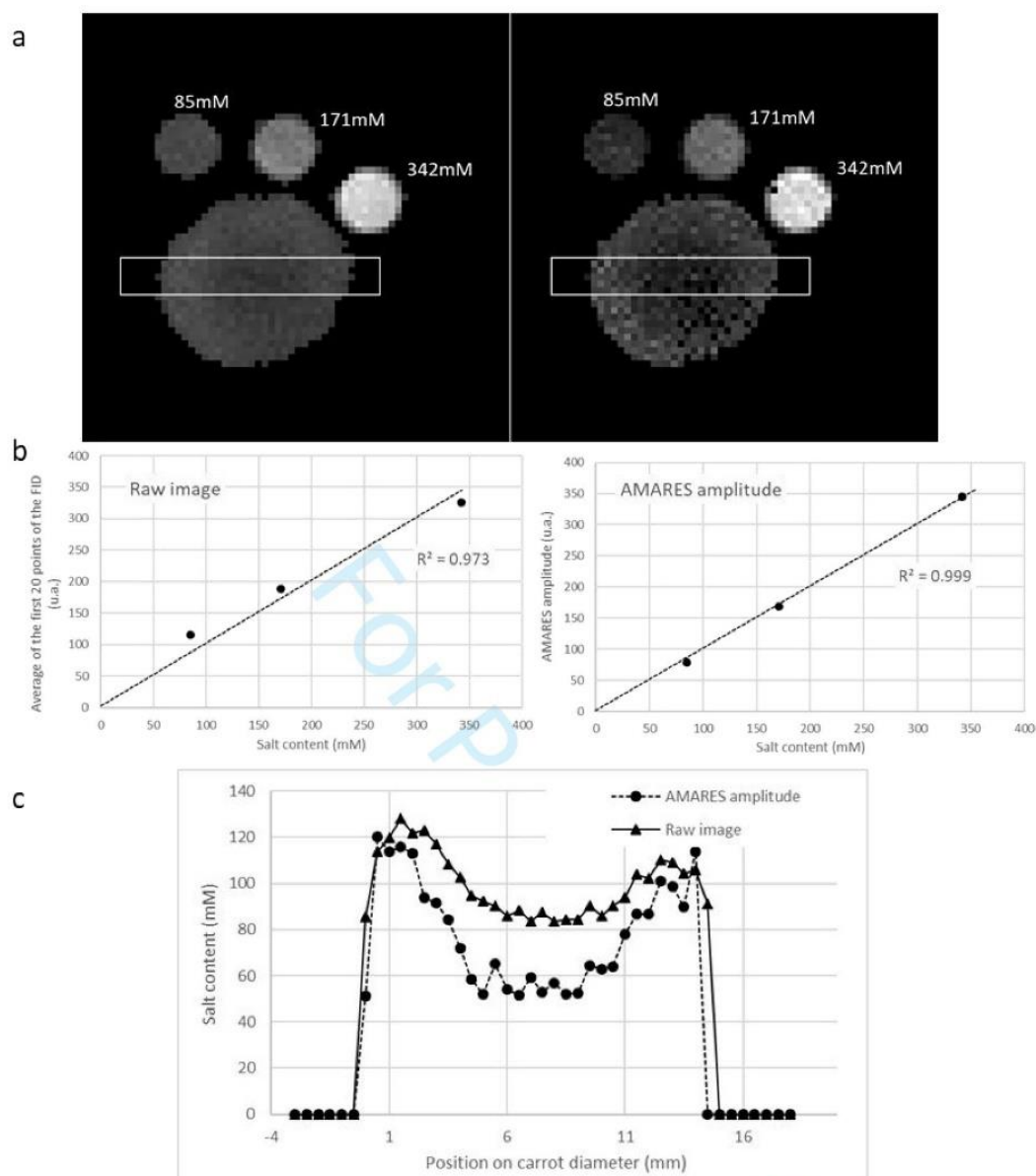


Figure 1: effect of AMARES correction on the sodium MRI of the carrot sample. a. raw (left) and corrected (right) sodium MRI, b. linear relationship between the NMR signal and the salt content in the reference tubes, before (left) and after (right) correction, c. salt content profile in the carrot before and after correction.

These two application examples show the importance of correcting for relaxation differences in order to achieve a realistic quantitative sodium MRI. They reveal salt variations that are almost insignificant at times (a few tens of mM), but which are essential when it comes to optimizing a process for calculating the exact amount of needed salt. In our application, we significantly differentiate a sodium concentration of 171 ± 30 mM in the covered muscle between a sodium concentration of 213 ± 30 mM in the uncovered muscle. In addition to distribution, the mobility of the sodium ions plays a major role in the perception of the salt's taste. The amount of the least bonded sodium, with a mono exponential relaxation, as observed in solution, correlates both with sodium release in saliva and salt perception (Boisard, Andriot et al. 2014, Mosca, Andriot et al. 2015). The CSI method used here also has the benefit of being able to measure the local $T2^*$, which gives a general idea of the mobility of the sodium nucleus.

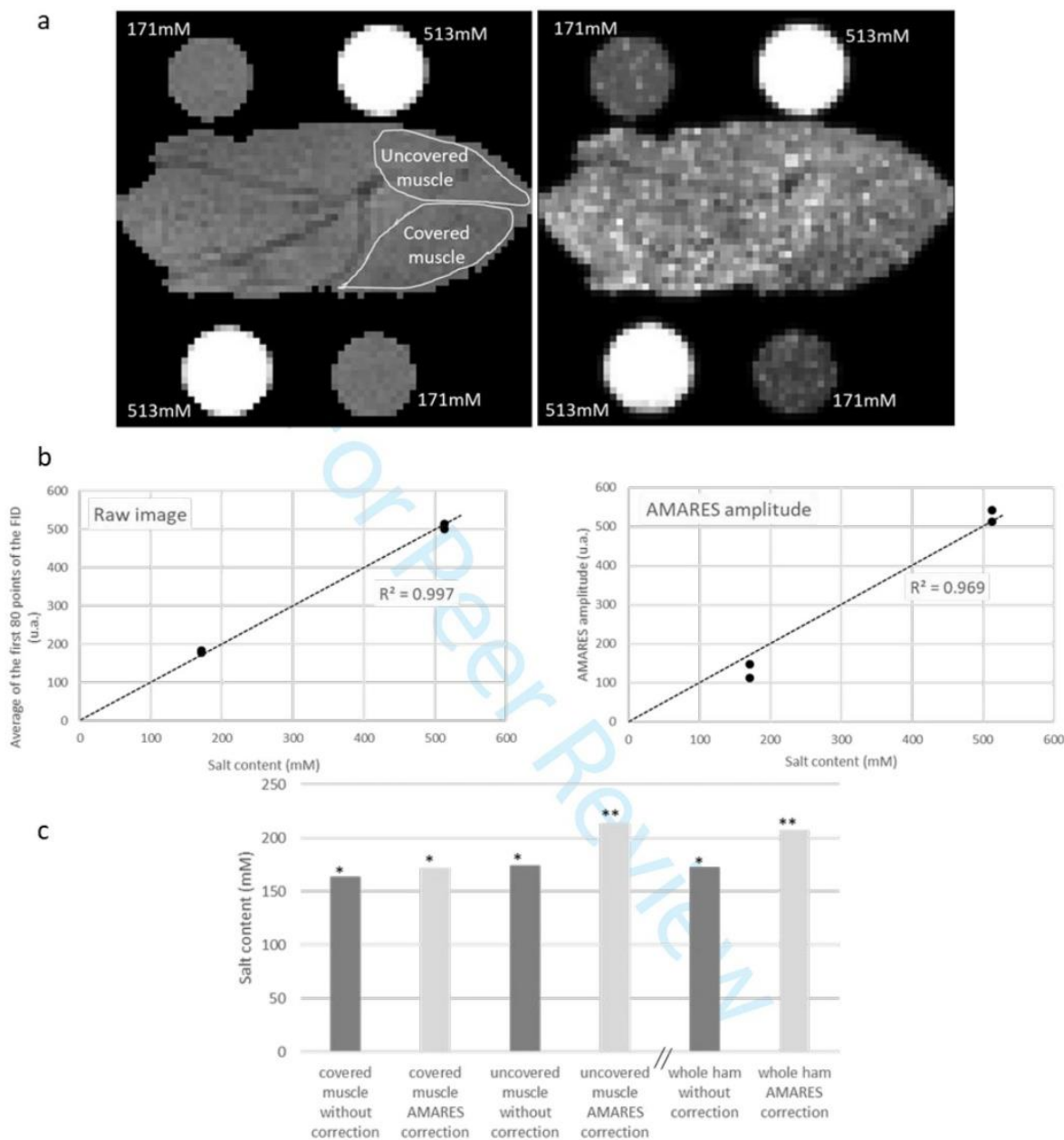


Figure 2: effect of AMARES correction on the sodium MRI of the ham sample. a. raw (left) and corrected (right) sodium MRI, b. linear relationship between the NMR signal and the salt content in the reference tubes, before (left) and after (right) correction, c. salt content measurement in the covered muscle, uncovered muscle and in the whole ham, with and without correction.

Apart from the relaxation differences and B0 heterogeneities discussed here, other biases exist when it comes to quantifying sodium, such as the heterogeneities of the RF b1+ field in the sample. These heterogeneities are all the greater when the B0 field is high (and then wavelengths are short). It is possible to quantify and correct the b1+ field (Bouhrara and Bonny 2012) (Pohmann and Scheffler 2013). However, these approaches were mainly implemented in 1H. It remains to be verified that the improvement in systematic error is not offset by an increase in uncertainty, as it is likely that the b1+ maps obtained in sodium are highly affected by noise propagation.

In addition to correcting for relaxation effects, because of the low sensitivity of the sodium nucleus, it is particularly important in sodium MRI to adjust the volume of the voxel to obtain sufficient SNR. Rather than proceeding by heuristic optimization, an abacus is introduced here giving, at 4.7 and 9.4 T, the relationship between SNR and sodium concentration, after normalization of the volume of the voxel (fig. 3).

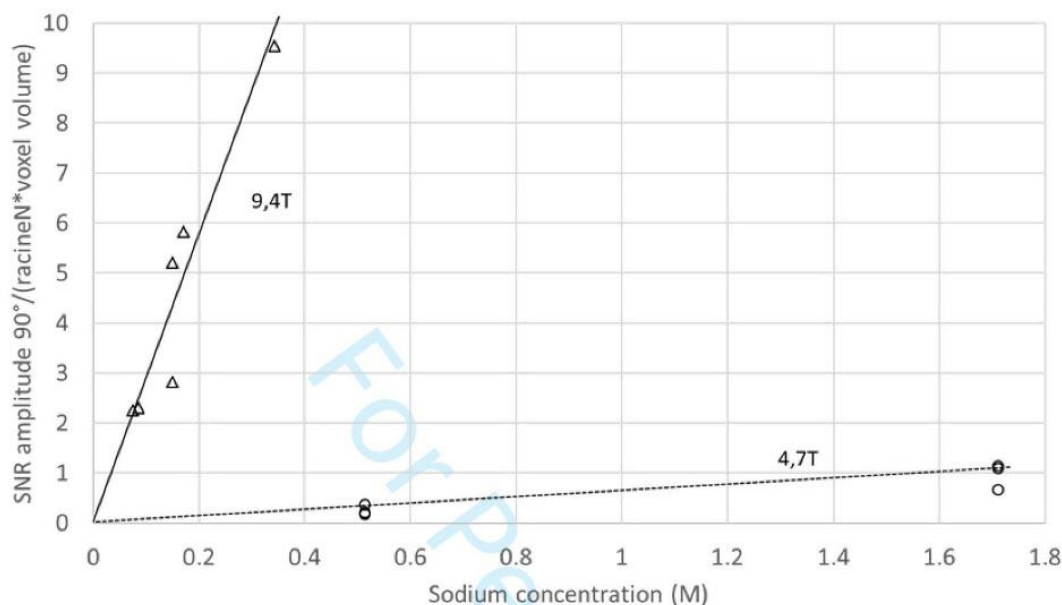


Figure 3: Abacus giving the relationship between resolution, salt content and SNR, in sodium MRI, at 4.7 and 9.4 T.

As expected, this relation is linear for both B0:

$$\text{At 9.4 T} \quad \text{SNR} = 27.60 \times \sqrt{N} \times \text{voxel.volume} \times [\text{Na}]$$

$$\text{At 4.7 T} \quad \text{SNR} = 0.56 \times \sqrt{N} \times \text{voxel.volume} \times [\text{Na}]$$

The results show a considerable increase in sensitivity when increasing the B0 from 4.7T to 9.4T. Indeed, the sensitivity ratio is almost 60. This ratio can be explained by the nuclear polarization boost due to the B0 increase but also by the difference of experimental conditions. The filling factors were different. At 9.4 T, the sample fully filled the 3 cm of the coil while at 4.7 T, the ham is only 12 cm (in plan) for a 20 cm coil (internal diameter). The filling ratio effect seemed to be more influent here than coil geometry factors and polarization (birdcage, linear polarization at 9.4T versus Litzcage, quadratic polarization at 4.7T). However, other experimental factors could cause this sensibility difference. For instance, pre-amplifier, and transmit/receive circuitry quality, as well as sound levels caused by the sample and by the antenna which depend on the magnetic field (Giovannetti, Flori et al. 2021).

These results allow to extrapolate the experimental conditions necessary to image sodium in a given salted sample. Consider a food product with a realistic salt content of 0.17M (almost 1g of NaCl for 100g of food product). Using a 9.4 T MRI device and a sample small enough to enter the coil, SNR=10 can be expected in a 1h16 total acquisition duration for an isotropic voxel volume at 1mm³. If a higher spatial resolution in plane is needed, for instance 0.5*0.5 with a slice thickness at 1 mm, the total duration becomes 4h50. At 4.7T, the same SNR conditions can be obtained in 1h30 with 2*2*4 mm³ voxel geometry. The improvement to 1*1*4 mm³ lengthens the total acquisition duration to 6h.

In this experiment, priority was given to obtaining temporal information. This was done in order to precisely adjust the relaxation and to optimize the spatial resolution, at the cost of an increase of the initial TE (~1ms at 9.4T, 5.4 ms at 4.7T). Thus, correcting for relaxation becomes a key point, whose efficiency relies on the quality of the modelling. Here the quality of the Lorentzian adjustment is validated by verifying that the average deviation between the data and the model is explained by the signal to noise ratio levels in the entire image. However, such a correction made on the observable sodium component does not guarantee that a significant part of the sodium was not relaxed during TE. This may be the case if the quadrupolar interactions are not null in the food products, which would lead to a bi-exponential behavior of the T2 relaxation. This relaxation analysis is not discussed here as it requires specific NMR spectroscopic approaches. For more detailed information, it is possible to refer to the complementary work carried out by our group in (El Sabbagh, Bonny et al. 2021).

The value of short TE approaches for mapping sodium cannot be overlooked as they guarantee the visibility of sodium in its entirety. It should be noted that the TE obtained is short, although never zero. Radial, as well as spiral trajectories in place of cartesian k-space filling are well-known solutions but they lead to interactions between relaxation and PSF whose consequences on quantification are difficult to evaluate (Nielles-Vallespin, Weber et al. 2007) (Utzschneider, Muller et al. 2021). This recent study goes further by using anisotropic radial filling, which takes advantage of the object shape, here elongated tissue such as muscle.

The difference in sensitivity observed between 4.7T and 9.4T suggests that RF coil optimization plays a key role. The relative size of the coil with respect to the sample size must be chosen to optimize the filling ratio. Moreover, RF coils should be able to support a large field of-view (FOV) with high RF field homogeneity in transmission and to achieve high SNR in reception (Giovannetti, Flori et al. 2021). Up to date antennas take advantage of RF simulation tools for their conception and manufacturers provide high quality devices, and adapt, when necessary, the coil geometry for particular needs. In conclusion, it is clear that a B0 enhancement, for a given FOV, is a direct solution to improve SNR. Even if such high field MRI is not without its difficulties, such as RF and B0 heterogeneities, many publications highlight the advantages of ultra-high field sodium MRI, mainly at 7T (Maggiorelli, Buonincontri et al. 2017, Ridley, Nagel et al. 2018). Magnet manufacturers and scientists are working on both superconductivity improvements (Maeda and Yanagisawa 2014, Xu, Zhu et al. 2021) and cryogen-free MRI solutions (Saniour, Authalet et al. 2020) to build the next generation of devices.

Funding

This study has been funded by the two following projects:

Express, project number 269070/E50 a project funded by the Research Council of Norway, 2015-2020.

French ANR project Sal&Mieux ANR-19-CE21-0009, 2020-2024.

Acknowledgements

Thanks to Cécile Leroy for her conscientious work on sodium MRI acquisitions and treatment.

Bibliography

- Aursand, I. G., U. Erikson and E. Veliyulin (2010). "Water properties and salt uptake in Atlantic salmon fillets as affected by ante-mortem stress, rigor mortis, and brine salting: A low-field H-1 NMR and H-1/Na-23 MRI study." *Food Chemistry* **120**(2): 482-489.
- Aursand, I. G., E. Veliyulin, U. Bocker, R. Ofstad, T. Rustad and U. Erikson (2009). "Water and Salt Distribution in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Studied by Low-Field H-1 NMR, H-1 and Na-23 MRI and Light Microscopy: Effects of Raw Material Quality and Brine Salting." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**(1): 46-54.
- Boisard, L., I. Andriot, C. Martin, C. Septier, V. Boissard, C. Salles and E. Guichard (2014). "The salt and lipid composition of model cheeses modifies in-mouth flavour release and perception related to the free sodium ion content." *Food Chemistry* **145**: 437-444.
- Bouhrara, M. and J. M. Bonny (2012). "B1 mapping with selective pulses." *Magnetic Resonance in Medicine* **68**(5): 1472-1480.
- Brown, T. R., B. M. Kincaid and K. Ugurbil (1982). "NMR chemical shift imaging in three dimensions." *Proceedings of the National Academy of Sciences* **79**(11): 3523-3526.
- Cappuccio, F. P., R. Kalaitzidis, S. Duneclift and J. B. Eastwood (2000). "Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism." *Journal of Nephrology* **13**(3): 169-177.
- Cavassila, S., S. Deval, C. Huegen, D. van Ormondt and D. Graveron-Demilly (2000). "Cramér-Rao Bound Expressions for Parametric Estimation of Overlapping Peaks: Influence of Prior Knowledge." *Journal of Magnetic Resonance* **143**(2): 311-320.
- Correa, P. (1992). "Human gastric carcinogenesis - A multistep and multifactorial process - 1st American-Cancer-Society award lecture on cancer-epidemiology and prevention." *Cancer Research* **52**(24): 6735-6740.
- Devine, A., R. A. Criddle, I. M. Dick, D. A. Kerr and R. L. Prince (1995). "A longitudinal-study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone-density in post menopausal women." *American Journal of Clinical Nutrition* **62**(4): 740-745.
- Dickinson, H. O., J. M. Mason, D. J. Nicolson, F. Campbell, F. R. Beyer, J. V. Cook, B. Williams and G. A. Ford (2006). "Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials." *Journal of Hypertension* **24**(2): 215-233.
- Doty, F. D., G. N. Doty, S. Deese, S. Spitzmesser, D. Arcos, D. McCree, L. Holte, P. D. Ellis, J. M. Bonny and S. Clerjon (2018). A Large Segmented Double-Tuned Quadrature High-field MR Coil With Exceptional Tuning Stability. *59th ENC Conference*. Orlando: poster 330.
- El Sabbagh, N., J. M. Bonny, S. Clerjon, C. Chassain and G. Pages (2021). "Characterization of the Sodium Binding State in Several Food Products by ²³Na NMR Spectroscopy." Submitted in *Magnetic Resonance in Chemistry*, special issue Multiscale Food Structures and FoodOmics.
- Emorine, M., Septier, C., Thomas-Danguin, T. and Salles, C. (2013). "Heterogeneous salt distribution in hot snacks enhances saltiness without loss of acceptability." *Food Research International* **51**(2): 641-647.
- Erikson, U., E. Veliyulin, T. Singstad and M. Aursand (2004). "Salting and desalting of fresh and frozen-thawed cod (*Gadus morhua*) fillets: a comparative study using ²³Na NMR, ²³Na MRI, low-field ¹H NMR, and physicochemical analytical methods." *Journal of Food Science* **69**(3).
- Giovannetti, G., A. Flori, N. Martini, R. Francischello, G. D. Aquaro, A. Pingitore and F. Frijia (2021). "Sodium Radiofrequency Coils for Magnetic Resonance: From Design to Applications." *Electronics* **10**(15): 1788.

- Harkouss, R., Chevarin, C., Daudin, J. D., Sicard, J. and Mirade, P. S. (2018). "Development of a multi-physical finite element-based model that predicts water and salt transfers, proteolysis and water activity during the salting and post-salting stages of the dry-cured ham process." Journal of Food Engineering **218**: 69-79.
- Hu, G., P. Jousilahti, M. Peltonen, J. Lindstrom and J. Tuomilehto (2005). "Urinary sodium and potassium excretion and the risk of type 2 diabetes: a prospective study in Finland." Diabetologia **48**(8): 1477-1483.
- Ishida, N., T. Kobayashi, H. Kano, S. Nagai and H. Ogawa (1991). "Na-23-NMR Imaging of Food." Agricultural and Biological Chemistry **55**(9): 2195-2200.
- Leshem, M. (2009). "Biobehavior of the human love of salt." Neuroscience and Biobehavioral Reviews **33**(1): 1-17.
- Liem, D. G., F. Miremadi and R. S. J. Keast (2011). "Reducing Sodium in Foods: The Effect on Flavor." Nutrients **3**(6): 694-711.
- Madelin, G., J. S. Lee, R. R. Regatte and A. Jerschow (2014). "Sodium MRI: Methods and applications." Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy **79**: 14-47.
- Maeda, H. and Y. Yanagisawa (2014). "Recent Developments in High-Temperature Superconducting Magnet Technology (Review)." Ieee Transactions on Applied Superconductivity **24**(3).
- Maggiorelli, F., G. Buonincontri, A. Retico, J. D. Kaggie, M. J. Graves, L. Biagi, G. Tiberi and M. Tosetti (2017). Sodium imaging of the human knee cartilage with Magnetic Resonance at Ultra High Field: development of a double frequency (H-1/Na-23) RF coil. International Applied Computational Electromagnetics Society Symposium - Italy. New York, Ieee.
- Mirade, P. S., S. Portanguen, J. Sicard, J. De Souza, A. Musavu Ndob, L. C. Hoffman, T. Goli and A. Collignan (2020). "Impact of tumbling operating parameters on salt, water and acetic acid transfers during biltong-type meat processing." Journal of Food Engineering **265**: 109686.
- Mosca, A. C., I. Andriot, E. Guichard and C. Salles (2015). "Binding of Na⁺ ions to proteins: Effect on taste perception." Food Hydrocolloids **0**.
- Niellas-Vallespin, S., M. A. Weber, M. Bock, A. Bongers, P. Speier, S. E. Combs, J. Wohrle, F. Lehmann-Horn, M. Essig and L. R. Schad (2007). "3D radial projection technique with ultrashort echo times for sodium MRI: Clinical applications in human brain and skeletal muscle." Magnetic Resonance in Medicine **57**(1): 74-81.
- Pohmann, R. and K. Scheffler (2013). "A theoretical and experimental comparison of different techniques for B 1 mapping at very high fields." NMR in Biomedicine **26**(3): 265-275.
- Renou, J. P., S. Benderbous, G. Bielicki, L. Foucat and J. P. Donnat (1994). "Na-23 Magnetic-Resonance-Imaging - Distribution of Brine in Muscle." Magnetic Resonance Imaging **12**(1): 131-137.
- Ridley, B., A. M. Nagel, M. Bydder, A. Maarouf, J. P. Stellmann, S. Gherib, J. Verneuil, P. Viout, M. Guye, J. P. Ranjeva and W. Zaaraoui (2018). "Distribution of brain sodium long and short relaxation times and concentrations: a multi-echo ultra-high field Na-23 MRI study." Scientific Reports **8**: 12.
- Rooney, W. D. and C. S. Springer (1991). "A comprehensive approach to the analysis and interpretation of the resonances of spins 3/2 from living systems." NMR in Biomedicine **4**(5): 209-226.
- Sacks, F. M., L. P. Svetkey, W. M. Vollmer, L. J. Appel, G. A. Bray, D. Harsha, E. Obarzanek, P. R. Conlin, E. R. Miller, D. G. Simons-Morton, N. Karanja, P. H. Lin and D. A.-S. C. R. Grp (2001). "Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet." New England Journal of Medicine **344**(1): 3-10.

- Sanjour, I., G. Authelet, B. Baudouy, R. M. Dubuisson, L. Jourdain, G. Willoquet, L. Darrasse, J. C. Ginefri and M. Poirier-Quinot (2020). "A temperature-controlled cryogen free cryostat integrated with transceiver-mode superconducting coil for high-resolution magnetic resonance imaging." Review of Scientific Instruments **91**(5).
- Sherman, J. H., N. D. Danielson and J. W. Hazey (1988). "Simultaneous determination of sodium, potassium, magnesium, and calcium ions in milk products by indirect photometric high-performance liquid chromatography." Journal of Agricultural and Food Chemistry **36**(5): 966-969.
- Sofos, J. N. (1984). "Antimicrobial effects of sodium and other ions in foods - A review." Journal of Food Safety **6**(1): 45-78.
- Syarifuddin, A., C. Septier, C. Salles and T. Thomas-Danguin (2016). "Reducing salt and fat while maintaining taste: An approach on a model food system." Food Quality and Preference **48, Part A**: 59-69.
- Tavani, A., E. Negri and C. LaVecchia (1996). "Food and nutrient intake and risk of cataract." Annals of Epidemiology **6**(1): 41-46.
- Utzschneider, M., M. Muller, L. V. Gast, S. Lachner, N. G. R. Behl, A. Maier, M. Uder and A. M. Nagel (2021). "Towards accelerated quantitative sodium MRI at 7 T in the skeletal muscle: Comparison of anisotropic acquisition- and compressed sensing techniques." Magnetic Resonance Imaging **75**: 72-88.
- Vanhamme, L., A. van den Boogaart and S. Van Huffel (1997). "Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge." Journal of Magnetic Resonance **129**(1): 35-43.
- Veliyulin, E. and I. G. Aursand (2007). "¹H and ²³Na MRI studies of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) fillet pieces salted in different brine concentrations." Journal of the Science of Food and Agriculture **87**(14): 2676-2683.
- Veliyulin, E., I. G. Aursand, U. Erikson and B. J. Balcom (2009). "Sodium Mri as a Tool for Optimization of Salting Processes." Magnetic Resonance in Food Science: Challenges in a Changing World: 251-256.
- Veliyulin, E., B. Egelanddsdal, F. Marica and B. J. Balcom (2009). "Quantitative Na-23 Magnetic Resonance Imaging of Model Foods." Journal of Agricultural and Food Chemistry **57**(10): 4091-4095.
- Vestergaard, C., J. Risum and J. Adler-Nissen (2005). "Na-23-MRI quantification of sodium and water mobility in pork during brine curing." Meat Science **69**(4): 663-672.
- World Health Organization (2013). Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. Geneva.
- Xu, A. H., Y. J. Zhu, J. W. Wang, W. N. Chang, Y. F. Zhang, Y. L. Zhang, Q. H. Wang, H. J. Zou, K. H. Wu, C. Dai, Y. Shi, Y. Wu, X. G. Wang, J. Liu, X. W. Wang and F. H. Cai (2021). "Experimental Research of the New Developed High-J(c) Nb3Sn Superconducting Strand for 14 T MRI Magnet." Ieee Transactions on Applied Superconductivity **31**(8).
- Yang, W. G., C. B. Chen, Z. X. Wang, Y. P. Liu, X. Y. Wen, S. F. Zhang and T. W. Sun (2011). "A case-control study on the relationship between salt intake and salty taste and risk of gastric cancer." World J Gastroenterol. **17**(15): 2049-2053.

REFERENCES

- [1] Allouche-Arnon H, Wade T, Waldner LF et al. In vivo magnetic resonance imaging of glucose – initial experience. *Contrast Media & Molecular Imaging* 2013;8(1):72-82.
- [2] Atherton HJ, Dodd MS, Heather LC et al. Role of Pyruvate Dehydrogenase Inhibition in the Development of Hypertrophy in the Hyperthyroid Rat Heart A Combined Magnetic Resonance Imaging and Hyperpolarized Magnetic Resonance Spectroscopy Study. *Circulation* 2011;123(22):2552-U2134.
- [3] Atherton HJ, Schroeder MA, Dodd MS et al. Validation of the in vivo assessment of pyruvate dehydrogenase activity using hyperpolarised ^{13}C MRS. *NMR Biomed.* 2011;24(2):201-208.
- [4] Breukels V, Jansen KFJ, van Heijster FHA et al. Direct dynamic measurement of intracellular and extracellular lactate in small-volume cell suspensions with ^{13}C hyperpolarised NMR. *NMR Biomed.* 2015;28(8):1040-1048.
- [5] Brindle KM, Bohndiek SE, Gallagher FA, Kettunen MI. Tumor imaging using hyperpolarized ^{13}C magnetic resonance spectroscopy. *Magn. Reson. Med.* 2011;66(2):505-519.
- [6] Chen AP, Leung K, Lam W, Hurd RE, Vigneron DB, Cunningham CH. Design of spectral-spatial outer volume suppression RF pulses for tissue specific metabolic characterization with hyperpolarized ^{13}C pyruvate. *J. Magn. Reson.* 2009;200(2):344-348.
- [7] Chen AP, Tropp J, Hurd RE et al. In vivo hyperpolarized ^{13}C MR spectroscopic imaging with ^1H decoupling. *J. Magn. Reson.* 2009;197(1):100-106.
- [8] Clatworthy MR, Kettunen MI, Hu D-E et al. Magnetic resonance imaging with hyperpolarized $[1,4\text{-}^{13}\text{C}_2]$ fumarate allows detection of early renal acute tubular necrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012;109(33):13374-13379.
- [9] Comment A, Merritt ME. Hyperpolarized Magnetic Resonance as a Sensitive Detector of Metabolic Function. *Biochemistry* 2014;53(47):7333-7357.
- [10] Daniels CJ, McLean MA, Schulte RF et al. A comparison of quantitative methods for clinical imaging with hyperpolarized ^{13}C -pyruvate. *NMR Biomed.* 2016;n/a-n/a.
- [11] Day SE, Kettunen MI, Gallagher FA et al. Detecting Tumor Response to Treatment using Hyperpolarized ^{13}C Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *Nat. Med.* 2007;13(11):1382-1387.
- [12] Kurhanewicz J, Vigneron DB, Ardenkjaer-Larsen JH et al. Hyperpolarized ^{13}C MRI: Path to Clinical Translation in Oncology. *Neoplasia* 2019;21(1):1-16.
- [13] Kurhanewicz J, Vigneron DB, Brindle K et al. Analysis of Cancer Metabolism by Imaging Hyperpolarized Nuclei: Prospects for Translation to Clinical Research. *Neoplasia* 2011;13(2):81-97.
- [14] Harris T, Eliyahu G, Frydman L, Degani H. Kinetics of hyperpolarized $^{13}\text{C}_1$ -pyruvate transport and metabolism in living human breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009;106(43):18131-18136.
- [15] Hu HH, Kan HE. Quantitative Proton MR Techniques for Measuring Fat. *NMR Biomed.* 2013;26(12):1609-1629.
- [16] Chassain C, Bielicki G, Keller C, Renou JP, Durif F. Metabolic changes detected in vivo by ^1H MRS in the MPTP-intoxicated mouse. *NMR Biomed.* 2010;23(6):547-553.
- [17] Chassain C, Bielicki G, Carcenac C et al. Does MPTP intoxication in mice induce metabolite changes in the nucleus accumbens? A ^1H nuclear MRS study. *NMR Biomed.* 2013;26(3):336-347.
- [18] Okada KS, Lee Y. Characterization of Sodium Mobility and Binding by ^{23}Na NMR Spectroscopy in a Model Lipoproteic Emulsion Gel for Sodium Reduction. *J. Food Sci.* 2017;82(7):1563-1568.

-
- [19] Rosett TR, Shirley L, Schmidt SJ, Klein BP. Na⁺ Binding as Measured by ²³Na Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Influences the Perception of Saltiness in Gum Solutions. *J. Food Sci.* 1994;59(1):206-210.
- [20] Kuo WY, Lee YS. Effect of Food Matrix on Saltiness Perception-Implications for Sodium Reduction. *Compr. Rev. Food. Sci. Food Saf.* 2014;13(5):906-923.
- [21] Boisard L, Andriot I, Arnould C, Achilleos C, Salles C, Guichard E. Structure and composition of model cheeses influence sodium NMR mobility, kinetics of sodium release and sodium partition coefficients. *Food Chem.* 2013;136(2):1070-1077.
- [22] Gudjonsdottir M, Traore A, Jonsson A, Karlsdottir MG, Arason S. The effects of pre-salting methods on salt and water distribution of heavily salted cod, as analyzed by ¹H and ²³Na MRI, ²³Na NMR, low-field NMR and physicochemical analysis. *Food Chem.* 2015;188:664-672.
- [23] Nuix M, Traore AS, Blystone S et al. Circadian Variation of Root Water Status in Three Herbaceous Species Assessed by Portable NMR. *Plants-Basel* 2021;10(4).
- [24] Bagnall GC, Koonjoo N, Altobelli SA et al. Low-field magnetic resonance imaging of roots in intact clayey and silty soils. *Geoderma* 2020;370.
- [25] Capitani D, Brilli F, Mannina L, Proietti N, Loreto F. In Situ Investigation of Leaf Water Status by Portable Unilateral Nuclear Magnetic Resonance. *Plant Physiology* 2009;149(4):1638-1647.
- [26] Haber-Pohimeler S, Totzke SC, Lehmann E, Kardjilov N, Pohlmeier A, Oswald SE. Combination of Magnetic Resonance Imaging and Neutron Computed Tomography for Three-Dimensional Rhizosphere Imaging. *Vadose Zone Journal* 2019;18(1).
- [27] Haber-Pohlmeier S, Totzke C, Oswald SE, Lehmann E, Blumich B, Pohlmeier A. Imaging of root zone processes using MRI T-1 mapping. *Microporous and Mesoporous Materials* 2018;269:43-46.
- [28] Homan NM, Windt CW, Vergeldt FJ, Gerkema E, Van As H. 0.7 and 3 T MRI and sap flow in intact trees: Xylem and phloem in action. *Applied Magnetic Resonance* 2007;32(1-2):157-170.
- [29] Jones M, Aptaker PS, Cox J, Gardiner BA, McDonald PJ. A transportable magnetic resonance imaging system for in situ measurements of living trees: The Tree Hugger. *J. Magn. Reson.* 2012;218:133-140.
- [30] Kimura T, Geya Y, Terada Y et al. Development of a mobile magnetic resonance imaging system for outdoor tree measurements. *Review of Scientific Instruments* 2011;82(5).
- [31] Koizumi M, Naito S, Ishida N, Haishi T, Kano H. A dedicated MRI for food science and agriculture. *Food Science and Technology Research* 2008;14(1):74-82.
- [32] Meixner M, Tomasella M, Foerst P, Windt CW. A small-scale MRI scanner and complementary imaging method to visualize and quantify xylem embolism formation. *New Phytologist* 2020;226(5):1517-1529.
- [33] Nagata A, Kose K, Terada Y. Development of an outdoor MRI system for measuring flow in a living tree. *J. Magn. Reson.* 2016;265:129-138.
- [34] Pohlmeier A, Oros-Peusquens A, Javaux M et al. Changes in soil water content resulting from *Ricinus* root uptake monitored by magnetic resonance Imaging. *Vadose Zone Journal* 2008;7(3):1010-1017.
- [35] Windt CW, Blumler P. A portable NMR sensor to measure dynamic changes in the amount of water in living stems or fruit and its potential to measure sap flow. *Tree Physiology* 2015;35(4):366-375.
- [36] Windt CW, Soltner H, van Dusschoten D, Blumler P. A portable Halbach magnet that can be opened and closed without force: The NMR-CUFF. *J. Magn. Reson.* 2011;208(1):27-33.

- [37] Windt CW, Vergeldt FJ, De Jager PA, Van As H. MRI of long-distance water transport: a comparison of the phloem and xylem flow characteristics and dynamics in poplar, castor bean, tomato and tobacco. *Plant Cell Environ.* 2006;29(9):1715-1729.
- [38] Brown TR, Kincaid BM, Ugurbil K. NMR chemical shift imaging in three dimensions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* 1982;79(11):3523-3526.
- [39] Maudsley AA, Hilal SK, Perman WH, Simon HE. Spatially Resolved High-Resolution Spectroscopy by 4-Dimensional NMR. *J. Magn. Reson.* 1983;51(1):147-152.
- [40] Mazuel L, Schulte RF, Cladiere A et al. Intracerebral Synthesis of Glutamine from Hyperpolarized Glutamate. *Magn. Reson. Med.* 2017;78(4):1296-1305.
- [41] Gruber S, Heckova E, Strasser B et al. Mapping an Extended Neurochemical Profile at 3 and 7T using Accelerated High-Resolution Proton Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging. *Invest. Radiol.* 2017;52(10):631-639.
- [42] Schulte RF, Sperl JI, Weidl E et al. Saturation-Recovery Metabolic-Exchange Rate Imaging With Hyperpolarized [1-¹³C]Pyruvate using Spectral-Spatial Excitation. *Magn. Reson. Med.* 2013;69(5):1209-1216.
- [43] Miller JJ, Lau AZ, Teh I et al. Robust and High Resolution Hyperpolarized Metabolic Imaging of the Rat Heart at 7T with 3D Spectral-Spatial EPI. *Magn. Reson. Med.* 2016;75(4):1515-1524.
- [44] Reeder SB, Brittain JH, Grist TM, Yen YF. Least-squares chemical shift separation for ¹³C metabolic imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 2007;26(4):1145-1152.
- [45] Butt SA, Sogaard LV, Magnusson PO et al. Imaging cerebral 2-ketoisocaproate metabolism with hyperpolarized ¹³C Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012;32(8):1508-1514.
- [46] Bley TA, Wieben O, Francois CJ, Brittain JH, Reeder SB. Fat and Water Magnetic Resonance Imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 2010;31(1):4-18.
- [47] Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *J. Magn. Reson. Imaging* 2011;34(4):729-749.
- [48] Diefenbach MN, Ruschke S, Eggers H, Meineke J, Rummeny EJ, Karampinos DC. Improving Chemical Shift Encoding-Based Water–Fat Separation based on a Detailed Consideration of Magnetic Field Contributions. *Magn. Reson. Med.* 2018;80(3):15.
- [49] Schilling F, Düwel S, Köllisch U et al. Diffusion of hyperpolarized ¹³C-metabolites in tumor cell spheroids using real-time NMR spectroscopy. *NMR Biomed.* 2012;n/a-n/a.
- [50] Hadavand MA, Mayer D, Chen WG, Wnorowski A, Siddiqui MM. Role of metabolic imaging in diagnosis of primary, metastatic, and recurrent prostate cancer. *Curr. Opin. Oncol.* 2020;32(3):223-231.
- [51] Julia-Sape M, Candiota AP, Arus C. Cancer metabolism in a snapshot: MRS(I). *NMR Biomed.* 2019;32(10):21.
- [52] van Sluis R, Bhujwalla ZM, Raghunand N et al. In vivo imaging of extracellular pH using ¹H MRSI. *Magn. Reson. Med.* 1999;41(4):743-750.
- [53] Kuroda K, Mulkern RV, Oshio K et al. Temperature Mapping using the Water Proton Chemical Shift: Self-Referenced Method With Echo-Planar Spectroscopic Imaging. *Magn. Reson. Med.* 2000;43(2):220-225.
- [54] Kuroda K. Non-invasive MR thermography using the water proton chemical shift. *Int. J. Hyperthermia* 2005;21(6):547-560.
- [55] McDannold N, Hynynen K, Oshio K, Mulkern RV. Temperature Monitoring with Line Scan Echo Planar Spectroscopic Imaging. *Med. Phys.* 2001;28(3):346-355.

- [56] Richards TL. Functional magnetic resonance imaging and spectroscopic imaging of the brain: Application of fMRI and fMRS to reading disabilities and education. *Learn. Disabil. Q.* 2001;24(3):189-203.
- [57] Sundgren PC, Jennings J, Attwood JT et al. MRI and 2D-CSI MR spectroscopy of the brain in the evaluation of patients with acute onset of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Neuroradiology* 2005;47(8):576-585.
- [58] Zhang Y, Gabr RE, Zhou JY, Weiss RG, Bottomley PA. Highly-accelerated quantitative 2D and 3D localized spectroscopy with linear algebraic modeling (SLAM) and sensitivity encoding. *J. Magn. Reson.* 2013;237:125-138.
- [59] Gillies RJ, Liu Z, Bhujwalla Z. ³¹P-MRS measurements of extracellular pH of tumors using 3-aminopropylphosphonate. *Am. J. Physiol.* 1994;267(1):C195-C203.
- [60] Raghunand N, Altbach MI, van Sluis R et al. Plasmalemmal pH-gradients in drug-sensitive and drug-resistant MCF-7 human breast carcinoma xenografts measured by P-31 magnetic resonance spectroscopy. *Biochem. Pharmacol.* 1999;57(3):309-312.
- [61] Madden A, Leach MO, Sharp JC, Collins DJ, Easton D. A quantitative analysis of the accuracy of In Vivo pH measurements with 31P NMR spectroscopy: Assessment of pH measurement methodology. *NMR Biomed.* 1991;4(1):1-11.
- [62] Graham RA, Taylor AH, Brown TR. A method for calculating the distribution of pH in tissues and a new source of pH error from the 31P-NMR spectrum. *Am. J. Physiol.* 1994;266(2):R638-R645.
- [63] Bohndiek SE, Kettunen MI, Hu D-e et al. Hyperpolarized [1-¹³C]-Ascorbic and Dehydroascorbic Acid: Vitamin C as a Probe for Imaging Redox Status in Vivo. *J. Am. Chem. Soc.* 2011;133(30):11795-11801.
- [64] Chen AP, Hurd RE, Schroeder MA et al. Simultaneous investigation of cardiac pyruvate dehydrogenase flux, Krebs cycle metabolism and pH, using hyperpolarized [1,2-¹³C₂]pyruvate in vivo. *NMR Biomed.* 2012;25(2):305-311.
- [65] Gallagher FA, Kettunen MI, Day SE et al. Magnetic resonance imaging of pH in vivo using hyperpolarized ¹³C-labelled bicarbonate. *Nature* 2008;453(7197):940-943.
- [66] Hu S, Lustig M, Balakrishnan A et al. 3D compressed sensing for highly accelerated hyperpolarized ¹³C MRSI with in vivo applications to transgenic mouse models of cancer. *Magn. Reson. Med.* 2010;63(2):312-321.
- [67] Hu S, Yoshihara HAI, Bok R et al. Use of hyperpolarized [1-¹³C]pyruvate and [2-¹³C]pyruvate to probe the effects of the anticancer agent dichloroacetate on mitochondrial metabolism in vivo in the normal rat. *Magn. Reson. Imaging* 2012;30(10):1367-1372.
- [68] Janich MA, Menzel MI, Wiesinger F et al. Effects of pyruvate dose on in vivo metabolism and quantification of hyperpolarized ¹³C spectra. *NMR Biomed.* 2012;25(1):142-151.
- [69] Koelsch BL, Reed GD, Keshari KR et al. Rapid in vivo apparent diffusion coefficient mapping of hyperpolarized ¹³C metabolites. *Magn. Reson. Med.* 2015;74(3):622-633.
- [70] Li S, Zhang Y, Ferraris Araneta M et al. In vivo detection of ¹³C isotopomer turnover in the human brain by sequential infusion of ¹³C labeled substrates. *J. Magn. Reson.* 2012;218(0):16-21.
- [71] Marjańska M, Iltis I, Shestov AA et al. In vivo ¹³C spectroscopy in the rat brain using hyperpolarized [1-¹³C]pyruvate and [2-¹³C]pyruvate. *J. Magn. Reson.* 2010;206(2):210-218.
- [72] Nelson SJ, Ozhinsky E, Li Y, Park Iw, Crane J. Strategies for rapid in vivo ¹H and hyperpolarized ¹³C MR spectroscopic imaging. *J. Magn. Reson.* 2013;229(0):187-197.

- [73] Park JM, Recht LD, Josan S et al. Metabolic response of glioma to dichloroacetate measured in vivo by hyperpolarized ^{13}C magnetic resonance spectroscopic imaging. *Neuro-Oncology* 2013.
- [74] Schmidt R, Laustsen C, Dumez JN et al. In Vivo Single-Shot ^{13}C Spectroscopic Imaging of Hyperpolarized Metabolites by Spatiotemporal Encoding. *J. Magn. Reson.* 2014;240:8-15.
- [75] Grodd W, Klose U. Sodium-MR-imaging of the brain: initial clinical results. *Neuroradiology* 1988;30(5):399-407.
- [76] Ra JB, Hilal SK, Oh CH, Mun IK. In Vivo Magnetic-Resonance Imaging of Sodium in the Human-Body. *Magn. Reson. Med.* 1988;7(1):11-22.
- [77] Feinberg DA, Crooks LA, Kaufman L et al. Magnetic resonance imaging performance: a comparison of sodium and hydrogen. *Radiology* 1985;156(1):133-138.
- [78] Maudsley AA, Hilal SK. Biological Aspects of ^{23}Na Imaging. *British Medical Bulletin* 1984;40(2):165-&.
- [79] Magnuson JA, Magnuson NS. NMR-Studies of Sodium and Potassium in Various Biological Tissues. *Ann.NY Acad.Sci.* 1973;204(MAR30):297-309.
- [80] Berendsen HJ, Edzes HT. The Observation and General Interpretation of Sodium Magnetic Resonance in Biological Material. *Ann.NY Acad.Sci.* 1973;204(MAR30):459-485.
- [81] Lawrence G, Buchin S, Achilleos C et al. In Vivo Sodium Release and Saltiness Perception in Solid Lipoprotein Matrices. 1. Effect of Composition and Texture. *J. Agric. Food Chem.* 2012;60(21):5287-5298.
- [82] Phan VA, Yven C, Lawrence G, Chabanet C, Reparet JM, Salles C. In vivo sodium release related to salty perception during eating model cheeses of different textures. *Int. Dairy J.* 2008;18(9):956-963.
- [83] Oros AM, Shah NJ. Hyperpolarized xenon in NMR and MRI. *Phys. Med. Biol.* 2004;49(20):R105-R153.
- [84] Choquet P, Hyacinthe J-N, Duhamel G et al. Method to determine in vivo the relaxation time T_1 of hyperpolarized xenon in rat brain. *Magn. Reson. Med.* 2003;49(6):1014-1018.
- [85] Driehuys B, Moller HE, Cleveland ZI, Pollaro J, Hedlund LW. Pulmonary Perfusion and Xenon Gas Exchange in Rats: MR Imaging with Intravenous Injection of Hyperpolarized Xe-129. *Radiology* 2009;252(2):386-393.
- [86] Qin HC, Zhang V, Bok RA et al. Simultaneous Metabolic and Perfusion Imaging Using Hyperpolarized ^{13}C MRI Can Evaluate Early and Dose-Dependent Response to Radiation Therapy in a Prostate Cancer Mouse Model. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2020;107(5):887-896.
- [87] Ardenkjær-Larsen JH, Fridlund B, Gram A et al. Increase in signal-to-noise ratio of > 10,000 times in liquid-state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003;100(18):10158-10163.
- [88] Barb AW, Hekmatyar SK, Glushka JN, Prestegard JH. Probing alanine transaminase catalysis with hyperpolarized $^{13}\text{CD}_3$ -pyruvate. *J. Magn. Reson.* 2013;228(0):59-65.
- [89] Brindle KM. Imaging Metabolism with Hyperpolarized ^{13}C -Labeled Cell Substrates. *J. Am. Chem. Soc.* 2015;137(20):6418-6427.
- [90] Chen AP, Cunningham CH. Single voxel localization for dynamic hyperpolarized ^{13}C MR spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 2015;258:81-85.
- [91] Cunningham CH, Lau JYC, Chen AP et al. Hyperpolarized ^{13}C Metabolic MRI of the Human Heart Initial Experience. *Circ.Res.* 2016;119(11):1177-1182.

- [92] Deelchand DK, Iltis I, Marjańska M, Nelson C, Ugurbil K, Henry P-G. Localized detection of hyperpolarized [1-¹³C]pyruvate and its metabolic products in rat brain. 2008; Toronto. p 3196.
- [93] Dutta P, Martinez G, Gillies R. A new horizon of DNP technology: application to in-vivo ¹³C magnetic resonance spectroscopy and imaging. *Biophysical reviews* 2013;1-11.
- [94] Flavell RR, von Morze C, Blecha JE et al. Application of Good's buffers to pH imaging using hyperpolarized ¹³C MRI. *Chemical Communications* 2015;51(74):14119-14122.
- [95] Gallagher FA, Kettunen MI, Brindle KM. Biomedical applications of hyperpolarized ¹³C magnetic resonance imaging. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2009;55(4):285-295.
- [96] Golman K, in't Zandt R, Lerche M, Pehrson R, Ardenkjaer-Larsen JH. Metabolic imaging by hyperpolarized ¹³C magnetic resonance imaging for in vivo tumor diagnosis. *Cancer Res.* 2006;66(22):10855-10860.
- [97] Griffin RG, Prisner TF. High field dynamic nuclear polarization-the renaissance. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010;12(22):5737-5740.
- [98] Eisenschmid TC, Kirss RU, Deutsch PP et al. Para Hydrogen Induced Polarization in Hydrogenation Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* 1987;109(26):8089-8091.
- [99] Adams RW, Aguilar JA, Atkinson KD et al. Reversible Interactions with para-Hydrogen Enhance NMR Sensitivity by Polarization Transfer. *Science* 2009;323(5922):1708-1711.
- [100] Walker TG, Happer W. Spin-exchange optical pumping of noble-gas nuclei. *Rev. Mod. Phys.* 1997;69(2):629-642.
- [101] Hornykiewicz O. Biochemical aspects of Parkinson's disease. *Neurology* 1998;51: S52-S59.
- [102] Nagatsu TaMS, Sawada. Biochemistry of postmortem brains in Parkinson's disease: Historical overview and future prospects. *J. Neural. Transm.* 2007;Suppl. 72: 113–120.
- [103] Obeso JA, M.C. Rodriguez-Oroz, C.G. Goetz et al., al. Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Nature Med.* 2010;16: 653–661.
- [104] Kish SJ, A. Rajput, J. Gilbert et al., al. Elevated gamma-aminobutyric acid level in striatal but not extrastriatal brain regions in Parkinson's disease: Correlation with striatal dopamine loss. *Ann. Neurol.* 1986;20: 26–31.
- [105] Tanaka Y, K. Nijima, Y. Mizuno et al., al. Changes in gamma-aminobutyric, glutamate, aspartate, glycine, and taurine contents in the striatum after unilateral lesions in rats. *Exp. Neurol.* 1986;91: 259–268.
- [106] Soghomonian JJaNL, Laprade. Glutamate decarboxylase (GAD67 and GAD65) gene expression is increased in a subpopulation of neurons in the putamen of Parkinsonian monkeys. *Synapse* 1997;27: 122–132.
- [107] Chassain C, G. Bielicki, E. Durand et al., al. Metabolic changes detected by proton magnetic resonance spectroscopy in vivo and in vitro in a Murin model of Parkinson's disease, the MPTP-intoxicated mice. *J Neurochem.* 2008;105: 874–882.
- [108] Emir UE, P.J. Tuite, and G. Öz., al. Elevated pontine and putamenal GABA levels in mild-moderate Parkinson disease detected by 7 Tesla proton MRS. *PloSONE.* 2012;7: 1–7.
- [109] Chassain C, Bielicki G, Donnat JP, Renou JP, Eschalier A, Durif F. Cerebral glutamate metabolism in Parkinson's disease: an in vivo dynamic C-13 NMS study in the rat. *Exp. Neurol.* 2005;191(2):276-284.
- [110] Gallagher FA, Kettunen MI, Day SE et al. Detection of Tumor Glutamate Metabolism In Vivo Using C-13 Magnetic Resonance Spectroscopy and Hyperpolarized 1-C-13 glutamate. *Magn. Reson. Med.* 2011;66(1):18-23.

- [111] Mansfield P. Spatial Mapping of the Chemical Shift in NMR. *Magn. Reson. Med.* 1984;1(3):370-386.
- [112] Yen YF, Kohler SJ, Chen AP et al. Imaging Considerations for In Vivo ^{13}C Metabolic Mapping Using Hyperpolarized ^{13}C -Pyruvate. *Magn. Reson. Med.* 2009;62(1):1-10.
- [113] Mayer D, Levin YS, Hurd RE, Glover GH, Spielman DM. Fast metabolic imaging of systems with sparse spectra: Application for hyperpolarized ^{13}C imaging. *Magn. Reson. Med.* 2006;56(4):932-937.
- [114] Ramirez MS, Lee J, Walker CM et al. Radial Spectroscopic MRI of Hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]\text{Pyruvate}$ at 7 Tesla. *Magn. Reson. Med.* 2014;72(4):986-995.
- [115] Jiang WW, Lustig M, Larson PEZ. Concentric Rings K-Space Trajectory for Hyperpolarized ^{13}C MR Spectroscopic Imaging. *Magn. Reson. Med.* 2016;75(1):19-31.
- [116] Jackson JI, Meyer CH, Nishimura DG, Macovski A. Selection of a Convolution Function for Fourier Inversion Using Gridding. *IEEE Trans. Med. Imaging* 1991;10(3):473-478.
- [117] Fessler JA, Sutton BP. Nonuniform fast Fourier transforms using min-max interpolation. *IEEE Trans. Signal Process.* 2003;51(2):560-574.
- [118] Wiesinger F, Weidl E, Menzel MI et al. IDEAL Spiral CSI for Dynamic Metabolic MR Imaging of Hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]\text{Pyruvate}$. *Magn. Reson. Med.* 2012;68(1):8-16.
- [119] Mayer D, Yen YF, Tropp J, Pfefferbaum A, Hurd RE, Spielman DM. Application of Subsecond Spiral Chemical Shift Imaging to Real-Time Multislice Metabolic Imaging of the Rat In Vivo after Injection of Hyperpolarized $^{13}\text{C}_1\text{-Pyruvate}$. *Magn. Reson. Med.* 2009;62(3):557-564.
- [120] Brodsky EK, Holmes JH, Yu HZ, Reeder SB. Generalized k-space decomposition with chemical shift correction for non-cartesian water-fat Imaging. *Magn. Reson. Med.* 2008;59(5):1151-1164.
- [121] Dixon WT. Simple Proton Spectroscopic Imaging. *Radiology* 1984;153(1):189-194.
- [122] Glover GH. Multipoint Dixon Technique for Water and Fat Proton and Susceptibility Imaging. *JMRI-J. Magn. Reson. Imaging* 1991;1(5):521-530.
- [123] Glover GH, Schneider E. Three-Point Dixon Technique for True Water / Fat Decomposition with B_0 Inhomogeneity Correction. *Magn. Reson. Med.* 1991;18(2):371-383.
- [124] Ma JF. Dixon Techniques for Water and Fat Imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 2008;28(3):543-558.
- [125] Reeder SB, Pineda AR, Wen ZF et al. Iterative Decomposition of Water and Fat with Echo Asymmetry and Least-Squares Estimation (IDEAL): Application with Fast Spin-Echo Imaging. *Magn. Reson. Med.* 2005;54(3):636-644.
- [126] Reeder SB, Wen ZF, Yu HZ et al. Multicoil Dixon chemical species separation with an iterative least-squares estimation method. *Magn. Reson. Med.* 2004;51(1):35-45.
- [127] An L, Xiang QS. Chemical shift imaging with spectrum modeling. *Magn. Reson. Med.* 2001;46(1):126-130.
- [128] Ma JF. Breath-hold water and fat imaging using a dual-echo two-point dixon technique with an efficient and robust phase-correction algorithm. *Magn. Reson. Med.* 2004;52(2):415-419.
- [129] Pineda AR, Reeder SB, Wen ZF, Pelc NJ. Cramer-Rao bounds for three-point decomposition of water and fat. *Magn. Reson. Med.* 2005;54(3):625-635.
- [130] Xiang QS, An L. Water-fat imaging with direct phase encoding. *JMRI-J. Magn. Reson. Imaging* 1997;7(6):1002-1015.
- [131] Singh M, Josan S, Zhu MJ, Jhajharia A, Mayer D. Dynamic metabolic imaging of copolarized $[2-^{13}\text{C}]\text{pyruvate}$ and $[1,4-^{13}\text{C}_2]\text{fumarate}$ using 3D-spiral CSI with alternate spectral band excitation. *Magn. Reson. Med.* 2019;81(5):2869-2877.

-
- [132] Campbell SL, Meyer CD, Campbell SL. Generalized Inverses of Linear Transformations Introduction and other preliminaries. Meyer CD, editor 2009. 1-+ p.
 - [133] Cunningham CH, Chen AP, Lustig M et al. Pulse sequence for dynamic volumetric imaging of hyperpolarized metabolic products. *J. Magn. Reson.* 2008;193(1):139-146.
 - [134] Gordon JW, Vigneron DB, Larson PEZ. Development of a symmetric echo planar imaging framework for clinical translation of rapid dynamic hyperpolarized ^{13}C imaging. *Magn. Reson. Med.* 2017;77(2):826-832.
 - [135] Larson PEZ, Kerr AB, Chen AP et al. Multiband excitation pulses for hyperpolarized ^{13}C dynamic chemical-shift imaging. *J. Magn. Reson.* 2008;194(1):121-127.
 - [136] Clausen MJV, Poulsen H. Sodium/Potassium Homeostasis in the Cell. In: Banci L, editor. *Metallomics and the Cell. Volume 12, Metal Ions in Life Sciences.* Dordrecht: Springer; 2013. p 41-67.
 - [137] Murphy E, Eisner DA. Regulation of Intracellular and Mitochondrial Sodium in Health and Disease. *Circ.Res.* 2009;104(3):292-303.
 - [138] Waxman SG. Axonal conduction and injury in multiple sclerosis: the role of sodium channels. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006;7(12):932-941.
 - [139] Grimaldi S, El Mendili MM, Zaaraoui W et al. Increased Sodium Concentration in Substantia Nigra in Early Parkinson's Disease: A Preliminary Study With Ultra-High Field (7T) MRI. *Front. Neurol.* 2021;12:8.
 - [140] Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol. Rev.* 1999;79(4):1431-1568.
 - [141] Rochitte CE, Kim RJ, Hillenbrand HB, Chen EL, Lima JAC. Microvascular integrity and the time course of myocardial sodium accumulation after acute infarction. *Circ.Res.* 2000;87(8):648-655.
 - [142] Cheng CJ, Kuo E, Huang CL. Extracellular Potassium Homeostasis: Insights from Hypokalemic Periodic Paralysis. *Semin. Nephrol.* 2013;33(3):237-247.
 - [143] Mijatovic T, Dufrasne F, Kiss R. $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ and cancer. *Pharmaceutical patent analyst* 2012;1(1):91-106.
 - [144] Sofos JN. Antimicrobial Effects of Sodium and Other Ions in Foods - A Review. *J. Food Saf.* 1984;6(1):45-78.
 - [145] Leshem M. Biobehavior of the human love of salt. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2009;33(1):1-17.
 - [146] Emorine M, Septier C, Thomas-Danguin T, Salles C. Heterogeneous salt distribution in hot snacks enhances saltiness without loss of acceptability. *Food Res. Int.* 2013;51(2):641-647.
 - [147] Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020: World Health Organization; 2013.
 - [148] Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet. *N. Engl. J. Med.* 2001;344(1):3-10.
 - [149] Sherman JH, Danielson ND, Hazey JW. Simultaneous Determination of Sodium, Potassium, Magnesium, and Calcium-Ions in Milk-Products by Indirect Photometric High-Performance Liquid-Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 1988;36(5):966-969.
 - [150] Jerschow A. From nuclear structure to the quadrupolar NMR interaction and high-resolution spectroscopy. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2005;46(1):63-78.
 - [151] Abragam A. *The principles of nuclear magnetism:* Oxford university press; 1961.
 - [152] Wetterling F, Corteville DM, Kalayciyan R et al. Whole body sodium MRI at 3T using an asymmetric birdcage resonator and short echo time sequence: first images of a male volunteer. *Phys. Med. Biol.* 2012;57(14):4555-4567.

- [153] Hashimoto T, Ikehira H, Fukuda H et al. In vivo sodium-23 MRI in brain tumors: evaluation of preliminary clinical experience. *American journal of physiologic imaging* 1991;6(2):74-80.
- [154] Winkler SS. ^{23}Na Magnetic Resonance Brain Imaging. *Neuroradiology* 1990;32(5):416-420.
- [155] Boada FE, LaVerde G, Jungreis C, Nemoto E, Tanase C, Hancu F. Loss of cell ion homeostasis and cell viability in the brain: What sodium MRI can tell us. *Current Topics in Developmental Biology*, Volume 70 2005;70:77-+.
- [156] Ouwerkerk R. Sodium MRI. In: Modo M, Bulte JWM, editors. *Magnetic Resonance Neuroimaging: Methods and Protocols*. Volume 711, *Methods in Molecular Biology*. Totowa: Humana Press Inc; 2011. p 175-201.
- [157] Wheaton AJ, Borthakur A, Shapiro EM et al. Proteoglycan loss in human knee cartilage: Quantitation with sodium MR imaging - Feasibility study. *Radiology* 2004;231(3):900-905.
- [158] Chang G, Madelin G, Sherman OH et al. Improved assessment of cartilage repair tissue using fluid-suppressed ^{23}Na inversion recovery MRI at 7 Tesla: preliminary results. *European Radiology* 2012;22(6):1341-1349.
- [159] Ooms KJ, Cannella M, Vega AJ, Marcolongo M, Polenova T. ^{23}Na TQF NMR imaging for the study of spinal disc tissue. *J. Magn. Reson.* 2008;195(1):112-115.
- [160] Ooms KJ, Cannella M, Vega AJ, Marcolongo M, Polenova T. The application of ^{23}Na double-quantum-filter (DQF) NMR spectroscopy for the study of spinal disc degeneration. *Magn. Reson. Med.* 2008;60(2):246-252.
- [161] Kopp C, Linz P, Wachsmuth L et al. ^{23}Na Magnetic Resonance Imaging of Tissue Sodium. *Hypertension* 2012;59(1):167-172.
- [162] Gast LV, Volker S, Utzschneider M et al. Combined imaging of potassium and sodium in human skeletal muscle tissue at 7 T. *Magn. Reson. Med.* 2021;85(1):253-267.
- [163] Jansen MA, Van Emous JG, Nederhoff MGJ, Van Echteld CJA. Assessment of myocardial viability by intracellular ^{23}Na magnetic resonance Imaging. *Circulation* 2004;110(22):3457-3464.
- [164] Horn M, Weidensteiner C, Scheffer H et al. Detection of myocardial viability based on measurement of sodium content: A ^{23}Na -NMR study. *Magn. Reson. Med.* 2001;45(5):756-764.
- [165] Rooney WD, Springer CS. A Comprehensive Approach to the Analysis and Interpretation of the Resonances of Spins 3/2 from Living Systems. *NMR Biomed.* 1991;4(5):209-226.
- [166] Madelin G, Lee JS, Regatte RR, Jerschow A. Sodium MRI: Methods and applications. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2014;79:14-47.
- [167] Ishida N, Kobayashi T, Kano H, Nagai S, Ogawa H. ^{23}Na -NMR Imaging of Foods. *Agricultural and Biological Chemistry* 1991;55(9):2195-2200.
- [168] Aursand IG, Erikson U, Veliyulin E. Water properties and salt uptake in Atlantic salmon fillets as affected by ante-mortem stress, rigor mortis, and brine salting: A low-field ^1H NMR and $^1\text{H}/^{23}\text{Na}$ MRI study. *Food Chem.* 2010;120(2):482-489.
- [169] Aursand IG, Veliyulin E, Bocker U, Ofstad R, Rustad T, Erikson U. Water and Salt Distribution in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Studied by Low-Field ^1H NMR, ^1H and ^{23}Na MRI and Light Microscopy: Effects of Raw Material Quality and Brine Salting. *J. Agric. Food Chem.* 2009;57(1):46-54.
- [170] Erikson U, Veliyulin E, Singstad TE, Aursand M. Salting and desalting of fresh and frozen-thawed cod (*Gadus morhua*) fillets: A comparative study using ^{23}Na NMR, ^{23}Na MRI, low-field ^1H NMR, and physicochemical analytical methods. *J. Food Sci.* 2004;69(3):E107-E114.

- [171] Bertram HC, Holdsworth SJ, Whittaker AK, Andersen HJ. Salt diffusion and distribution in meat studied by ^{23}Na Nuclear Magnetic Resonance Imaging and Relaxometry. *J. Agric. Food Chem.* 2005;53(20):7814-7818.
- [172] Gallart-Jornet L, Barat JM, Rustad T, Erikson U, Escriche I, Fito P. A comparative study of brine salting of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Eng.* 2007;79(1):261-270.
- [173] Renou J-P, Benderbous S, Bielicki G, Foucat L, Donnat J-P. ^{23}Na magnetic resonance imaging: distribution of brine in muscle. *Magn. Reson. Imaging* 1994;12(1):131-137.
- [174] Vestergaard C, Risum J, Adler-Nissen J. ^{23}Na -MRI quantification of sodium and water mobility in pork during brine curing. *Meat Sci.* 2005;69(4):663-672.
- [175] Veliyulin E, Aursand IG. ^1H and ^{23}Na MRI studies of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) fillet pieces salted in different brine concentrations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2007;87(14):2676-2683.
- [176] Jaccard G, Wimperis S, Bodenhausen G. Multiplequantum NMR spectroscopy of $S=3/2$ spins in isotropic phase: A new probe for multiexponential relaxation. *J. Chem. Phys.* 1986;85(11):6282-6293.
- [177] Borthakur A, Hancu I, Boada FE, Shen GX, Shapiro EM, Reddy R. In vivo triple quantum filtered twisted projection sodium MRI of human articular cartilage. *J. Magn. Reson.* 1999;141(2):286-290.
- [178] Tsang A, Stobbe RW, Beaulieu C. Triple-quantum-filtered sodium imaging of the human brain at 4.7 T. *Magn. Reson. Med.* 2012;67(6):1633-1643.
- [179] Konstandin S, Nagel AM. Measurement techniques for magnetic resonance imaging of fast relaxing nuclei. *Magn. Reson. Mat. Phys. Biol. Med.* 2014;27(1):5-19.
- [180] Fleysher L, Oesingmann N, Inglese M. B-0 inhomogeneity-insensitive triple-quantum-filtered sodium imaging using a 12-step phase-cycling scheme. *NMR Biomed.* 2010;23(10):1191-1198.
- [181] Hancu I, Boada FE, Shen GX. Three-dimensional triple-quantum-filtered ^{23}Na imaging of in vivo human brain. *Magn. Reson. Med.* 1999;42(6):1146-1154.
- [182] Allen SP, Morrell GR, Peterson B et al. Phase-Sensitive Sodium B-1 Mapping. *Magn. Reson. Med.* 2011;65(4):1126-1131.
- [183] Gobet M, Foucat L, Moreau C. Investigation of Sodium Ions in Cheeses by ^{23}Na NMR Spectroscopy. Guojonsdottir M, Belton P, Webb G, editors. Cambridge: Royal Soc Chemistry; 2009. 57-64 p.
- [184] Boisard L, Andriot I, Martin C et al. The salt and lipid composition of model cheeses modifies in-mouth flavour release and perception related to the free sodium ion content. *Food Chem.* 2014;145:437-444.
- [185] Mosca AC, Andriot I, Guichard E, Salles C. Binding of Na^+ ions to proteins: Effect on taste perception. *Food Hydrocolloids* 2015;51:33-40.
- [186] Guojonsdottir M, Traore A, Renou JP. The Effect of Crystal Size and Encapsulation of Salt on Sodium Distribution and Mobility in Bread as Studied with ^{23}Na Double Quantum Filtering NMR. Royal Society of Chemistry Special Publications; 2012 Jun 26-29; Wageningen Univ, Wageningen, NETHERLANDS. Royal Soc Chemistry. p 35-43. (Royal Society of Chemistry Special Publications).
- [187] Wang XJ, Wang XW, Feng TT, Shen Y, Xia SQ. Saltiness perception enhancement of fish meat treated by microwave: The significance of conformational characteristics, water and sodium mobility. *Food Chem.* 2021;347:9.
- [188] Glover GH. Simple analytic spiral K-space algorithm. *Magn. Reson. Med.* 1999;42(2):412-415.
- [189] Cline HE, Zong XL, Gai N. Design of a logarithmic k-space spiral trajectory. *Magn. Reson. Med.* 2001;46(6):1130-1135.

-
- [190] Oberhammer T, Weiger M, Hennel F. Spiral MRI trajectory design with frequency constraint. 2010.
 - [191] El Darai T, Cousin SF, Stern Q et al. Porous functionalized polymers enable generating and transporting hyperpolarized mixtures of metabolites. *Nat. Commun.* 2021;12(1):9.
 - [192] Ji X, Bornet A, Vuichoud B et al. Transportable hyperpolarized metabolites. *Nat. Commun.* 2017;8:7.
 - [193] Hoesl MAU, Schad LR, Rapacchi S. Efficient ^{23}Na triple-quantum signal imaging on clinical scanners: Cartesian imaging of single and triple-quantum ^{23}Na (CRISTINA). *Magn. Reson. Med.* 2020;84(5):2412-2428.