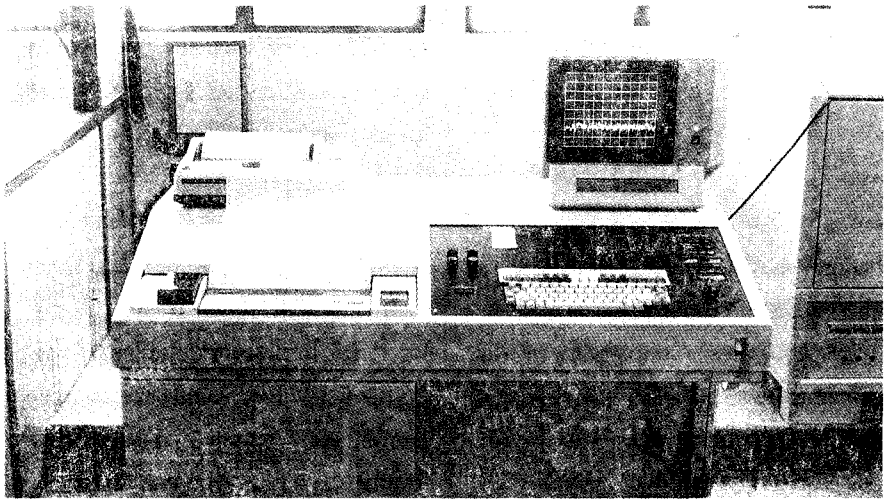
พัฒนาการของนิวเคลียร์แมคเนติกเรโซแนนซ์สเปคโตรสโคปี

ดร.มาริสา อรัญชัยยะ



นิวเคลียร์แมคเนติกเรโซแนนซ์สเปคโตรสโคปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) หรือเป็นที่รู้จักกันในชื่อ NMR เป็นเทคนิคที่สำคัญอย่างหนึ่งในบรรดาเทคนิคทางสเปคโตรสโคปี ข้อมูลที่ได้จากการแปรผลบันทึกของเครื่อง (NMR spectrum) นำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาหาโครงสร้างของโมเลกุลของสาร ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคนี้และประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางทั้งทางเคมี ชีววิทยา และทางการแพทย์

หลักการโดยย่อของเทคนิคนี้ คือ เมื่อโมเลกุลของสารอยู่ในสนามแม่เหล็ก ระดับพลังงานของนิวเคลียสของธาตุซึ่งมีคุณสมบัติทางแม่เหล็กจะเปลี่ยนจากเดิมที่เท่า ๆ กันเป็นไม่เท่ากัน เมื่อมีการให้พลังงานที่ความถี่ของคลื่นวิทยุ แต่ละนิวเคลียสจะดูดกลืนพลังงานที่ความถี่ค่าหนึ่งโดยเฉพาะ สามารถบันทึกสเปคตรัมของการดูดกลืนพลังงานที่ความถี่ต่าง ๆ กันของนิวเคลียสเหล่านั้นได้

ประวัติความเป็นมาของเทคนิคนี้ เริ่มจากเมื่อปี ค.ศ. 1946 นักฟิสิกส์ได้พบสัญญาณของไฮโดรเจนเป็นครั้งแรก ต่อมาในปี ค.ศ. 1949 มีรายงานว่า ความถี่ของพลังงานที่ดูดกลืนขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของนิวเคลียสของไฮโดรเจน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้นักวิทยาศาสตร์นำไปศึกษาหาโครงสร้างของโมเลกุลได้ เทคนิคนี้จึงเริ่มเป็นที่สนใจของนักเคมี

เนื่องจากในระยะแรกเริ่มใช้เทคนิคนี้เป็นแบบ continuous wave (CW) การนำมาประยุกต์ใช้ทางเคมีจึงยังอยู่ในวงค่อนข้างจำกัด continuous wave คือ การให้พลังงานแก่สารเพื่อให้นิวเคลียสดูดกลืนพลังงานที่เหมาะสมซึ่งมี 2 วิธี วิธีแรกในรูปสนามแม่เหล็กโดยค่อย ๆ เปลี่ยนค่าสนามแม่เหล็ก (field sweep) และวิธีที่สองให้ในรูปความถี่โดยปรับเปลี่ยนค่าความถี่ของคลื่นวิทยุ (frequency sweep) ทีละน้อย จนกระทั่งเกิดการดูดกลืนพลังงานของนิวเคลียสต่าง ๆ ในโมเลกุลที่ความถี่ที่เหมาะสมซึ่งเป็นค่าเฉพาะ แล้วบันทึกออกมาเป็นสเปคตรัมของการดูดกลืนพลังงานของนิวเคลียสที่ความถี่ต่างกันไป

ในช่วงต่อมาเมื่อวิทยาการก้าวหน้าไปอย่างไม่หยุดยั้ง นักวิทยาศาสตร์ได้นำเทคนิคแบบ pulsed Fourier transform (FT) กล่าวคือ เมื่อสารที่จะศึกษาอยู่ในสนามแม่เหล็กที่คงที่แล้ว มีการให้พลังงานเพื่อให้นิวเคลียสดูดกลืนพลังงานที่เหมาะสมโดยมีการให้พลังงานที่ความถี่มากมายหลายความถี่ให้พร้อม ๆ กันในช่วงเวลาสั้น ๆ (pulse) นิวเคลียสจะเลือกดูดกลืนพลังงานที่ความถี่ที่เหมาะสมเท่านั้น ความถี่ที่เหลือถูกกรองออกไป ข้อมูลที่ได้ในขั้นต้นเป็นการบันทึกระหว่างความเข้มของสัญญาณซึ่งแต่ละนิวเคลียสดูดกลืน และสัญญาณมีความเข้มลดลงตามเวลาที่ผ่านไป (Free Induction Decay, FID) สัญญาณจากแต่ละนิวเคลียสซ้อนกันหมด เนื่องจากให้ดูดกลืนพลังงานพร้อมกัน จึงต้องมีการแปลงสัญญาณ (Fourier transform) โดยใช้คอมพิวเตอร์เข้าช่วยในการคำนวณ จะได้รับข้อมูลซึ่งบันทึกเป็นสเปคตรัมของการดูดกลืนพลังงานของนิวเคลียสที่ความถี่ต่าง ๆ กัน เช่นเดียวกับของ CW หลังปี ค.ศ. 1970 เป็นต้นมา การค้นพบเทคนิคแบบ pulsed NMR ผนวกกับเทคโนโลยีทางด้านคอมพิวเตอร์ทำให้เทคนิคของ NMR ได้รับการพัฒนาให้เจริญก้าวหน้าอย่างรวดเร็วและมีการประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางยิ่งขึ้น ดังจะกล่าวต่อไปนี้

1. มีการศึกษากับนิวเคลียสของธาตุชนิดต่าง ๆ มากชนิดขึ้น (multinuclear studies) เทคนิค NMR นั้นมีขีดความไว (sensitivity) ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับเทคนิคอื่นในจำนวนสเปคโตรสโคปี แม้ว่าในทางทฤษฎีนิวเคลียสของธาตุใดก็ตามที่มีคุณสมบัติทางแม่เหล็ก กล่าวคือ มีค่า spin quantum number (I) มากกว่าหรือเท่ากับ $\frac{1}{2}$ ย่อมตอบสนองต่อเทคนิค NMR แต่ในทางปฏิบัติแล้ว แต่เดิมสำหรับ CW NMR มีเพียงไม่กี่นิวเคลียสเท่านั้นที่สามารถศึกษาได้ เช่น ^{1}H, ^{19}F, ^{31}P เพราะนิวเคลียสอื่น ๆ ถูกจำกัดด้วยเรื่องสภาพธรรมชาติ (natural abundance) ซึ่งพบน้อยหรือความไวในการตอบสนองต่ำ ดังแสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 1

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์อาศัยเครื่องคอมพิวเตอร์เข้าช่วยในการเก็บสะสมข้อมูล สามารถเก็บสะสมข้อมูลหลาย ๆ ครั้ง ทำให้ได้สัญญาณมากขึ้นเนื่องจาก pulsed NMR ใช้เวลาในการเก็บข้อมูลต่อครั้งรวดเร็วมากเพราะให้ความถี่พร้อมกันหลาย ๆ ความถี่แก่นิวเคลียส จึงเกิดการดูดกลืนพลังงานพร้อมกันที่แต่ละความถี่ที่แตกต่างกันสำหรับแต่ละนิวเคลียส สามารถเก็บสะสมข้อมูลหลายครั้ง แล้วจึงแปลงสัญญาณ (Fourier transform) ดังนั้น pulsed FT NMR จึงขยายขอบเขตความสามารถของเทคนิคนี้ให้กว้างขวางขึ้น ส่งประโยชน์ให้ศึกษาได้กับ

ตารางที่ 1 ตารางแสดงคุณสมบัติของนิวเคลียสที่ตอบสนองต่อเทคนิค NMR

Isotope	Natural abundance	Spin (I)	Relative sensitivity (สำหรับนิวเคลียสจำนวนเท่ากันที่สนามแม่เหล็กคงที่)
1H	99.9844	½	1.0
2H	1.56×10^{-2}	1	9.64×10^{-3}
10B	18.83	3	1.99×10^{-2}
11B	81.17	$^3/_2$	0.165
13C	1.108	½	1.59×10^{-2}
14N	99.635	1	1.01×10^{-3}
15N	0.365	½	1.04×10^{-3}
19F	100.0	½	0.834
31P	100.0	½	6.64×10^{-2}

นิวเคลียสของธาตุต่าง ๆ ได้มากขึ้น ส่วน CW NMR ใช้เวลาในการเก็บข้อมูลต่อครั้งนานกว่า pulsed NMR มาก เนื่องจากต้องค่อย ๆ เปลี่ยนสนามแม่เหล็กหรือความถี่อย่างช้า ๆ เพื่อให้เกิดการดูดกลืนพลังงานทีละความถี่สำหรับแต่ละนิวเคลียส ในทางปฏิบัติงานที่ต้องการทราบผลรวดเร็วจึงไม่เหมาะที่จะเก็บข้อมูลหลาย ๆ ครั้ง และความนิยมใช้กันลดน้อยลง

2. การศึกษาโดยใช้สนามแม่เหล็กความเข้มสูง (high-field operation) แต่เดิมการศึกษาโดยเทคนิค NMR นั้น สนามแม่เหล็กได้จากแม่เหล็กถาวร (permanant magnet) หรือแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnet) ความเข้มของสนามแม่เหล็กที่ได้อยู่ในช่วงเพียงระหว่าง 14,092 Gauss (1.41 tesla) เทียบเท่ากับ NMR frequency 60 MHz ถึง 23,487 Gauss (2.35 tesla) เทียบเท่ากับ NMR frequency 100 MHz เท่านั้น การค้นพบใหม่ทางด้านวัสดุศาสตร์ทำให้สามารถผลิตสนามแม่เหล็กความเข้มสูงขึ้น คือจากแม่เหล็กตัวนำยิ่งยวด (superconducting magnet) เป็นผลให้สามารถศึกษานิวเคลียสในช่วงความถี่สูงขึ้น เช่น ความถี่ของโปรตอนเป็น 200 MHz, 360 MHz, 400 MHz, 500 MHz ปัจจุบันได้ถึง 600 MHz แต่ก็ทำให้ระบบมีราคาแพงขึ้นเพราะต้องใช้ฮีเลียมเหลวเป็นตัวทำความเย็น

การศึกษาที่ความเข้มสนามแม่เหล็กที่สูงขึ้น ช่วยเพิ่มขีดความไว (sensitivity) ของนิวเคลียสที่ศึกษาให้ดีขึ้นและการแยกของความถี่ของพลังงานที่นิวเคลียสดูดกลืนก็ดีขึ้นด้วย สามารถวิเคราะห์ข้อมูลได้ดีขึ้น จนสามารถศึกษาโมเลกุลที่มีโครงสร้างซับซ้อนขึ้นเกิดประโยชน์ทั้งด้านสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และชีวเคมีซึ่งมักเป็นสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่

3. การศึกษาทาง NMR สองมิติ (two-dimensional NMR) ปกติข้อมูล NMR spectrum ที่บันทึกได้จากเครื่อง NMR เป็นมิติเดียวคือเป็นข้อมูลของความเข้มของสัญญาณแปรกับเวลา เครื่องคอมพิวเตอร์คำนวณแล้วแปลงสัญญาณ (Fourier transform) ให้เป็นการบันทึกระหว่างความเข้มของสัญญาณกับความถี่ของพลังงานที่ดูดกลืน (chemical shift) ในกรณีที่ข้อมูลซับซ้อนมาก ยากในการวิเคราะห์ว่าการดูดกลืนพลังงานที่ความถี่ใดเป็นของนิวเคลียสใด วิธีที่จะได้ประโยชน์จากข้อมูลที่มีอยู่ให้มากขึ้น โดยการเพิ่มตัวแปรของเวลาอีกค่าหนึ่ง แล้วจัดหาความสัมพันธ์หลังจากแปลงสัญญาได้ NMR spectrum สองมิติ ซึ่งให้ข้อมูลเพิ่มเติมจากความสัมพันธ์ที่ได้นี้ ข้อมูลเหล่านี้เป็นประโยชน์อย่างมากต่อการศึกษาทางโครงสร้างที่ซับซ้อนของโมเลกุล พัฒนาการด้านเทคนิคของ NMR จึงยิ่งทวีเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใช้ NMR สองมิติ ซึ่งประกอบด้วยเทคนิคต่าง ๆ มากมาย ตัวอย่างเช่น

- H, H-COSY (homonuclear shift correlation) เป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง chemical shift ของนิวเคลียสประเภทเดียวกัน เช่น ไฮโดรเจนกับไฮโดรเจน หรือ คาร์บอนกับคาร์บอน จะได้ข้อมูลเกี่ยวกับแรงกระทำต่อกันของนิวเคลียสประเภทเดียวกันที่ยึดติดกัน

- H, X-COSY (heteronuclear chemical shift correlation) เป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง chemical shift ของนิวเคลียสประเภทต่างกัน เช่น ไฮโดรเจนกับคาร์บอน ได้ข้อมูลเกี่ยวกับแรงกระทำต่อกันของนิวเคลียสต่างประเภทซึ่งยึดติดกัน

- H...H NOESY (homonuclear nuclear overhauser and exchange spectroscopy) เป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง chemical shift ของนิวเคลียสประเภทเดียวกัน ได้ข้อมูลเกี่ยวกับนิวเคลียสที่อยู่ใกล้กันแต่ไม่ยึดติดกันด้วย bond ทางเคมี

4. การศึกษาทาง NMR ประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ (whole body imaging) จากการค้นพบสัญญาณของไฮโดรเจนครั้งแรกโดยนักฟิสิกส์แล้วมีการประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ในทางเคมี ชีววิทยา จนมาสู่ทางการแพทย์ โดยอาศัยหลักการที่ว่าในร่างกายประกอบด้วยโปรตอนที่แลกเปลี่ยนได้ (mobile protons) ซึ่งให้สัญญาณของ NMR ความเข้มข้นของโปรตอนขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อของร่างกาย เมื่อมีการตรวจสัญญาณของโปรตอนจะปรากฏภาพซึ่งแสดงความหนาแน่นของโปรตอน มีหลักฐานพิสูจน์ว่าเนื้อเยื่อที่เป็นมะเร็ง จะมีเวลาที่นิวเคลียสเมื่อดูดกลืนพลังงานแล้วกลับตกสู่ระดับพลังงานต่ำกว่า (relaxation time) แตกต่างไปจาก relaxation time ของนิวเคลียสในเนื้อเยื่อปกติ ความแตกต่างนี้ก็จะปรากฏที่ภาพเช่นกัน ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการเก็บข้อมูลให้รวดเร็วขึ้นโดยอาศัยเครื่องคอมพิวเตอร์ขนาดใหญ่เข้าช่วยในการทำงาน การสามารถนำเทคนิคนี้มาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์จึงเป็นประโยชน์มากในการเสริมข้อมูลจากฟิล์ม X-ray NMR เก็บสัญญาณจากเนื้อเยื่อส่วนที่อ่อนนุ่มกว่าของร่างกาย และไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายเนื่องจากใช้ความเข้มของสนามแม่เหล็กต่ำ

พัฒนาการด้านเทคนิคของ NMR ยังมีอีกมากและยังคงพัฒนาต่อไปไม่หยุดยั้ง ได้แก่ การศึกษาตัวอย่างในสภาพที่เป็นของแข็งโดยเทคนิคนี้ (solid-state NMR) มีการศึกษาเทคนิคนี้ในสามมิติ (three-dimensional NMR) ฯลฯ ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ประเทศของเรายังไปไม่ถึง ส่วนพัฒนาการสี่ประการแรกที่กล่าวในข้างต้น ประเทศของเรามีแล้วบางส่วนและบางส่วนกำลังจะมีในอนาคตอันใกล้นี้ และกำลังพัฒนาตามมาเรื่อย ๆ.