หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

หลังจากความสำเร็จของการทดลองเอ็นเอ็มอาร์ (NMR-Nuclear magnetic resonance) ในปี พ.ศ.2489 โดยสองทีมงานนักฟิสิกส์ที่ต่างทำงานโดยไม่เกี่ยวข้องกัน คือบลอคและคณะ (Block et al) (1) กับเพอร์เซลล์และคณะ (Purcell et al) (2) วิชาการแขนงนี้ก็ได้รับการพัฒนาเรื่อยมา และได้มีการนำไปประยุกต์ใช้งานด้านต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะด้านเคมี,ชีวเคมี และทางด้านการแพทย์

1.1 เอ็นเอ็มอาร์คืออะไร

เอ็นเอ็มอาร์ ตรงกับคำในภาษาอังกฤษคือ NMR ซึ่งย่อมาจากคำว่า Nuclear Magnetic Resonance เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อนิวเคลียสที่มีโมเมนต์แม่เหล็กจำนวนหนึ่ง ถูกวางในสนามแม่เหล็กคงที่ เมื่อให้พลังงานแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่พอเหมาะค่าหนึ่ง ระบบจะดูดกลืนพลังงานและแสดงให้เห็นได้โดยอุปกรณ์แสดงผล จะเห็นว่าถ้ากำหนดค่าสนามแม่เหล็กค่าหนึ่งจะมีความถี่ที่ทำให้เกิดการเรโซแนนซ์เพียงค่าเดียวเท่านั้น ถ้าเปลี่ยนค่าของสนามแม่เหล็ก ค่าความถี่ที่เรโซแนนซ์จะมีค่าเปลี่ยนไป อัตราการเปลี่ยนจะขึ้นกับค่าคงที่ค่าหนึ่งที่เรียกว่า ค่าอัตราส่วนไจโรแมกเนติค (Gyromagnetic ratio) ซึ่งจะมีค่าต่างกันสำหรับนิวเคลียสต่างชนิดกัน

เอ็นเอ็มอาร์แบ่งตามลักษณะการให้พลังงานได้เป็นสองชนิดคือ

1. <u>แบบให้พลังงานอย่างต่อเนื่อง</u> (Continuous wave NMR) เป็นแบบแรกที่ประสบผลสำเร็จในการทดลองเอ็นเอ็มอาร์ (1),(2) พลังงานที่ให้คือพลังงานแม่เหล็กไฟฟ้าซึ่งมีความถี่อยู่ในช่วงของคลื่นวิทยุ (RF field) และพลังงานจะถูกป้อนให้กับสารตัวอย่างตลอดเวลา ปัจจุบันวิธีนี้ลดบทบาทลงไปมาก เพราะเป็นวิธีที่ให้ข้อมูลเกี่ยวกับนิวเคลียสที่ศึกษาได้น้อย วิธีให้พลังงานแบบนี้ที่นำไปใช้กันมากก็คือเอ็นเอ็มอาร์แบบแถบกว้าง (Wide - Line NMR) ซึ่งนิยมใช้ในการหาปริมาณของสาร

2. พัลส์เอ็นเอ็มอาร์ (Pulsed NMR) บลอคและคณะ (Block et al) (3) เสนอแนวความคิดของวิธีนี้ขึ้นมาพร้อม ๆ กันกับวิธีแรก เสนอเป็นทฤษฎีครั้งแรกโดย ทอร์เรย์ (H.C.Torrey) (4) และทดลองประสบผลสำเร็จโดยฮาห์น (E.L. Hahn) (5) วิธีนี้มีข้อแตกต่างกับวิธีแรกที่การให้พลังงานดังที่กล่าวมาแล้ว คือการให้พลังงานโดยวิธีนี้จะให้เป็นช่วง ๆ ไม่ต่อเนื่อง ข้อดีของวิธีนี้คือจะได้ข้อมูลต่าง ๆ จากนิวเคลียสที่กำลังศึกษามากกว่าวิธีแรก และใช้แทนวิธีการแรกได้เกือบทุกกรณี

1.2 การประยุกต์ใช้งานที่สำคัญของเอ็นเอ็มอาร์

ปัจจุบันมีการนำเอ็นเอ็มอาร์ไปประยุกต์ใช้งานอย่างกว้างขวาง ที่เด่นมากก็คือเอ็นเอ็มอาร์สเปกโตรสโคปี และการสร้างภาพโดยเอ็นเอ็มอาร์ (NMR imaging) ซึ่งเป็นเอ็นเอ็มอาร์ที่มีอำนาจแยกสูงหรือไฮเรสโซลูชันเอ็นเอ็มอาร์ (High resolution NMR) ส่วนเอ็นเอ็มอาร์ที่มีอำนาจแยกต่ำหรือโลเรสโซลูชันเอ็นเอ็มอาร์ (Low resolution NMR) หรือเอ็นเอ็มอาร์แบบแถบกว้าง (Wide - Line NMR) นั้นส่วนใหญ่ใช้ในการหาปริมาณของสาร

จะกล่าวถึงการประยุกต์ใช้เอ็นเอ็มอาร์ที่สำคัญพอสังเขปดังนี้

1.2.1 เอ็นเอ็มอาร์สเปกโตรสโคปี (NMR spectroscopy) ในทางเคมีจะนำไปใช้หาโครงสร้างของโมเลกุลที่ซับซ้อน ในบางครั้งจะใช้ร่วมกับวิธีการอื่น เช่น อินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Infrared spectroscopy),อีพีอาร์สเปกโตรสโคปี (Electron paramagnetic resonance spectroscopy) หรือสเปกโตรสโคปีแบบอื่น ๆ เพื่อร่วมกันในการวิเคราะห์โครงสร้างของโมเลกุลที่ซับซ้อนและไม่สามารถใช้เพียงวิธีการเดียวในการวิเคราะห์ปัญหาได้ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีการนำเอาวิธีการเอ็นเอ็มอาร์สเปกโตรสโคปีไปใช้ในงานวิจัยทางด้านชีวเคมีกันมาก โดยเฉพาะหลังจากที่สามารถสร้างแม่เหล็กตัวนำยิ่งยวด (Superconducting magnet) ขึ้นมาได้ เพราะทำให้มีแม่เหล็กที่มีความเข้มของสนามและความสม่ำเสมอ(Homogeneous) สูงขึ้นมาก ทำให้สามารถทำเรโซแนนซ์ได้ละเอียดยิ่งขึ้นเพราะการเลื่อนทางเคมี (Chemecal shift) มากขึ้น การเลื่อนทางเคมีนี้เกิดขึ้นเนื่องจากการอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันของนิวเคลียสที่กำลังศึกษา ทำให้นิวเคลียสนั้นมองเห็นสนามแม่เหล็กที่ให้ไปแตกต่างกัน ทั้งนี้เพราะการให้สนามแม่เหล็กจะเหนี่ยวนำให้เกิดกระแสไฟฟ้าในอะตอมหรือโมเลกุลซึ่งจะทำให้เกิดสนามแม่เหล็กเล็ก ๆ ขึ้น และมีผลหักล้างกับสนามแม่เหล็กที่ให้ไป ผลก็คือนิวเคลียสที่อยู่ในกลุ่มของโมเลกุลที่แตกต่างกันย่อมจะมีสนามประจำที่

(Local field) แตกต่างกัน (6) จึงทำให้เกิดเรโซแนนซ์ที่ตำแหน่งต่างกัน นิวเคลียสที่นิยมทำเรโซแนนซ์ได้แก่ ไฮโดรเจน (^{1}H) ซึ่งนิยมเรียกกันว่า โปรตอนเรโซแนนซ์ สามารถทำได้ในสารทุกชนิดที่มีไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบ และฟอสฟอรัส (^{31}P) ซึ่งใช้ในการศึกษากระบวนการเมตาโบลิซึม (Metabolism) โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของฟอสฟอรัส หรือในการศึกษาการย่อยสลายของแบคทีเรียอีโคไล (E. coli) โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของคาร์บอน-13 เป็นต้น (7)

1.2.2 <u>การสร้างภาพโดยวิธีเอ็นเอ็มอาร์</u> (NMR imaging) บางครั้งเรียกเอ็มอาร์ไอ (MRI-Magnetic resonance imaging) เป็นเทคนิคใหม่ในวงการแพทย์ ในการทำให้เกิดภาพภาคตัดขวางของส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย คล้ายกับภาพที่ได้จากเครื่องสร้างภาพด้วยรังสีเอกซ์ (X-Rays computer tomography เรียกสั้น ๆ ว่า X-Rays CT) ต่างกันที่ในเครื่องถ่ายภาพด้วยรังสีเอกซ์นั้นใช้การดูดกลืนรังสีเอกซ์ในแนวฉาย (Projection) ต่าง ๆ มาวิเคราะห์และประกอบเป็นภาพ ส่วนเอ็มอาร์ไอใช้สัญญาณเอ็นเอ็มอาร์ในสนามแม่เหล็กที่มีสนามแม่เหล็กที่มีความเข้มขึ้นกับตำแหน่ง (Gradient field) ในทิศต่าง ๆ มาวิเคราะห์และประกอบกันเป็นภาพ สิ่งที่เห็นและไม่เห็นในภาพของเครื่องสร้างภาพด้วยรังสีเอกซ์และเอ็มอาร์ไอจึงต่างกัน นอกจากนั้นวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในเอ็มอาร์ไอทำให้ได้ภาพชนิดต่าง ๆ ที่ไม่สามารถทำได้มาก่อนโดยวิธีการอื่น ๆ ปัจจุบันเครื่องเอ็มอาร์ไอเริ่มถูกนำมาใช้ เพราะว่าให้ภาพที่ดีกว่าและมีโทษน้อยกว่าเครื่องสร้างภาพด้วยรังสีเอกซ์ และคาดว่าในอนาคตอันใกล้นี้จะถูกนำไปใช้แทนเครื่องสร้างภาพด้วยรังสีเอกซ์

ที่กล่าวมาทั้งหมดเป็นประโยชน์ของเอ็นเอ็มอาร์แบบกว้าง ๆ ยังมีประโยชน์และการประยุกต์ใช้งานเอ็นเอ็มอาร์ ที่เรายังไม่ได้กล่าวถึงอีกมาก

1.3 <u>การหาปริมาณไขมันโดยวิธีเอ็นเอ็มอาร์</u>

มีการวิจัยที่ใช้เอ็นเอ็มอาร์แบบอำนาจแยกต่ำในการวิเคราะห์เชิงปริมาณมากพอสมควร เช่น การหาปริมาณไขมัน,น้ำมัน หรือน้ำในสารบางชนิด ซึ่งมีทั้งแบบให้พลังงานอย่างต่อเนื่องและแบบพัลส์เอ็นเอ็มอาร์ เช่น การหาปริมาณน้ำมันในเมล็ดข้าวโพด (8) หาปริมาณความชื้นในแป้ง (9) หาปริมาณของไขมันในสารตัวอย่างที่มีความชื้น (10) หาอัตราส่วนของของแข็งต่อของเหลวในไขมัน (11),(12) เป็นต้น ในปัจจุบันวิธีการนี้ถูกนำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมเพราะเป็นวิธีการที่ให้ผลรวดเร็วและความถูกต้องแม่นยำสูง (13) ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะใช้วิธีพัลส์เอ็นเอ็มอาร์ซึ่งใช้สัญญาณ

พัลส์แบบเอคโคกระตุ้นให้เกิดการเรโซแนนซ์ในการทดลองหาปริมาณไขมันในนมผง

ในนมผงประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญสามชนิดคือโปรตีน ไขมันและน้ำตาลแลคโตส ที่เหลืออีกเล็กน้อยเป็นความชื้นและวิตามินแร่ธาตุต่าง ๆ (14) ในสารต่าง ๆ เหล่านี้ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยธาตุที่สำคัญสามชนิดคือคาร์บอน ออกซิเจนและไฮโดรเจน ไอโซโทปปกติของธาตุทั้งสามมีเพียงไฮโดรเจนเท่านั้นที่สามารถทำให้เกิดการเรโซแนนซ์ได้ ทั้งนี้เพราะนิวเคลียสของไฮโดรเจนมีโมเมนต์แม่เหล็กที่ไม่เป็นศูนย์

ไฮโดรเจนที่อยู่ในโปรตีน อยู่ในแลคโตสและอยู่ในไขมัน จะมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังนั้นจะให้สัญญาณเรโซแนนซ์ที่แตกต่างกัน โปรตีนและแลคโตสมีสภาพเป็นของแข็ง อะตอมจะอยู่ชิดกัน ไฮโดรเจนของสารทั้งสองเมื่อรับพลังงานมาแล้วจะคายไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งแตกต่างจากกรณีของไขมันที่มีสภาพเป็นวุ้น อะตอมจะอยู่ห่างกันมากกว่าและคายพลังงานได้ช้ากว่า ดังนั้นถ้าเลือกวัดสัญญาณที่ตำแหน่งไกลออกไปอย่างพอเหมาะ สัญญาณที่ได้จะเป็นสัญญาณจากไขมันอย่างเดียว โดยมีพื้นที่ใต้กราฟและความสูงของสัญญาณเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณสารที่ใช้วัด

ผลการทดลองในวิทยานิพนธ์นี้จะแสดงให้เห็นว่าวิธีพัลส์เอ็นเอ็มอาร์สามารถใช้วัดปริมาณไขมันได้ดี และสามารถนำไปใช้แทนวิธีการทางเคมีคือการสกัด (Extraction) ได้ โดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการ ทราบเพียงปริมาณไขมัน ไม่ต้องการสกัดเอาไขมันมาใช้ โดยมีความสะดวกรวดเร็วและความถูกต้องเชื่อถือได้

1.4 ขอบเขตของวิทยานิพนธ์

งานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะแบ่งเป็นส่วนใหญ่ ๆ ได้สองส่วนคือ ส่วนการสร้างเครื่องมือและส่วนการทดลอง ในส่วนแรกจะสร้างอุปกรณ์ขึ้นมาชิ้นหนึ่งคือ อุปกรณ์กำเนิดสัญญาณพัลส์ (Pulsed generator) ซึ่งภายในจะมีสัญญาณสองช่อง (Channel) และสามารถสร้างสัญญาณแบบ 90°-T-180° ได้ (T เป็นระยะห่างระหว่างพัลส์) สัญญาณแบบนี้บางครั้งเรียกว่า เอคโคพัลส์ (Echo pulse) จะใช้สัญญาณแบบนี้เป็นสัญญาณกระตุ้นให้เกิดการเรโซแนนซ์ในการทดลองในส่วนที่สอง

ส่วนที่สองเป็นส่วนของการทดลองหาปริมาณไขมันในนมผง ซึ่งเป็นส่วนหลัก การทดลองจะเริ่มต้นด้วยการทำกราฟปรับเทียบ (Calibration curve) โดยการนำไขมันที่สกัดได้จากนมผงปริมาณต่าง ๆ กันสี่ตัวอย่าง ไปวัดหาความสูงของสัญญาณ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟ

ระหว่างความสูงของสัญญาณกับปริมาณไขมัน จะได้กราฟปรับเทียบตามต้องการ จากนั้นนำนมผงที่ต้องการหาปริมาณไขมันไปชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปทดลองวัดหาความสูงของสัญญาณ นำความสูงของสัญญาณที่ได้ไปเทียบกับกราฟปรับเทียบจะทำให้ทราบปริมาณไขมันในนมผง ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ไขมันในนมผงหาได้จาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมันในนมผง} = \frac{\text{ปริมาณไขมันจากกราฟปรับเทียบ}}{\text{ปริมาณนมผงที่ใช้ทดลอง}} \times 100$$

ในการทดลองส่วนนี้ได้ใช้คอมพิวเตอร์ช่วยในการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล โดยแบ่งเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเป็นโปรแกรมรับสัญญาณและคำนวณความสูงของสัญญาณ และส่วนที่สองเป็นโปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับคำนวณ เขียนกราฟ รวมทั้งแสดงผลอื่น ๆ จากข้อมูลจากส่วนแรก

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย