บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้จะกล่าวถึงทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยซึ่งได้แก่ ทฤษฎีที่เกี่ยวกับเลือดและส่วนประกอบของเลือดมนุษย์ คอปเปลอร์ โฟโตไดโอด สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ สเปคตรัมการดูดกลืนของแสง กฎการดูดกลืนแสง ค่าความยาวคลื่นแสงที่มีผลตอบสนองต่อการดูดกลืนของฮีโมโกลบิน ทฤษฎีการออกแบบ และเครื่องมือที่ใช้ในการสอบเทียบ

2.1 เลือดและส่วนประกอบของเลือดมนุษย์

เลือดเป็นของเหลวในร่างกายที่อยู่ภายนอกเซลล์ ในร่างกายของมนุษย์จะพบของเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ประมาณร้อยละ 63 ของเหลวภายนอกเซลล์ร้อยละ 37 ซึ่งจะแบ่งตามตำแหน่งที่อยู่ น้ำเลือดจะพบภายในเส้นเลือดประมาณร้อยละ 70 ของเหลวระหว่างเซลล์ได้แก่น้ำเหลืองประมาณร้อยละ 28 และที่เหลือจะเป็นของเหลวอื่น [10] ส่วนประกอบของเลือดจะประกอบไปด้วย น้ำเลือด เม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง

1) น้ำเลือด (Plasma) น้ำเลือดเป็นของเหลวค่อนข้างใส มีลักษณะสีเหลืองอ่อน จะประกอบด้วยน้ำประมาณร้อยละ 90-93 มีหน้าที่ทำละลายสารแขวนลอยและละลายสารต่างๆ และโปรตีนประมาณร้อยละ 7-10 ซึ่งช่วยให้เลือดมีการแข็งตัวในกรณีที่เกิดบาดแผล และทำให้เลือดมีความหนืด

2) เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ทำหน้าที่สำคัญในการป้องกันเชื้อโรคให้กับร่างกายมีชนิดหลักๆ 2 ชนิดคือ ฟาโกไซต์ (Phagocyte) ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมเซลล์พวกนี้จะเจริญพัฒนาที่ไขกระดูก และลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวพวกที่ทำหน้าที่สร้างสารสร้างสารแอนติบอดีซึ่งเป็นสารประเภทโปรตีนขึ้นมาต่อต้านสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรค

3) เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell) เป็นเซลล์สีแดง มีรูปร่างเป็นทรงกลมแบนตรงกลางจะมีลักษณะเว้า มีหน้าที่ในการส่งถ่ายออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆทั่วร่างกาย เม็ดเลือดแดงมีรงค์วัตถุสีแดงเรียกว่า ฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ ฮีโมโกลบินสามารถรวมตัวกับก๊าซต่างๆได้ดีมาก ถ้ามีปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดน้อยจะทำให้การลำเลียงออกซิเจนได้น้อยมาก ถ้าหากปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในน้ำเลือดสูงกว่าในเซลล์จะส่งผลกระทบทำให้มีความหนืดมากจนไม่สามารถสูบฉีดได้และหัวใจต้องทำงานหนักเกินสมควร

2.1.1 ดัชนีเม็ดเลือดแดง

ดัชนีเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell Indices) เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง โดยจะคำนวณค่าเฉลี่ยของขนาดเม็ดเลือดและปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือด เพื่อนำมาวินิจฉัยภาวะโลหิตจางซึ่งใช้น้ำยาเคมีและใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจนับโดยวินท็อปเป็นผู้คิดค้น [11] แต่เนื่องจากการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์มีข้อผิดพลาดสูง ดังนั้นค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงจึงไม่นิยมนำมาใช้มากนัก ปัจจุบันการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงจะทำได้โดยเครื่องอัตโนมัติเพราะเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วและมีความถูกต้องแม่นยำสูง อีกทั้งยังสามารถคำนวณค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงได้ทันที เพราะค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงที่เป็นค่าที่มีความสำคัญในการช่วยประกอบการวินิจฉัยโรค ได้แก่ การหาปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (*MCV*, Mean Corpuscular Volume) ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (*MCH*, Mean Corpuscular Hemoglobin) ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (*MCHC*, Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) และการกระจายตัวของปริมาตรเม็ดเลือดแดง (*RDW*, Red Blood Cell Distribution Width) โดยการคำนวณจะเป็นดังสมการที่ (2.1) ซึ่งจะมีหน่วยเป็นเฟมโตลิตร (femtoliter)

$$MCV = \frac{Hct(\%) \times 10}{Rbc(10^{12}/l)} \tag{2.1}$$

โดยที่ *MCV* คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง
Hct คือ ปริมาตรเม็ดเลือดแดงในปริมาตรเลือดทั้งหมด
Rbc คือ จำนวนเม็ดเลือดแดง

สำหรับในเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้หลักการดูดกลืนของแสงค่า *MCV* จะสามารถได้จากการวัดโดยตรง โดยจะได้จากการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าซึ่งจะแปรผันตรงกับปริมาตรเม็ดเลือดแดงแล้วคำนวณค่าเฉลี่ยโดยตรงทำให้มีความแม่นยำมากกว่าการคำนวณข้างต้น ถ้าค่า *MCV* ต่ำแสดงว่าเม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็ก (Microcyte) แต่ถ้า *MCV* มีค่าสูงกว่าค่าปกติจะช่วยประกอบค่าวินิจฉัยว่าผู้ป่วยเป็นโลหิตจางที่มีเม็ดเลือดแดงขนาดใหญ่ (Macrocytic Anemia) ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง *MCH* คือค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฮีโมโกลบินที่มีอยู่ในเม็ดเลือดแดง มีหน่วยเป็นพิโคกรัม (Picogram) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2.2)

$$MCH = \frac{Hb(g/dl) \times 10}{Rbc(10^{12}/l)} \tag{2.2}$$

โดยที่ *MCH* คือ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฮีโมโกลบินที่มีอยู่ในเม็ดเลือดแดง

Hb คือ ปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด

ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหรือ *MCHC* คือความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงมีหน่วยเป็นกรัมต่อเดซิลิตร (g/dl) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2.3)

$$MCHC = \frac{Hb(g/dl) \times 100}{Hct(\%)} \tag{2.3}$$

โดยที่ *MCHC* คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง

เครื่องอัตโนมัติที่วัดค่า *MCV* โดยตรงและคำนวณค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่า *MCHC* จะคำนวณจากสมการที่ (2.4)

$$MCHC = \frac{Hb(g/dl) \times 100}{MCV(fl) \times Rbc(10^{12}/l)} \tag{2.4}$$

ในภาวะโลหิตจางส่วนใหญ่เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของขนาดเม็ดเลือดแดง ค่า *MCV* มักจะมีความสัมพันธ์กับค่า *MCH* ซึ่งเป็นน้ำหนักของฮีโมโกลบิน ดังนั้นค่า *MCHC* ซึ่งเป็นสัดส่วนของฮีโมโกลบินและปริมาตร เม็ดเลือดแดงอัดแน่นซึ่งมักจะปกติ ยกเว้นภาวะโลหิตจางที่มีค่า *MCH* น้อยลง มากกว่าค่า *MCV* ที่เล็กลงจึงจะทำให้ค่า *MCHC* ต่ำกว่าปกติ ดังนั้นค่า *MCHC* จึงมีประโยชน์มากกว่าค่า *MCH* เพราะค่า *MCH* เพียงแต่บอกให้ทราบถึงปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงที่มากขึ้นหรือน้อยลงกว่าปกติเท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากค่า *MCHC* ที่ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเมื่อเทียบกับขนาดเม็ดเลือดแดง [12]

2.2 เส้นใยแก้วนำแสง

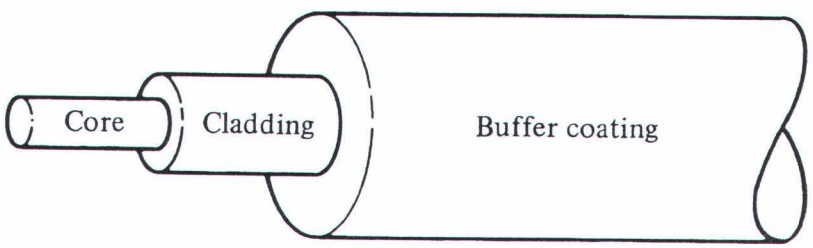
เส้นใยแก้วนำแสง (Fiber Optic) คือเส้นใยขนาดเล็กผลิตจากสารประเภทซิลิกอนออกไซด์ เส้นใยแก้วนำแสงเกิดจากการพัฒนาอุปกรณ์นำแสงและอุปกรณ์รับแสงจากสารกึ่งตัวนำเพื่อใช้ในการสื่อสารระยะไกล เส้นใยแก้วนำแสงจะประกอบด้วยสามส่วนได้แก่ คอร์ (Core), แคลดดิ้ง (Cladding) และโค้ดดิ้ง (Coating)

2.2.1 ส่วนประกอบของเส้นใยแก้วนำแสง

1) แกนกลาง เป็นส่วนที่อยู่ตรงกลางของเส้นใยแก้วนำแสง ส่วนใหญ่ทำจากสารที่เป็นฉนวน เช่น แก้ว โดยค่าดัชนีค่าการหักเหของแสงในนี้ จะต้องมีค่ามากกว่าค่าดัชนีหักเหของแคลดดิ้ง เพื่อให้ลำแสงที่เดินทางผ่านไปในแกนกลางเกิดขบวนการสะท้อนกลับหมดไปมาตามเส้นใยแก้วนำแสง

2) แคลดดิ้ง เป็นชั้นที่ต่อจากแกนกลางและห่อหุ้มแกนกลางไว้ โดยที่ค่าดัชนีการหักเหของแสงของแคลดดิ้งนั้น จะมีน้อยกว่าค่าดัชนีการหักเหของแกนกลาง ดังที่กล่าวมาแล้ว

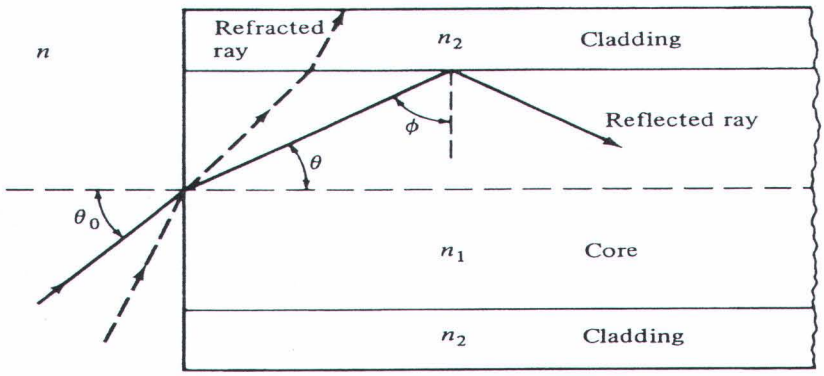
3) โค้ดติ้ง เป็นชั้นเคลือบผิว ส่วนใหญ่ทำจากสารพีวีซี โดยจะเป็นชั้นที่ต่อจากแคลดดิ้งเพื่อใช้ในการป้องกันแสงจากภายนอกหลุดเข้าไปในเส้นใยแก้วนำแสง และยังป้องกันแสงจากภายในเส้นใยแก้วนำแสงออกไปภายนอก โครงสร้างภายในอาจประกอบด้วยชั้นของพลาสติกหลายๆชั้นซึ่งจะช่วยป้องกันเส้นใยแก้วนำแสงไม่ให้เกิดความเสียหายดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเส้นใยแก้วนำแสง [13]

2.2.2 ค่าความสามารถรับแสง

ค่าความสามารถรับแสง (NA, Numerical Aperture) เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้บอกขอบเขตการรับแสงของเส้นใยแก้วนำแสง เพื่อใช้สำหรับรับแสงจากแหล่งกำเนิดเข้าไปในเส้นใยแก้วนำแสง โดยที่ลำแสงที่สามารถเข้าไปในใยแก้วนำแสงจะต้องทำมุมกับปลายเส้นใยแก้วนำแสงไม่มากกว่ามุมวิกฤติ เพื่อให้แสงสามารถเดินทางไปในเส้นใยแก้วนำแสงได้ด้วยมุมที่มากกว่าหรือเท่ากับมุมวิกฤตตลอดเส้นใยแก้วนำแสงได้ แต่เมื่อแสงไปกระทบกับรอยต่อระหว่าง แกนกับแคลดดิ้งไปเรื่อยๆ พลังงานก็จะสูญเสียเพิ่มขึ้น และจะหมดไปในที่สุด ค่าความสามารถรับแสงเป็นค่าแสดงขนาดมุมรับแสงที่ถูกกำหนดโดยผู้ผลิต ดังนั้นการนำเอาสายใยแก้วนำแสงที่มีค่าความสามารถรับแสงน้อยมาคัปปลิงแสงจะส่งผลให้แสงสามารถเล็ดลอดออกไปจากสายใยแก้วนำแสงได้แสดงในรูปที่ 2.2



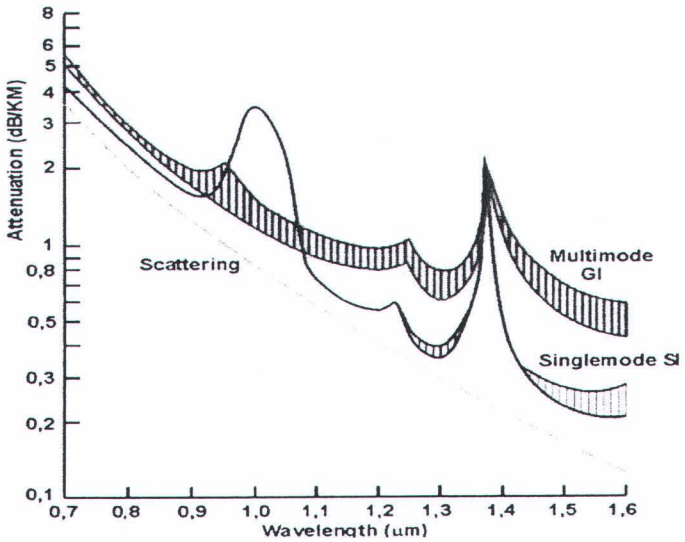
รูปที่ 2.2 ลักษณะมุมรับแสงที่มีค่าความสามารถรับแสงแตกต่างกัน [13]

2.2.3 การสูญเสียของสัญญาณแสงในเส้นใยแก้วนำแสง

การสูญเสียของสัญญาณแสงในเส้นใยแก้วนำแสงเป็นปัจจัยในการบ่งชี้คุณภาพของสัญญาณ โดยการลดทอนของแสงจะมีหน่วยเป็น dB (เดซิเบล) ซึ่งสามารถเกิดจากสาเหตุได้หลายประการดังนี้

1) การสูญเสียเนื่องจากการดูดกลืนจากวัสดุ คือการสูญเสียทางแสงที่เกิดจากการดูดกลืนแสงขององค์ประกอบที่ใช้ในการสร้างเส้นใยแก้วนำแสง โดยการสูญเสียนี้จะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารที่ใช้สร้าง และกระบวนการในการสร้าง (Fabrication Process) ซึ่งการสูญเสียแสงเนื่องจากการดูดกลืนแสงสามารถแบ่งได้เป็น 2 กรณี คือ การสูญเสียที่เกิดจากภายใน (Intrinsic Absorption) และการสูญเสียที่เกิดจากภายนอก (Extrinsic Absorption) การสูญเสียที่เกิดจากภายในของเส้นใยแก้วนำแสงที่ทำมาจากแก้วซิลิก้าบริสุทธิ์ที่ใช้ในการสร้างเส้นใยแก้วนำแสงจะมีการดูดกลืนแสงดังรูปที่ 2.3 โดยจะดูดกลืนแสงอุลตร้าไวโอเลตมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 0.1 ไมโครเมตร และมีการดูดกลืนแสงอินฟาเรดมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 10 ไมโครเมตร และการสูญเสียที่เกิดจากภายนอกคือ การดูดกลืนแสงเนื่องจากสารที่เจือปนอยู่ในเส้นใยแก้วนำแสงเกิดขึ้น เนื่องจากการเจือปนอิออนของธาตุโลหะในเส้นใยแก้วนำแสงที่เกิดขึ้นในขั้นตอนของการหลอมเหลวแก้ว

2) การสูญเสียแสงที่เกิดจากการกระเจิงของแสง (Scattering loss) เมื่อเกิดการกระเจิงของแสงจะทำให้แสงที่เดินทางในเส้นใยแก้วนำแสงเกิดการเปลี่ยนโหมด ซึ่งจะทำให้แสงที่ส่งและเกิดการเปลี่ยนไปสู่โหมดที่สามารถแพร่กระจายออกไปภายนอกเส้นใยแก้วนำแสงได้ไม่สามารถเดินทางไปในแกนได้ แต่จะแพร่กระจายออกไปภายนอก การสูญเสียแสงที่เกิดจากการกระเจิงของแสงสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ การกระเจิงแบบเรย์เลห์ (Rayleigh Scattering) และการกระเจิงแบบมี (Mie Scattering) ซึ่งทั้ง 2 แบบล้วนมีสาเหตุมาจากคุณลักษณะทางกายภาพที่ไม่สมบูรณ์ของเส้นใยแก้วนำแสงที่เกิดจากกระบวนการผลิตซึ่งยากที่จะกำจัดให้หมดไปได้ในปัจจุบัน

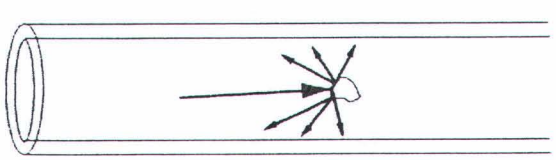


รูปที่2.3 การดูดกลืนแสงเนื่องจากสารที่ใช้ทำเส้นใยแก้วนำแสง [14]

แบบเรย์เลห์เกิดจากการที่แสงเดินทางไปตกกระทบกับวัตถุที่มีขนาดใกล้เคียงกับความยาวคลื่นแสงที่ใช้ในการส่งสัญญาณทำให้แสงแตกกระจายออกไปในทิศทางต่างๆดังรูปที่ 2.4 โดยวัตถุที่เจือปนอยู่นั้นเกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตเส้นใยแก้วนำแสง คือในกระบวนการทำเส้นใยแก้วนำแสงจะต้องให้ความร้อนประมาณ 2,000 องศาเซลเซียส แล้วดึงแท่งแก้วให้เป็นเส้นใยขนาดเล็กและลดอุณหภูมิของเส้นใยแก้วนำแสงเป็น 20 องศาเซลเซียสอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้เกิดความไม่สม่ำเสมอของความหนาแน่นและเกิดเป็นวัตถุขนาดเล็กๆขึ้นในเส้นใยแก้ว โดยค่าการสูญเสียเนื่องจากการกระเจิงแบบเรย์เลห์นี้จะเกิดกับแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและอินฟาเรดโดยจะแปรผกผันกับความยาวคลื่นแสงตามสมการ (2.5)

$$Rayleigh\ scattering\ loss = 1/\lambda^4 \tag{2.5}$$

โดยที่ λ คือ ความยาวคลื่นแสง

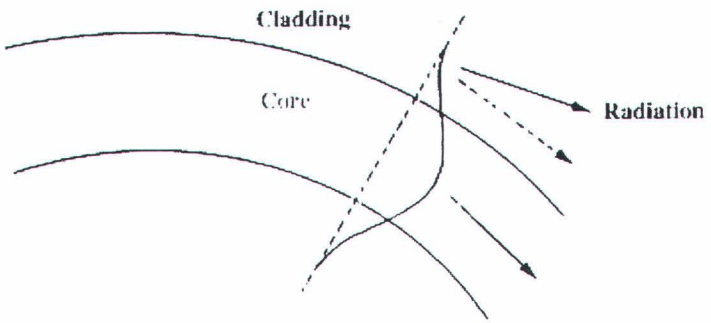


รูปที่ 2.4 การกระจัดกระจายแสงแบบเรย์เลห์ [15]

3) การสูญเสียแบบไม่มีรูปแบบ (Ununiformity Loss) เกิดขึ้นเนื่องจากความไม่สมบูรณ์ทางโครงสร้างรูปทรงกระบอกของเส้นใยแก้วนำแสง ซึ่งมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของรอยต่อระหว่างแกนกับแคลดดิ้ง ค่าดัชนีการหักเหของแกนและแคลดดิ้งที่ต่างกันในแต่ละช่วงความยาวของเส้นใยแก้วนำแสงและความผันแปรของเส้นผ่านศูนย์กลางส่งผลให้แสงที่ตกกระทบเกิดการกระจายออก ค่าการสูญเสียทางแสงเนื่องจากการกระเจิงแบบมีนี้จะแปรผันโดยตรงกับความยาวคลื่นดังสมการ (2.6)

$$Mie\ scattering\ loss = \lambda / 10 \tag{2.6}$$

4) การสูญเสียแสงเนื่องจากการโค้งงอ (Bending Loss) ของเส้นใยแก้วนำแสงจะเกิดขึ้นเมื่อมีการโค้งงอเส้นใยแก้วนำแสง โดยมีมุมที่โค้งงอมากกว่ามุมวิกฤตซึ่งจะทำให้แสงที่เดินทางไปเกิดการกระจายออกไปนอกแกนได้



รูปที่ 2.5 การสูญเสียแสงที่เกิดจากการโค้งงอเส้นใยแก้วนำแสง [16]

5) การสูญเสียที่เกิดจากการโค้งงอเส้นใยแก้วนำแสงแบบไมโครเบนดิ้ง (Micro Bending) เป็นการสูญเสียสัญญาณแสงที่เกิดจากการมีแรงกดที่ไม่สม่ำเสมอ มากระทำต่อด้านข้างของเส้นใยแก้วนำแสงส่งผลให้แกนของเส้นใยแก้วนำแสงเกิดการบิดงอ ทำให้แสงที่ตกกระทบบริเวณแกนกับแคลดดิ้งมีค่าน้อยกว่ามุมวิกฤต จึงเกิดการกระจายออกไปภายนอกเส้นใยแก้วนำแสงได้

6) การสูญเสียแสงที่เกิดจากการต่อเส้นใยแก้วนำแสง (Connection Loss) จะเกิดขึ้นเนื่องจากการเชื่อมต่อที่ไม่สมบูรณ์ ดังรูปที่ 2.6 นอกจากนี้บริเวณรอยต่ออาจเกิดช่องว่างขนาดเล็กซึ่งจะส่งผลให้เกิดการสูญเสียแสงจากการสะท้อนกลับ (Fresnel Reflection) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ (2.7)

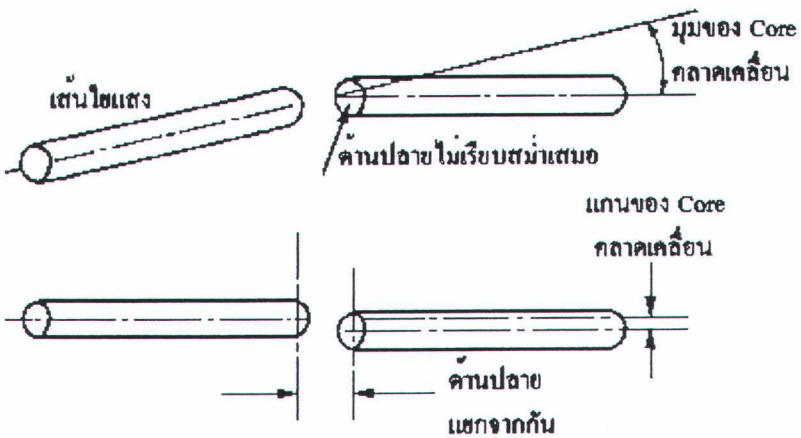
$$Fresnel\ Loss = -10log(1-R) \tag{2.7}$$

$$R=\left[\frac{n_1-n}{n_1+n}\right]^2 \tag{2.8}$$

โดยที่ R คือ ค่าการสะท้อนของแสง (Reflectance)

n_1 คือ ดัชนีการหักเหของแกนเส้นใยแก้ว

n คือ ดัชนีการหักเหของตัวกลางที่อยู่ระหว่างเส้นใยแก้วนำแสง



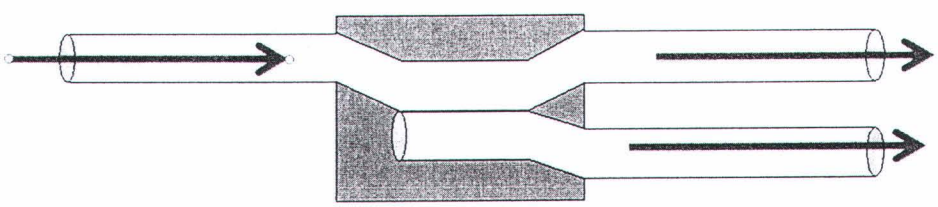
รูปที่ 2.6 การสูญเสียแสงที่เกิดจากการต่อเส้นใยแก้วนำแสง [17]

7) การสูญเสียจากการคัปปลิง (Coupling Loss) เป็นการสูญเสียที่เกิดขึ้นจากการคัปปลิงระหว่างเส้นใยแก้วนำแสงกับแหล่งกำเนิดแสง แสงที่ออกจากแหล่งกำเนิดแสงจะมีความกว้างของลำแสงมากกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยแก้ว แสงจากเลเซอร์ไดโอดจะมีลำแสงแคบกว่าแสงที่ออกจากแอลอีดี (Light Emitting Diode)ซึ่งจะทำให้การสูญเสียแสงจากการคัปปลิงสัญญาณของเลเซอร์มีค่าน้อยกว่าแอลอีดี นอกจากนี้ค่า ความสามารถในการรับแสงของเส้นใยแก้วนำแสงถ้ามีค่าที่มาก ก็จะเกิดการสูญเสียจากการคัปปลิงน้อยกว่าเส้นใยแก้วนำแสงที่มีค่าความสามารถในการรับแสงน้อย

8) การสูญเสียที่เกิดจากการแตกหักของพื้นผิว เนื่องจากว่าเส้นใยแก้วนำแสงมีส่วนที่ทำมาจากซิลิก้า ดังนั้นการโค้งงอสายมากเกินไป รวมทั้งการติดตั้งที่ขาดระมัดระวังมีส่วนทำให้เกิดการแตกหักของเส้นใยแก้วได้

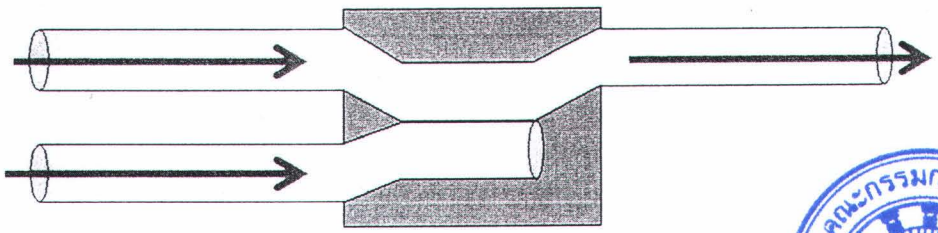
2.3 คอปเปลอร์

คอปเปลอร์ คืออุปกรณ์ที่สามารถรวมหรือแยกสัญญาณทางแสง โดยส่วนใหญ่แล้วจะใช้ในระบบเครือข่ายสัญญาณด้านการสื่อสาร คอปเปลอร์จะมีหลายชนิดซึ่งสามารถแบ่งตามลักษณะการใช้งาน เช่นแบบ 1x2 1x4 1x8 1x16 1x32 1x64 และแบบอื่นๆ การแยกสัญญาณทางแสงของคอปเปลอร์แสดงในรูปที่ 2.7 ซึ่งที่แสดงจะเป็น คอปเปลอร์แบบ 1x2 ในส่วนอินพุตทางด้านขาเข้านั้นมีสัญญาณทางแสง 1 อินพุต เมื่อผ่านตัวแยกสัญญาณแสงจะถูกแยกออกเป็น 2 เอาต์พุตโดยที่ทั้งสองสัญญาณนั้นจะมีความยาวคลื่นเท่ากับสัญญาณทางแสงในฝั่งขาเข้า คอปเปลอร์ยังสามารถถูกแบ่งตามขนาดของแกนกลางเส้นใยแก้วนำแสงเป็นสองชนิดคือแบบ โหมดเดี่ยว (Single Mode) และแบบหลายโหมด (Multi Mode) โดยแบบโหมดเดียวนี้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแกนกลางประมาณ 5-10 ไมครอน และขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลดดิ้งประมาณ 125 ไมครอน ส่วนของแกนกลางจะมีผลทำให้แสงเดินทางออกมาเพียงโหมดเดียวเพราะมีขนาดเล็ก การแตกกระจายของสัญญาณเกิดขึ้นได้ยาก แบบหลายโหมดจะมีขนาดของแกนกลางประมาณ 50 ไมครอน และมีขนาดของแคลดดิ้งประมาณ 125 ไมครอน ส่งผลให้แสงอินพุตของเส้นใยแก้วนำแสงมีมุมตกกระทบที่แตกต่างกันหลายค่า ทำให้มีแนวลำแสงเกิดขึ้นหลายโหมด



รูปที่ 2.7 การแยกสัญญาณทางแสงของคอปเปลอร์แบบ 1x2

การรวมสัญญาณทางแสงของคอปเปลอร์หรือ ออปติคอลคอมไบเนอร์ (Optical Combiner) ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นคอปเปลอร์แบบ 2x1 ทางด้านขาเข้านั้นมีสัญญาณทางแสง 2 อินพุต เมื่อผ่านออปติคอลคอมไบเนอร์สัญญาณทางแสงจะถูกรวมให้เป็น 1 เอาต์พุต โดยที่ทั้งสองสัญญาณที่จะนำมารวมกันจะต้องมีความยาวคลื่นเท่ากันและผลลัพธ์ที่ได้จากการรวมสัญญาณทางแสงเข้าด้วยกันนั้นก็จะมีความยาวคลื่นเท่าเดิม

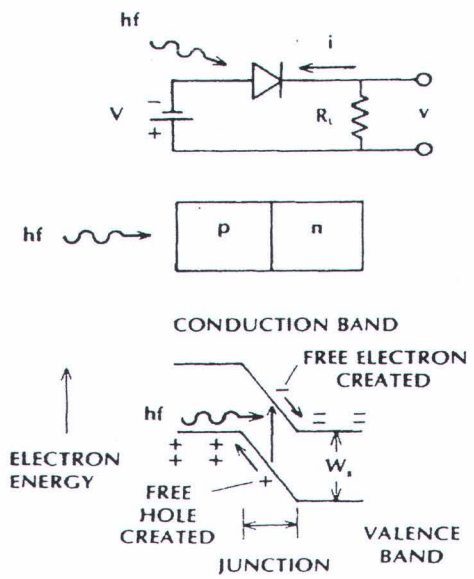


สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

รูปที่ 2.8 การรวมสัญญาณทางแสงของคอปเปลอร์แบบ2x1

2.4 โฟโตไดโอด

โฟโตไดโอด (Photo Diode) เป็นอุปกรณ์เชิงแสงทำจากสารกึ่งตัวนำชนิดพี (P) และชนิดเอ็น (N) มาประกบกันแสดงตามรูปที่ 2.10 โต้ไดโอดจะทำงานเมื่อมีความยาวคลื่นที่เหมาะสม ซึ่งเมื่อมีแสงมาตกระทบที่รอยต่อพีเอ็นปริมาณของกระแสไหลผ่านจะจะเปลี่ยนแปลงตามความเข้มของแสง

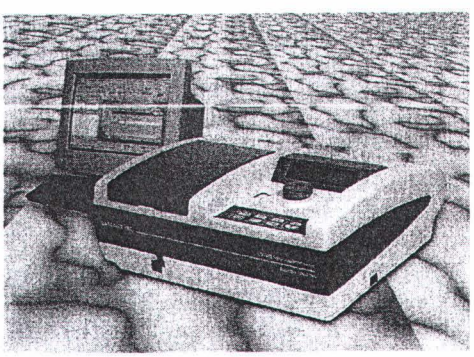


รูปที่ 2.9 หลักการทำงานโฟโตไดโอดและแถบชั้นพลังงานของรอยต่อชนิดพีและชนิดเอ็น [18]

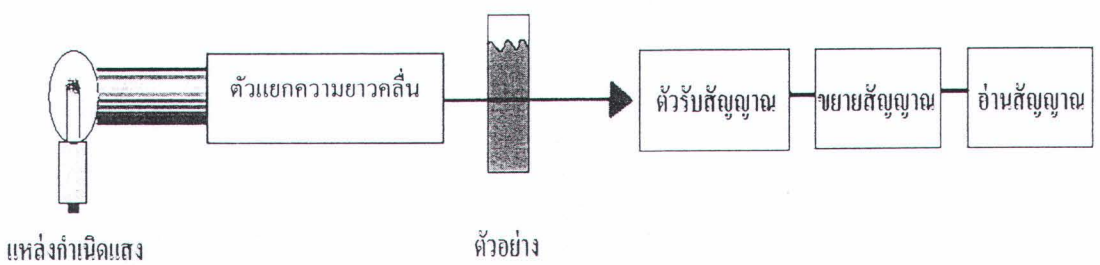
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 1 ก.ย. 2555
เลขทะเบียน 248071
เลขเรียกหนังสือ

2.5 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนของแสงในสารเคมีแสดงในรูปที่ 2.11 ซึ่งจะมีช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ คลื่นอัลตราไวโอเลตแสงขาว และแสงอินฟราเรดเพื่อใช้วัดค่าการดูดกลืน การวัดการดูดกลืนแสงของสารนั้นสามารถใช้ในการระบุชนิดและปริมาณของสารได้ โดยจะใช้ปริมาณสารที่ต้องการทราบค่าอย่างน้อยประมาณ 1 มิลลิลิตรในการตรวจวัดในแต่ละครั้ง [19] ตัวเครื่องประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง เลนส์(Lens) หรือกระจกรับแสง (Mirror) ตัวแยกความยาวคลื่น (Monochromator) และตัวตรวจจับสัญญาณดังแสดงในรูปที่ 2.12 ซึ่งในปัจจุบันแหล่งกำเนิดแสงที่นิยมนำมาใช้มีหลากหลายชนิดยกตัวอย่างเช่น ดิวเทอเรียม (190-420นาโนเมตร), ทังสเตน (350-2500นาโนเมตร)และหลอดซีนอน (190-800นาโนเมตร) โดยจะต้องมีตัวตรวจจับสัญญาณ โดยจะใช้เป็นหลอดพีเอ็มที (Photomultiplier Tube) ไดโอดอาร์เรย์ (Diode Arrays) และ อุปกรณ์ถ่ายเทประจุซีดีซี (Charge Coupled Devices) เครื่องจะทำการบันทึกค่าแต่ละความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืนของแสง



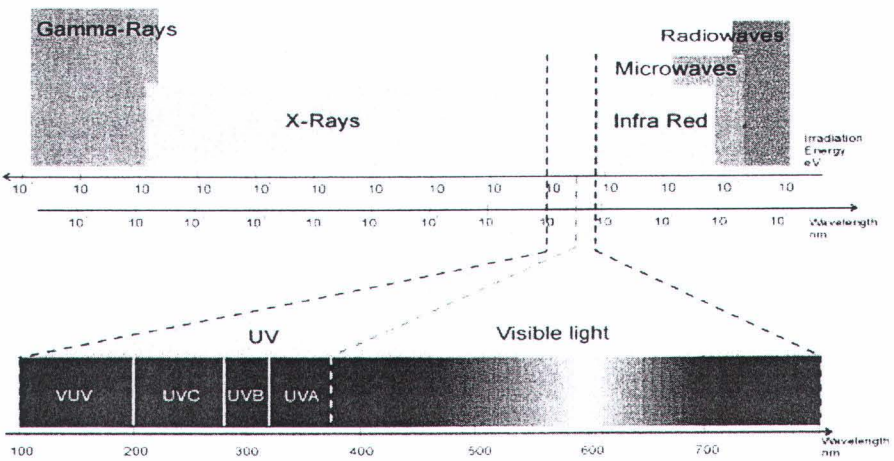
รูปที่ 2.10 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [19]



รูปที่ 2.11 หลักการทำงานของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.6 สเปคตรัมการดูดกลืนของแสง

สารแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นแตกต่างกัน สารไม่มีสีส่วนใหญ่จะดูดกลืนช่วงอัลตราไวโอเลต ซึ่งมีความยาวคลื่น 200-300 นาโนเมตร และช่วงความยาวคลื่นสูงกว่า 780-1000 นาโนเมตร ส่วนสารที่มีสีจะดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นสูงกว่า 380-780 นาโนเมตรแสดงในรูปที่ 2.13 ซึ่งเป็นช่วงคลื่นแสงขาวที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จากสมบัติของสารดังกล่าวจึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์สารชนิดต่างๆได้



รูปที่ 2.12 ค่าความยาวคลื่นของแสงในช่วงต่างๆ [20]

2.7 กฎการดูดกลืนแสง

กฎของเบียร์ (Beer's Law) กล่าวว่าเมื่อมีแสงที่มีลำแสงขนาน (Parallel Beam) และมีความยาวคลื่นเดี่ยว (Monochromatic Light) ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ที่มีระยะทางที่แสงส่องผ่านตัวอย่าง (Path Length) เท่ากัน สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนไว้จากตัวกลาง จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณความเข้มข้นของตัวกลางที่ดูดกลืนแสง [21] ดังสมการที่ (2.9)

$$A \alpha c \tag{2.9}$$

โดยที่ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

c คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ($g.L^{-1}$)กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's Law)

กล่าวว่าเมื่อมีแสงที่มีลำแสงขนาน (Parallel Beam) และมีความยาวคลื่นเดี่ยว (Monochromatic Light) ผ่านตัวกลางเนื้อเดียวที่มีความเข้มข้นเท่ากัน โดยที่มีสัดส่วนของความเข้มของแสงที่จ่ายไปนั้นเท่ากัน และความเข้มของแสงที่ถูกตัวดูดกลืนไว้จากตัวกลางในสัดส่วนที่เท่ากัน ค่าของการดูดกลืนจะแปรผันโดยตรงกับระยะทางที่แสงส่องผ่านสารตัวกลาง [21] ดังสมการที่ (2.10)

$$A \alpha l \tag{2.10}$$

โดยที่ l คือ ความหนา ความกว้าง หรือระยะทางที่แสงส่องผ่านสารตัวอย่าง (cm)

เมื่อนำกฎการดูดกลืนแสงของเบียร์และแลมเบิร์ทรวมเข้าด้วยกันก็จะได้กฎการดูดกลืนแสงของเบียร์และแลมเบิร์ท คือเมื่อรังสีที่เป็นรังสีชนิดลำแสงขนาน (Parallel Beam) และความยาวคลื่นเดียว (Monochromatic Light) ส่องผ่านสารตัวอย่างที่เป็นสารละลายเนื้อเดียว (Homogeneous Solution) ค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (Concentration) และระยะทางที่แสงส่องผ่านสารตัวอย่าง [21] ดังสมการที่ (2.11)

$$A \alpha cl \tag{2.11}$$

จากสมการที่ (2.11) ก็จะได้

$$A = \varepsilon lc \tag{2.12}$$

โดยที่ ε คือ ค่าคงที่การดูดกลืนแสงสารละลายเข้มข้น ($mol.L^{-1}$)

จากสมการ (2.12) ค่าการดูดกลืนแสงของสารนั้นแปรผันกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างและระยะทางที่แสงเดินทางผ่านแสงตัวอย่าง แต่เมื่อพิจารณาความความเข้มแสงของแสงก่อนที่จะผ่านสารตัวอย่างกับแสงที่ผ่านออกมาจากสารตัวอย่าง พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารแปรผันตามอัตราส่วนของแสงทั้งสองดังสมการ (2.13)

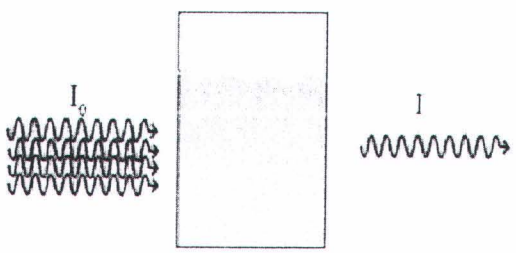
$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I} \tag{2.13}$$

โดยที่ T คือ การส่งผ่านของแสง (Transmittance)

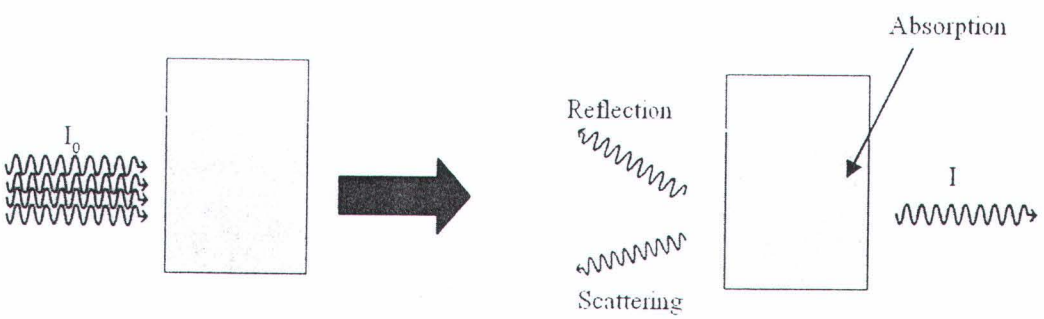
I คือ ความเข้มของแสงที่ผ่านออกมา

I_0 คือ ความเข้มของแสงที่ผ่านเข้าไป

กฎการดูดกลืนแสงของเบียร์และแลมเบิร์ท เมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่างจะพิจารณาค่าการดูดกลืนเพียงอย่างเดียว จะไม่นำแสงสะท้อนเข้ามาพิจารณาด้วยทำให้ค่าที่ได้นั้นไม่ใช่ค่าการดูดกลืนที่แท้จริง แสดงในรูปที่ 2.14 เพราะอนุมานว่าแสงนั้นเป็นพลังงานชนิดหนึ่ง เมื่อฉายแสงที่ขนานกับสารตัวอย่าง พลังงานของแสงจะถูกดูดกลืน และส่งผ่านทั้งหมด ซึ่งมาจากพื้นฐานของการมองเห็นสีต่างๆ คือเมื่อแสงสีขาวตกกระทบวัตถุแล้วทำให้มองเห็นว่าวัตถุเป็นสีใดๆนั้น แสดงว่าวัตถุได้ดูดกลืนแสงสีอื่นทั้งหมดแต่สะท้อนแสงสีที่ตามองเห็นออกมา แต่ถ้าวัตถุนั้น ดูดกลืนแสงทุกสีไว้ได้หมดจะมองเห็นวัตถุเป็นสีดำ แต่ในทางปฏิบัตินั้นจะเกิดการคายพลังงานของแสงด้วย ทำให้เกิดการสะท้อนกลับด้วย แสดงในรูปที่ 2.15



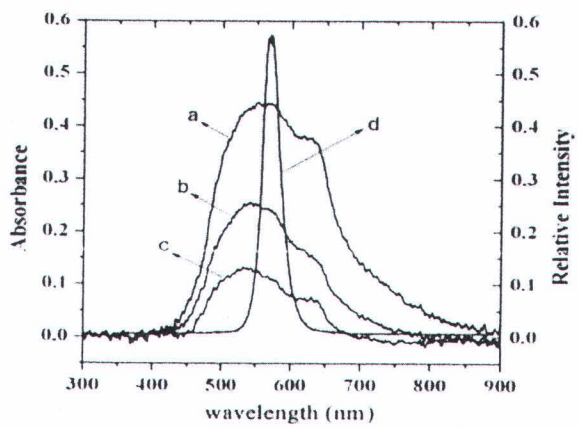
รูปที่ 2.13 การตกกระทบของแสงตามกฎการดูดกลืนแสงของเบียร์และแลมเบิร์ท



รูปที่ 2.14 การตกกระทบของแสงในทางปฏิบัติที่พิจารณาการสะท้อนและการกระเจิงของแสง

2.8 ค่าความยาวคลื่นแสงที่มีผลตอบสนองต่อการดูดกลืนของฮีโมโกลบิน

เม็ดเลือดแดงมีรงค์วัตถุสีแดงที่เรียกว่า ฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ จากทฤษฎีที่กล่าวมาในข้างต้นสามารถหาปริมาณของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดได้ด้วยการวิเคราะห์ค่าการสะท้อนและค่าการดูดกลืนของแสงในเลือดซึ่งปริมาณความเข้มข้นของแสงที่ผ่านออกมาและแสงที่สะท้อนของเลือดนั้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณฮีโมโกลบินโดยผลจากงานวิจัยก่อนหน้าวิเคราะห์ปริมาณฮีโมโกลบินด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [6,7] โดยทำการทดลองด้วยค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณฮีโมโกลบินที่มีความเข้มข้นต่างกันนั้น จะตอบสนองความยาวของคลื่นแสงสูงสุดในช่วงที่ใกล้เคียงกันประมาณ 510 นาโนเมตรถึง 580 นาโนเมตรดังแสดงในรูปที่ 2.16

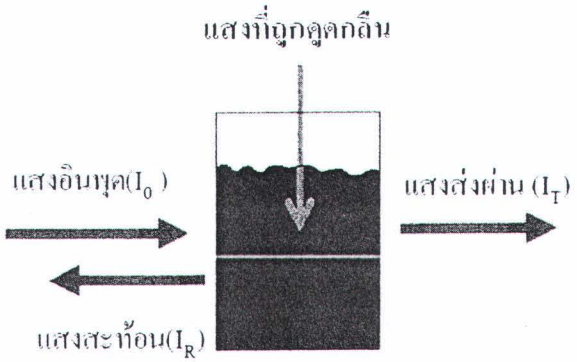


รูปที่2.15 ค่าการดูดกลืนแสงของฮีโมโกลบินที่ความยาวคลื่นต่างๆต่อเลือดที่มีความเข้มข้นของปริมาณฮีโมโกลบินต่างๆ [6]

การหาปริมาณของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงสามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ค่าการสะท้อนและค่าการดูดกลืนของแสงในเลือด ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของแสงที่ผ่านออกมาและแสงที่เกิดการสะท้อนกลับของเลือดนั้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณฮีโมโกลบิน สารแต่ละชนิดสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นแตกต่างกัน ฮีโมโกลบินนั้นคือรงค์วัตถุสีแดงในเม็ดเลือดของมนุษย์ค่าการดูดกลืนของแสงในฮีโมโกลบินนั้นจะเป็นฟังก์ชันของความยาวคลื่นแสง ฮีโมโกลบินจะตอบสนองต่อความยาวคลื่นประมาณ 450 นาโนเมตรถึง 650 นาโนเมตรเหมือนกันทุกความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน โดยมีค่าการดูดกลืนสูงมากในช่วง 510 นาโนเมตรถึง 580 นาโนเมตร

2.9 ทฤษฎีการสะท้อนและการส่งผ่านของแสง

การออกแบบเครื่องตรวจวัดความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่นำเสนอในงานวิจัยนี้อยู่บนพื้นฐานทฤษฎีการดูดกลืนแสงของเบียร์และแลมเบิร์ท [21] ซึ่งจะวัดค่าความเข้มของแสงส่งผ่านมาเทียบกับความเข้มของแสงอินพุตดังสมการที่ (2.9) จะเห็นว่าการหาค่าการดูดกลืนของแสงดังกล่าวจะพิจารณาค่าความเข้มของแสงส่งผ่านเพื่อใช้ในการคำนวณเพียงอย่างเดียว โดยไม่ได้นำแสงที่สะท้อนจากการเปลี่ยนตัวกลางของแสงมาพิจารณาด้วย เมื่อแสงตกกระทบกับตัวอย่างเลือดนั้นจะเกิดทั้งการสะท้อนและการส่งผ่านรวมถึงการดูดกลืนของแสงดังรูปที่ 2.16 โดยงานวิจัยชิ้นนี้จะทำการพิจารณาค่าความเข้มของแสงอินพุตที่เข้ามา ความเข้มของแสงสะท้อนและความเข้มของแสงส่งผ่าน เพื่อนำมาหาค่าการดูดกลืนของแสงที่แท้จริงซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2.14)



รูปที่ 2.16 การสะท้อน การดูดกลืน และการส่งผ่านของแสงหลังจากแสงอินพุตมาตกกระทบ

$$A = 1 - R - T \tag{2.14}$$

$$R = \frac{I_R}{I_0} \tag{2.15}$$

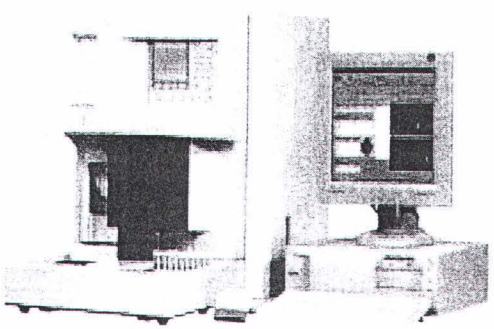
$$T = \frac{I_T}{I_0} \tag{2.16}$$

โดยที่ I_T คือ ค่าความเข้มของแสงส่งผ่าน

I_R คือ ค่าความเข้มของแสงสะท้อน

2.10 เครื่องมือที่ใช้ในการสอบเทียบ

ในอดีตการแพทย์มักใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในการตรวจปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด แต่ในปัจจุบันนี้เครื่องมือทางการแพทย์ที่นิยมใช้ในการตรวจปริมาณฮีโมโกลบินในเลือดคือ Sysmex Xe-2100 เพราะเป็นเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติที่มีความแม่นยำสูงและมีความรวดเร็วในการตรวจสอบ แสดงในรูปที่ 2.8 สามารถตรวจวิเคราะห์การตรวจนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ (Complete Blood Count) ซึ่งเป็นการตรวจคัดกรองพื้นฐาน เพื่อตรวจดูสภาวะสุขภาพ และเพื่อตรวจสอบความผิดปกติหลายสภาวะ เช่น โลหิตจาง การติดเชื้อและโรคอื่นอีกหลายโรค เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติจะทำการทดสอบเพื่อตรวจดูส่วน ประกอบของเลือด เช่นการทดสอบเกี่ยวกับเม็ดเลือดขาว สามารถหาค่าจำนวนของเม็ดเลือดขาว ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดขาว การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวเป็นเปอร์เซนต์ เป็นต้น โดยใช้หลักการทางแสงควบคู่กับการย้อมเม็ดเลือดขาวด้วยสีของแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ในการแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว และใช้หลักการหาค่าความต้านทานของเม็ดเลือดร่วมด้วยเพื่อนำมาวิเคราห์ผล ทำให้สามารถนับจำนวนและแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวได้ และในการทดสอบเกี่ยวกับเม็ดเลือดแดงสามารถหาค่า จำนวนเม็ดเลือดแดง เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเป็นต้น ในการหาปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง จะทำการใช้สารเคมีเพื่อใช้ในการละลายเม็ดเลือดขาวให้สลาย ทำให้เหลือแต่เม็ดเลือดแดงซึ่งมีฮีโมโกลบิน จากนั้นจะถูกวัดโดยหลักการทางแสง และจะวิเคราะห์ด้วยการอ่านภาพเพื่อหาความสมบูรณ์และปริมาณที่แน่นอนของเม็ดเลือดแดง ซึ่งมีประโยชน์ต่อแพทย์ในการวินิจฉัยโรคของผู้ป่วย



รูปที่ 2.17 เครื่อง Sysmex Xe-2100 [22]