บทที่ 3 การทดลองและผลการทดลอง

ในส่วนนี้นำเสนอการตรวจหาค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในโลหิตมนุษย์รูปแบบใหม่ โดยอาศัยหลักการทางแสงร่วมกับการใช้เส้นใยแก้วนำแสง ค่าความเข้มของแสงอินพุต ค่าความเข้มแสงที่สะท้อน และค่าความเข้มแสงส่งผ่านถูกวัด และนำมาคำนวณเพื่อหาค่าการดูดกลืนแสงในเลือด คอปเปลอร์สองตัวถูกใช้ในแบ่งและรับแสง โดยคอปเปลอร์ตัวที่หนึ่งใช้ในการตรวจจับความเข้มของแสงอินพุตเพื่อใช้เป็นค่าอ้างอิง และคอปเปลอร์อีกตัวหนึ่งใช้ในการวัดค่าความเข้มของแสงสะท้อนและแสงส่งผ่านโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ ส่วนแรกคือการออกแบบการทดลอง ซึ่งจะกล่าวถึงค่าที่มีผลตอบสนองต่อการดูดกลืนของฮีโมโกลบินการออกแบบอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองและวิธีการทดลอง ในส่วนที่สองจะกล่าวถึงผลการทดลอง

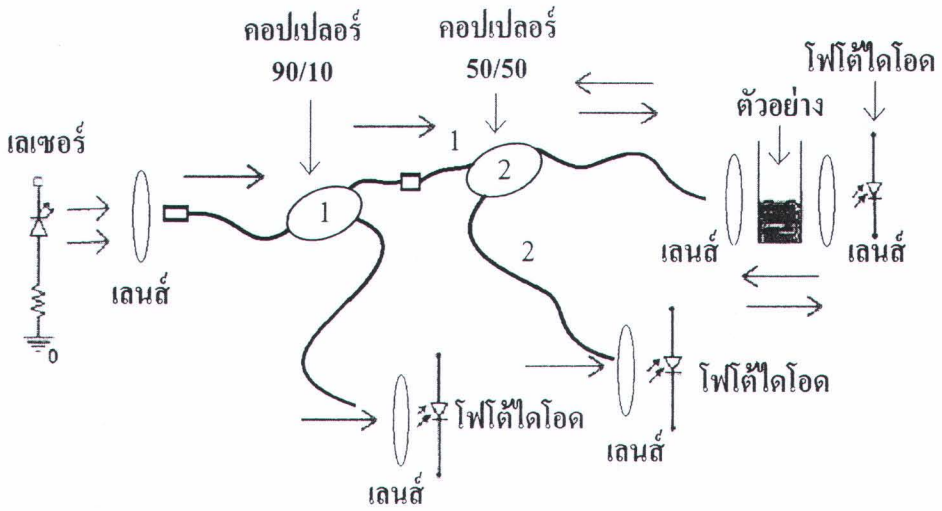
3.1 การออกแบบการทดลอง

การหาปริมาณของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงสามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ค่าการสะท้อน และค่าการดูดกลืนของแสงในเลือด ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของแสงที่ผ่านออกมาและความเข้มแสงแสงที่เกิดการสะท้อนกลับของเลือดนั้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณฮีโมโกลบิน สมการ $A = 1 - R - T$ จะถูกใช้เพื่อคำนวณค่าของการดูดกลืนที่แท้จริง

3.1.1 การออกแบบอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

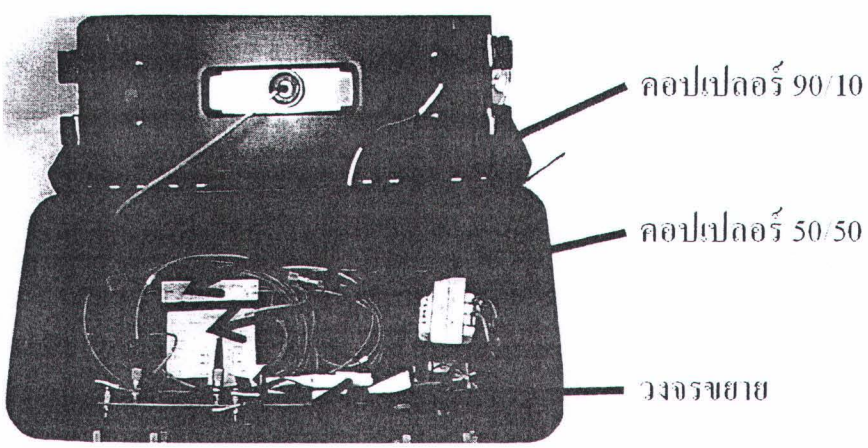
การออกแบบการทดลองเพื่อตรวจวัดค่าฮีโมโกลบินโดยใช้เส้นใยแก้วนำแสงได้แสดงในรูปที่ 3.1 โดยจะใช้เลเซอร์ยี่ห้อ Leading-Tech รุ่น ADR 1805 ที่มีความความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร เป็นแหล่งกำเนิดแสงเพราะค่าความยาวคลื่นยังอยู่ในช่วงการดูดกลืนแสงในเลือดที่มีค่าสูงดังกล่าวแล้ว เลเซอร์ที่ความยาวคลื่นนี้ยังมีราคาถูกกว่าเลเซอร์ที่มีความยาวคลื่นในช่วง 550 ถึง 580 นาโนเมตรซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่นิยมใช้ในทางการแพทย์อยู่พอสมควรอีกด้วย คอปเปลอร์หลายโหมดจะถูกนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ เพราะนอกจากมีราคาที่ถูกกว่าแบบโหมดเดียวและยังมีขนาดของแกนที่ใหญ่กว่าแบบโหมดเดียว ทำให้สามารถทำการคัปปลิงแสงได้ง่ายกว่า คอปเปลอร์หลายโหมดแบบ1x2 อัตราส่วนการแยกแสง (Splitting Ratio) 90/10 และแบบ 1x2 อัตราส่วนการแยกแสง 50/50 ถูกใช้ในการแยกแสงให้เป็นไปตามทฤษฎีที่กล่าวถึงในบทที่ 2 แสงจะถูกคัปปลิงเข้าไปในคอปเปลอร์ตัวที่หนึ่งชนิด 1x2 ซึ่งมีค่าอัตราส่วนการแยกแสงเท่ากับ 9:1 (90/10) โดยที่ปลายสายเอาต์พุตข้างที่เป็นร้อยละ 10 ถูกนำไปต่อกับโฟโตไดโอดเพื่อใช้วัดความเข้มของแสงอินพุตที่อาจเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิหรือแหล่งจ่ายไฟฟ้า ความเข้มแสงส่วนนี้จะถูกใช้เป็นความเข้มแสงอ้างอิงในการคำนวณต่อไป ส่วน

เอาต์พุตของคอปเปลอร์ตัวที่หนึ่งที่เหลืออยู่ จะถูกนำไปต่อกับคอปเปลอร์ตัวที่สองซึ่งมีค่าอัตราส่วนการแยกแสงเท่ากับ 1:1 (50/50) โดยมีเลนส์และโฟโตไดโอดอีกสองชุดถูกติดตั้งเพื่อใช้ทำการตรวจวัดค่าความเข้มแสงสะท้อน และแสงส่งผ่านดังแสดงในรูปที่ 3.1



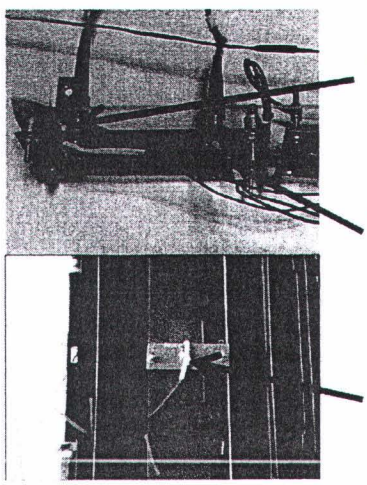
รูปที่ 3.1 รูปแบบการติดตั้งอุปกรณ์ภายในเครื่องต้นแบบ

เครื่องมือต้นแบบที่ออกแบบมาเพื่อวัดหาค่าฮีโมโกลบินโดยใช้เส้นใยแก้วนำแสงตามการออกแบบที่ได้กล่าวมาแล้ว ถูกสร้างขึ้นจริงดังแสดงในรูปที่ 3.2 โดยคำนึงถึงความสะดวกในการพกพาเพื่อไปใช้งานนอกสถานที่



รูปที่ 3.2 ภาพถ่ายจริงของเครื่องต้นแบบ

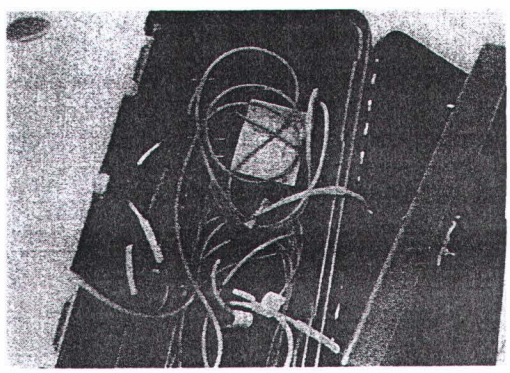
โฟโตไดโอดยี่ห้อ Centronic รุ่น BPW21 แบบซิลิกอนเป็นอุปกรณ์ที่ได้รับความนิยมใช้ในงานวิจัย เพราะมีความเสถียร โดยจะมีการตอบสนองต่อความยาวคลื่นที่ 320-850 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นแสงที่สามารถมองเห็นได้ แต่โฟโตไดโอดเป็นอุปกรณ์ที่มีความไวต่อแสงมาก แสงไฟหรือแสงแดดเพียงเล็กน้อยนั้นมีผลต่อการทำงานของโฟโตไดโอด แสงไฟและแสงแดดเป็นแสงขาวซึ่งมีหลายความยาวคลื่น ดังนั้นจึงต้องออกแบบให้การทดลองลักษณะเป็นแบบปิด เพื่อไม่ให้ได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมจากภายนอกโดยเฉพาะอย่างยิ่งแสงที่จะเข้ามารบกวนการทำงานของโฟโตไดโอด ตำแหน่งที่ติดตั้งโฟโตไดโอดแสดงในรูปที่ 3.3



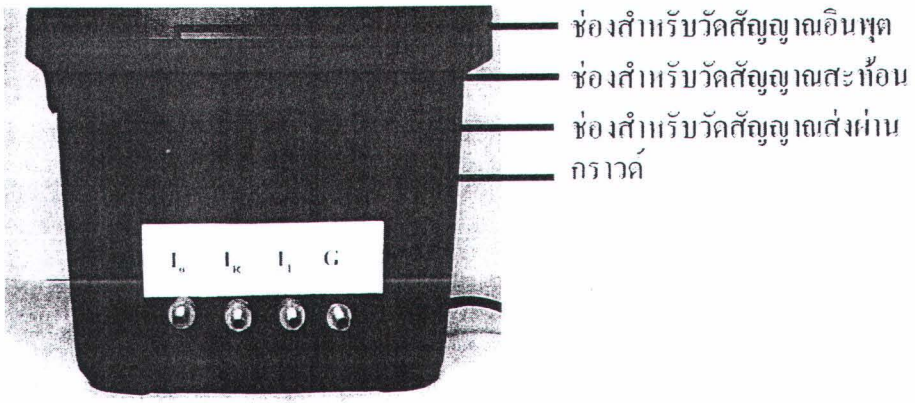
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

รูปที่ 3.3 ตำแหน่งที่ติดตั้งโฟโตไดโอดเพื่อใช้รับแสงอินพุต แสงสะท้อน และแสงส่งผ่าน

กล่องที่ทำการออกแบบนั้นจะสามารถเปิดและปิดได้เพื่อใช้ในการเปลี่ยนตัวอย่างของเลือด โดยกล่องที่ออกแบบนั้นได้รวมเอาสายคอปเปลอร์ วงจรวัดสัญญาณ และวงจรสำหรับใช้ในการขยายสัญญาณเข้าไว้ด้วยกันดังแสดงในรูปที่ 3.4 โดยมีช่องวัดสัญญาณติดตั้งอยู่ภายนอกดังแสดงในรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.4 กล่องที่ได้ทำการติดตั้งอุปกรณ์ไว้ภายใน



รูปที่ 3.5 ช่องสำหรับวัดสัญญาณต่างๆ

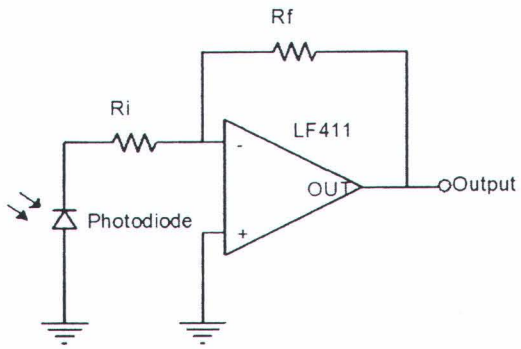
วงจรรับแสงของโฟโตไดโอดนั้นได้ทำการต่อวงจรเป็นแบบแปลงกระแสให้เป็นความต่างศักย์ (Current to Voltage Converter) ซึ่งเป็นวงจรที่มีความไว (Sensitivity) ในการตอบสนองต่อแสงได้ดี และไม่มีปัญหาในเรื่องความไม่เป็นเชิงเส้น (Non-linearity) ดังแสดงในรูปที่ 3.6 โดยใช้ความต้านทานต่อแบบอนุกรมกับโฟโตไดโอด เพื่อไม่ให้โฟโตไดโอดได้รับกระแสโดยตรงจากแหล่งจ่ายมากเกินไป ออปแอมป์เบอร์ LF 411 ถูกใช้ในการขยายสัญญาณที่ได้จากโฟโตไดโอดดังกล่าว เนื่องจากค่ากระแสที่ได้จากโฟโตไดโอดโดยตรงนั้นจะมีค่าที่น้อยมากจึงไม่สามารถนำมาใช้โดยตรงได้ เพราะจะทำให้ผลที่ได้มานั้นจะเกิดความคลาดเคลื่อนได้ง่าย วงจรของออปแอมป์นั้นจะสามารถกำหนดอัตราขยายได้ โดยใช้สมการที่ (3.1) เพื่อคำนวณอัตราขยายของวงจร

$$A_v = \frac{R_f}{R_i} \tag{3.1}$$

โดยที่ A_v คือ อัตราขยายของวงจร

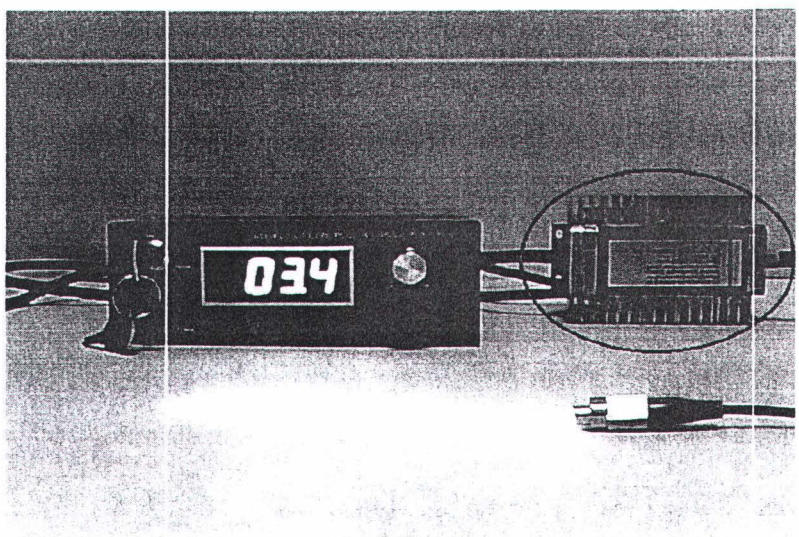
R_f คือ ความต้านทานป้อนกลับ

R_i คือ ความต้านทานอินพุต



รูปที่ 3.6 วงจรภาครับสัญญาณแสง

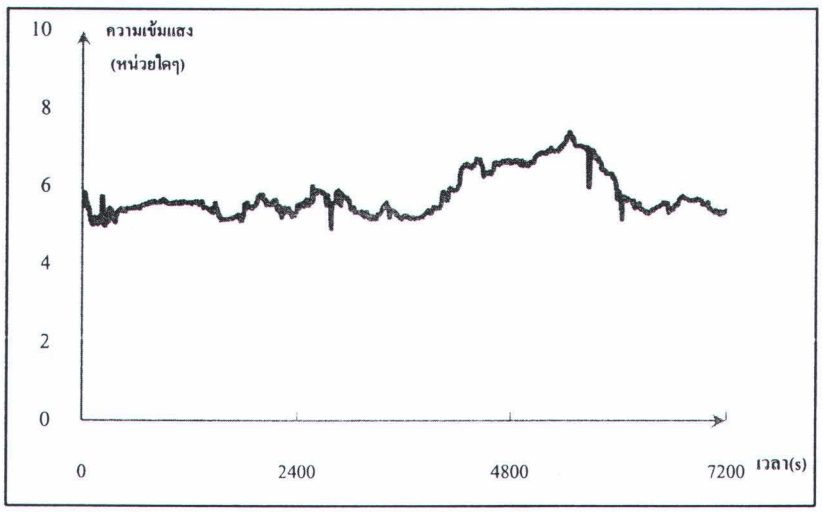
เลเซอร์ยี่ห้อ Leading-Tech รุ่น ADR 1805 ซึ่งมีความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร จะถูกใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงของงานวิจัยนี้ แต่เนื่องจากเลเซอร์รุ่นนี้มีความร้อนมากจึงต้องติดแผ่นระบายความร้อนเพื่อให้เลเซอร์เพื่อลดอุณหภูมิ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะส่งผลให้เลเซอร์ทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ ดังแสดงในรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 ภาพของเลเซอร์ที่ถูกติดตั้งแผ่นระบายความร้อนพร้อมตัวขับกระแส

ในการอ่านค่าจากเครื่องมือที่ได้ทำการออกแบบแสงอ้างอิงที่กล่าวถึงในตอนต้นนั้น เป็นสิ่งจำเป็นในการตรวจค่าความถูกต้องของเครื่องมือ ในเครื่องมือที่ใช้วัดสารเคมีส่วนใหญ่จะทำการวัดแสงอ้างอิงที่เข้ามาก่อนทำการทดลอง แต่จะไม่สามารถวัดไปพร้อมกันขณะทำการตรวจวัดได้ หรือเครื่องมือบางอย่างจะวัดค่าทางไฟฟ้าที่จ่ายให้กับแหล่งกำเนิดแสงเพื่อนำมาคำนวณหาค่าอ้างอิงทำให้เกิด

ข้อผิดพลาดได้ง่าย ถ้าไปทำการทดลองในสถานที่ซึ่งมีแหล่งจ่ายไฟฟ้าที่ไม่แน่นอนก็จะมีผลทำให้แหล่งกำเนิดแสงมีค่าความเข้มแสงที่ไม่คงที่ได้โดยเฉพาะเครื่องแบบพกพาที่ใช้แบตเตอรี่เป็นแหล่งจ่ายไฟ หรือแหล่งกำเนิดแสงเมื่อมีการใช้งานไปนานๆจะเกิดความร้อนทำให้ประสิทธิภาพในการจ่ายแสงลดลงที่ปริมาณการใช้ไฟฟ้าเท่าเดิม เครื่องมือต้นแบบในงานวิจัยนี้ได้ถูกออกแบบเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวคือสามารถอ่านค่าความเข้มของแสงอ้างอิงได้ตลอดเวลาในขณะทำการตรวจวัดและถูกนำมาใช้ในการคำนวณหาค่าการดูดกลืนของแสงในตัวอย่างเลือดเพื่อความถูกต้องแม่นยำมากขึ้นและได้มีการทดลองวัดความเข้มของแสงที่ออกมาจากเลเซอร์ที่ใช้ในการทดลองจริงเป็นเวลา 2 ชม.โดยบันทึกข้อมูลทุกๆ 10 วินาที แสดงในรูปที่ 3.8 ซึ่งจะเห็นว่าเลเซอร์ที่ใช้ในการทดลองนั้นจะจ่ายแสงได้ไม่คงที่ตามสาเหตุที่กล่าวมาแล้ว



รูปที่ 3.8 ความเข้มแสงที่ออกมาจากเลเซอร์ที่ทำการบันทึกทุกๆ 10 วินาที

3.1.2 วิธีการทดลอง

การตรวจหาค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในโลหิตมนุษย์โดยใช้เครื่องต้นแบบจะทำการตรวจวัดค่าความเข้มของแสงอินพุต ค่าความเข้มแสงที่สะท้อน และค่าความเข้มแสงส่งผ่าน เพื่อนำมาคำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงในเลือด โดยค่าความเข้มแสงทั้งสามที่วัดได้จะนำมาพิจารณาค่าการสูญเสียทั้งหมดที่เกิดขึ้นในระบบก่อน อาทิเช่น การสูญเสียจากตัวคอปเปลอร์ (Coupler Insertion loss) ค่าความสูญเสียอันเกิดจากการสะท้อนของแสงที่ปลายของเส้นใยแก้วกับอากาศ ค่าการสูญเสียจากการสะท้อนของแสงจากอากาศกับหลอดทดลอง ค่าการสูญเสียจากตัวคอนเนคเตอร์ ค่าการสูญเสียจากจุดคัปปลิง และการแบ่งแสงเฉพาะตัวของคอปเปลอร์ โดยการคำนวณค่าการสูญเสียต่างๆนั้นจะไม่สามารถใช้วิธีการคำนวณจากข้อมูลที่ได้จากแผ่นข้อมูล (Datasheet) ของคอปเปลอร์ และคอนเนค

เตอร์ได้ เนื่องจากใช้ความยาวคลื่นแสงที่ใช้งานคือ 532 นาโนเมตร ซึ่งไม่ตรงกับค่าความความยาวคลื่นแสงของคอปเปลอร์ที่ระบุว่าสามารถรับแสงได้ 800-1350 นาโนเมตร ดังนั้นเพื่อความถูกต้องจึงทำการตรวจวัดโดยตรง ด้วยการจ่ายแสงคงที่เข้าไปในระบบเพื่อหาค่าการสูญเสียที่เกิดขึ้นจริง จะนำค่าเหล่านี้มาคำนวณเพื่อชดเชยการลดทอนของสัญญาณเพื่อให้ได้ค่าที่ถูกต้องในการนำไปใช้ในสมการที่ (2.14) ถึงสมการที่ (2.16) เพื่อการหาค่าการดูดกลืนของแสงต่อไป จากนั้นค่าการดูดกลืนที่คำนวณได้จะถูกนำไปสอบเทียบวัดกับค่าฮีโมโกลบินในตัวอย่างเลือดที่วัดจากเครื่องมือมาตรฐานเพื่อใช้ในการสร้างสมการฮีโมโกลบินที่เป็นฟังก์ชันของการดูดกลืนของแสงในตัวอย่างเลือดอีกทีหนึ่ง ผลการทดลองที่ได้จากการทดลองจากเครื่องต้นแบบถูกนำมาเปรียบเทียบกับผลการวัดค่าปริมาณฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่อง Sysmex XE-2100 เพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างเครื่องทั้งสอง โดยหาค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, *R*) ซึ่งเป็นตัววัดความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรในเชิงเส้นตรงจะบ่งบอกถึงระดับความสัมพันธ์ว่ามากหรือน้อย ซึ่งคือการเกาะกลุ่มของจุดรอบ ๆ แนวเส้นตรงว่าใกล้ชิดหรือกระจายห่างจากเส้น และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, S.D.) ใช้วัดการกระจายของข้อมูล เพื่อพิจารณาว่าแต่ละตัวจะแตกต่างไปจากค่ากลางมากน้อยเพียงใด เมื่อนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมายกกำลังสองจะเรียกว่าค่าความแปรปรวน (Variance) ความสามารถในการอ่านค่าซ้ำ (Repeatability) สามารถหาได้โดยใช้สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variability) คือ ค่าร้อยละที่ข้อมูลเบี่ยงเบนรอบๆ ค่าเฉลี่ย

3.2 ผลการทดลอง

3.2.1 ผลการทดลองของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน

ตัวอย่างของเลือดมนุษย์ที่ทราบค่า และมีค่าฮีโมโกลบินต่างกันจำนวน 45 ตัวอย่าง จะนำมาใช้ในการทดลองเพื่อหาค่าของปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด ในการสอบเทียบเครื่องมือต้นแบบนั้นได้ทำการวัดปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินจากเครื่องมือมาตรฐานยี่ห้อ Sysmex รุ่น XE-2100 ที่นิยมใช้ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ ค่าที่ได้จึงเป็นค่าที่มีมาตรฐานสูง ตัวอย่างเลือดที่ใช้จะถูกเจาะไม่เกิน 3 ชั่วโมง เพราะเวลามีผลต่อปริมาณของฮีโมโกลบินที่เปลี่ยนไป ซึ่งการหาค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเลือดจากเครื่องมือต้นแบบของงานวิจัยนี้จะใช้ปริมาณเลือดตัวอย่างเพียงแค่ 0.1 มิลลิลิตร โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) ใช้ตัวอย่างเลือดจำนวน 45 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างของเลือดที่ได้รับการวัดปริมาณของฮีโมโกลบิน จากเครื่องมือมาตรฐานยี่ห้อ Sysmex รุ่น XE-2100

2) ทำการตรวจวัดตัวอย่างเลือดจำนวน 45 ตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือต้นแบบโดยทำการวัดตัวอย่างละ 3 ครั้ง เพื่อที่จะนำมาหาค่าเฉลี่ย

3) บันทึกค่าค่าความเข้มของแสงอินพุต ค่าความเข้มแสงที่สะท้อน และค่าความเข้มแสงส่งผ่านที่ได้จากเครื่องต้นแบบ

4) นำผลที่ได้มาคำนวณโดยการหักค่าการแบ่งแสงของคอปเปลอร์อัตราขยาย และค่าการสูญเสียต่างๆของเครื่องต้นแบบ

5) นำผลที่ได้จากการหักค่าการสูญเสียที่ได้จากข้อ 4 มาทำการคำนวณด้วยสมการ (2.14)

6) หาค่าค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์

โดยที่ HGB คือ ปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินมีหน่วยเป็น กรัมต่อเดซิลิตร

I_0 คือ ปริมาณเข้มของแสงอินพุตที่วัดได้มีหน่วยเป็น โวลต์

I_R คือ ปริมาณเข้มของแสงสะท้อนที่วัดได้มีหน่วยเป็น โวลต์

I_T คือ ปริมาณเข้มของแสงส่งผ่านที่วัดได้มีหน่วยเป็น โวลต์

A คือ ค่าการดูดกลืนที่คำนวณได้จากเครื่องต้นแบบ

ตารางที่ 3.1 ผลการทดลองของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน

No.	HGB	I_0	I_R	I_T	A=1- R - T
1	7.5	4.610	1.691	1.702	0.948
2	7.6	4.627	1.703	1.600	0.950
3	8.2	4.607	1.688	1.830	0.945
4	8.6	4.617	1.717	1.664	0.947
5	9.4	4.767	1.791	1.278	0.957
6	9.9	4.660	1.732	1.253	0.957
7	10.2	4.733	1.789	0.955	0.963
8	10.5	4.767	1.799	0.936	0.964
9	10.5	4.660	1.763	1.071	0.960
10	10.5	4.627	1.768	0.937	0.962
11	10.7	4.600	1.718	1.121	0.959
12	10.7	4.617	1.730	1.207	0.957
13	10.9	4.667	1.769	0.898	0.963
14	11.2	4.733	1.736	1.053	0.963

ตารางที่ 3.1 ผลการทดลองของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน (ต่อ)

No.	HGB	I_0	I_R	I_T	A=1- R - T
15	11.3	4.660	1.814	0.623	0.967
16	11.4	4.600	1.726	1.124	0.959
17	11.7	4.667	1.769	0.984	0.962
18	11.7	4.607	1.771	0.796	0.964
19	11.7	4.667	1.782	0.865	0.964
20	11.8	4.633	1.750	0.618	0.970
21	11.8	4.603	1.737	1.070	0.960
22	12	4.657	1.771	0.994	0.961
23	12.1	4.653	1.748	0.409	0.974
24	12.2	4.767	1.822	0.790	0.966
25	12.3	4.670	1.761	0.582	0.971
26	12.7	4.660	1.746	0.771	0.967
27	12.8	4.660	1.733	0.929	0.964
28	12.8	4.670	1.791	0.535	0.970
29	12.9	4.613	1.798	0.349	0.973
30	13	4.733	1.808	0.612	0.969
31	13	4.707	1.798	0.460	0.972
32	13.1	4.657	1.793	0.255	0.976
33	13.2	4.793	1.802	0.862	0.965
34	13.3	4.753	1.826	0.477	0.972
35	13.3	4.790	1.836	0.405	0.974
36	13.4	4.643	1.811	0.508	0.970
37	13.5	4.650	1.794	0.259	0.976
38	13.6	4.717	1.810	0.427	0.973
39	13.6	4.587	1.767	0.760	0.965
40	13.9	4.660	1.800	0.507	0.971

ตารางที่ 3.1 ผลการทดลองของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน (ต่อ)

No.	HGB	I_0	I_R	I_T	A=1- R -T
41	14.2	4.657	1.813	0.132	0.978
42	14.5	4.753	1.840	0.162	0.978
43	14.7	4.673	1.813	0.357	0.974
44	14.8	4.663	1.816	0.126	0.978
45	15.1	4.707	1.843	0.272	0.975
ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (R)				0.9047	
ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)				0.0083	

การวิเคราะห์ข้อมูลจะนำข้อมูลผลการวัดค่าของปริมาณของฮีโมโกลบิน ที่วัดได้จากเครื่องต้นแบบ มาพิจารณาเปรียบเทียบกับผลการวัดค่าปริมาณฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐานเพื่อหาความสัมพันธ์ที่จะนำมาใช้ในการสร้างสมการในการทำนายค่าค่าปริมาณฮีโมโกลบินโดยมีขั้นตอนดังนี้

1) นำผลการทดลองมาคำนวณค่าการดูดกลืนแสงตามสมการ (2.14) จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐาน กับค่าการดูดกลืนที่วัดได้จากเครื่องมือต้นแบบโดยให้เป็นแกน y และ x ตามลำดับ

2) สร้างเส้นตรงของข้อมูลในข้อ 1 โดยใช้โปรแกรม Minitab 16.10 สร้างจะได้เส้นตรงแสดงค่าเฉลี่ยของชุดข้อมูล

3) นำเส้นตรงที่ได้จากสมการเส้นตรงมาเขียนให้อยู่ในรูปแบบสมการ (3.2) ก็จะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐาน และค่าการดูดกลืน

$$Y = mX + b \tag{3.2}$$

โดยที่ m คือ ความชันของเส้นตรง

b คือ จุดตัดแกน y

4) นำค่าการดูดกลืนแทนลงในสมการที่ได้จากข้อ 3 ก็จะได้ค่าฮีโมโกลบินจากเครื่องมือต้นแบบ

5) นำค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐาน และค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องต้นแบบมาสร้างกราฟนำกราฟที่ได้มาสร้างสมการเส้นตรงจะได้สมการ (3.3) ซึ่งเป็นสมการที่แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า ฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐานกับค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องต้นแบบ

$$S = mP + b \tag{3.3}$$

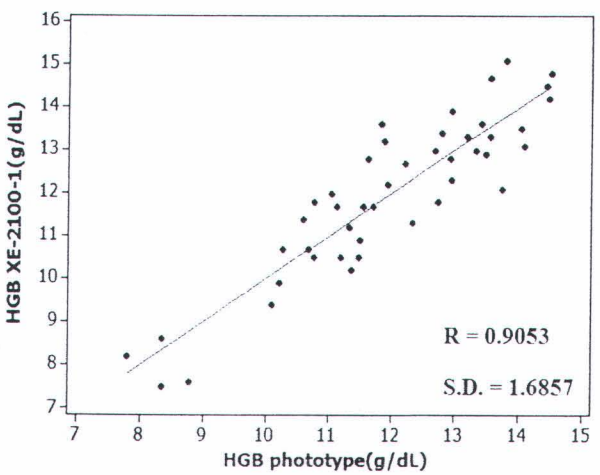
โดยที่ S คือ ค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐาน (HGB XE-2100-1)

P คือ ค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องต้นแบบ (HGB Phototype)

ผลการทดลองที่ได้จากเครื่องต้นจะถูกนำมาสร้างสมการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าฮีโมโกลบิน และค่าการดูดกลืน ดังสมการที่ (3.4) จากสมการที่ (3.4) จะถูกนำมาสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐาน และค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องต้นแบบ ดังสมการที่ (3.5) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9053 และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.6857 ดังแสดงในรูปที่ 3.9

$$S = -182.5 + 201.4\,A \tag{3.4}$$

$$S = 0.9999\,P - 0.0150 \tag{3.5}$$



รูปที่ 3.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่วัดได้จากเครื่องมาตรฐาน และค่าที่วัดได้จากเครื่องต้นแบบของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน

ความสามารถในการอ่านค่าซ้ำ ของเครื่องต้นแบบจะทำภายใต้เงื่อนไขการตรวจวัดโดยใช้ตัวอย่างทดลองจำนวน 10 ตัวอย่างที่มีค่าปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเท่ากัน โดยใช้ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่ 11.7 กรัมต่อเดซิลิตร เพื่อหาค่าการอ่านซ้ำจะทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน โดยมีขั้นตอนดังนี้

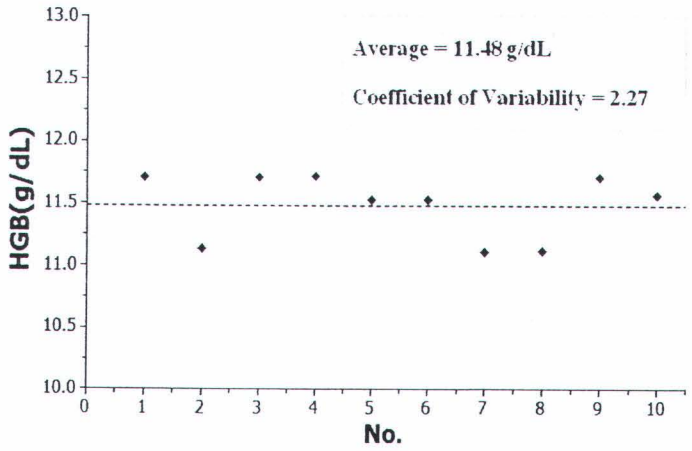
1) เลือกตัวอย่างทดลองที่มีค่าฮีโมโกลบิน 11.7 กรัมต่อเดซิลิตร จำนวน 10 ตัวอย่าง ที่วัดได้จากเครื่องมือมาตรฐาน
2) ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องมือต้นแบบ
3) หาค่าเฉลี่ยและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตารางที่ 3.2 ความสามารถในการอ่านซ้ำของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน

No.	HGB(g/dl)	
1	11.710	
2	11.131	
3	11.703	
4	11.716	
5	11.529	ค่าเฉลี่ย = 11.480 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน = 2.272
6	11.522	
7	11.108	
8	11.116	
9	11.703	
10	11.565	

ผลการทดลองหาค่าความสามารถในการอ่านซ้ำของเครื่องต้นแบบได้ถูกทดสอบ โดยการวัดตัวอย่างเลือดที่มีค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่ 11.7 กรัมต่อเดซิลิตร จำนวน 10 ตัวอย่าง ผลการทดลองนี้พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ร้อยละ 2.27

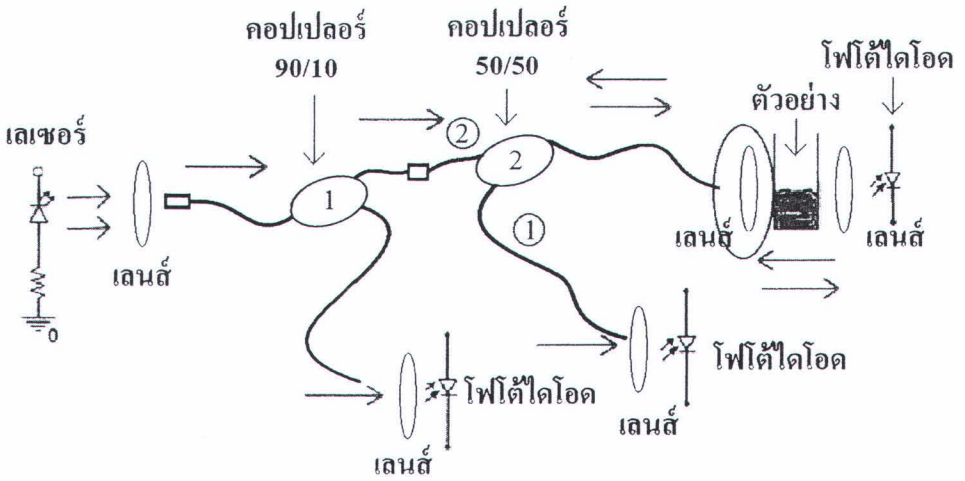


รูปที่ 3.10 ความสามารถในการอ่านซ้ำของการสอบเทียบค่าการดูดกลืน

3.2.2 ผลการทดลองหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสง

การเพิ่มประสิทธิภาพของเครื่องต้นแบบสามารถทำได้โดยได้ทำการปรับปรุงการคัปปลิงแสงเพื่อลดค่าการสูญเสีย ทำให้ความเข้มของแสงที่ใช้ในการทดลองกับเลือดตัวอย่างเพิ่มขึ้น โดยการปรับปรุงนี้สามารถทำได้สองรูปแบบคือทำการสลับสายคอปเปลอร์และการเปลี่ยนเลนส์ให้มีระยะโฟกัสกับระยะห่างของเลนส์ให้เหมาะสม ซึ่งสามารถทำให้เครื่องต้นแบบมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดแม่นยำขึ้น

การปรับปรุงอุปกรณ์การทดลองได้ถูกแสดงในรูปที่ 3.11 จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าในทางปฏิบัติสายสัญญาณเส้นที่ 2 นั้นจะมีอัตราส่วนการแยกแสงที่ดีกว่า จึงทำการสลับสายสัญญาณของคอปเปลอร์แบบ 50/50 โดยนำสายสัญญาณที่สองไปต่อกับคอปเปลอร์แบบ 90/10 แทน และสายสัญญาณที่ 1 ไปวัดค่าการสะท้อนแทน ซึ่งจะทำให้แสงเข้าไปที่ตัวอย่างทดลองมีความเข้มมากขึ้น และอีกส่วนหนึ่งได้ทำการปรับปรุงเลนส์เพื่อใช้ในการรวมแสง และรับแสงสะท้อนจากตัวอย่างทดลองให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น รวมถึงลดระยะห่างของเลนส์กับโฟโตไดโอดจากของเดิม 5 มิลลิเมตร ให้เหลือเพียง 3 มิลลิเมตร เพราะระยะความห่างจะมีผลต่อความเข้มของแสง ซึ่งผลของการปรับปรุงค่าการสูญเสียดังที่ได้กล่าวมาขั้นต้นนั้น สามารถลดค่าการสูญเสียทางแสงจากเดิมที่มากถึง 8.97 เดซิเบล เหลือเพียงแค่ 2.56 เดซิเบล และในส่วนของวงจรรับแสงของโฟโตไดโอดได้ปรับเปลี่ยนอัตราขยายใหม่ เพื่อให้มีความสอดคล้องต่ออุปกรณ์ที่ออกแบบใหม่ โดยการปรับปรุงอุปกรณ์ดังกล่าวเพื่อให้มีความเหมาะสมต่อการวัดความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเลือดมนุษย์ได้ดีขึ้น



รูปที่ 3.11 การปรับปรุงรูปแบบการติดตั้งอุปกรณ์ภายในเครื่องต้นแบบ

การทดลองปรับปรุงค่าการสูญเสียแสงจากการคัปปลิง ตัวอย่างของเลือดมนุษย์ที่ทราบค่า และมีค่าฮีโมโกลบินต่างกันจำนวน 50 ตัวอย่าง จะนำมาใช้ในการทดลองเพื่อหาค่าของปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด ในการสอบเทียบเครื่องมือต้นแบบนั้นได้ทำการวัดปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินจากเครื่องมือมาตรฐานยี่ห้อ Sysmex รุ่น XE-2100 ที่นิยมใช้ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ ค่าที่ได้จึงเป็นค่าที่มีมาตรฐานสูง ตัวอย่างเลือดที่ใช้จะถูกเจาะไม่เกิน 3 ชั่วโมง เพราะเวลามีผลต่อปริมาณของฮีโมโกลบินที่เปลี่ยนไป ซึ่งการหาค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเลือดจากเครื่องมือต้นแบบของงานวิจัยนี้จะใช้ปริมาณเลือดตัวอย่างเพียงแค่ 0.1 มิลลิลิตร โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) ใช้ตัวอย่างเลือดจำนวน 50 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างของเลือดที่ได้รับการวัดปริมาณของฮีโมโกลบิน จากเครื่องมือมาตรฐานยี่ห้อ Sysmex รุ่น XE-2100

2) ทำการตรวจวัดตัวอย่างเลือดจำนวน 50 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ครั้งนำมาหาค่าเฉลี่ยโดยใช้เครื่องมือต้นแบบ

3) บันทึกค่าค่าความเข้มของแสงอินพุต ค่าความเข้มแสงที่สะท้อน และค่าความเข้มแสงส่งผ่านที่ได้จากเครื่องต้นแบบ

4) นำผลที่ได้มาคำนวณโดยการหักค่าการแบ่งแสงของคอปเปลอร์ อัตราขยาย และค่าการสูญเสียต่างๆของเครื่องต้นแบบ

5) นำผลที่ได้จากการหักค่าการสูญเสียที่ได้จากข้อ 4 มาทำการคำนวณด้วยสมการ (2.14)

6) หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์

ตารางที่ 3.3 ผลการทดลองหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสง

No.	HGB	I_0	I_R	I_T	$A = 1 - R - T$
1	7	5.460	1.330	8.710	0.948
2	7.6	5.427	1.324	7.918	0.952
3	8.2	5.820	1.652	6.337	0.951
4	8.4	5.803	1.600	6.738	0.951
5	8.8	5.270	1.323	7.217	0.953
6	8.9	5.437	1.467	5.986	0.955
7	9.1	5.660	1.580	6.333	0.952
8	9.2	5.237	1.323	5.987	0.959
9	9.2	5.467	1.418	5.594	0.961
10	10	5.720	1.524	5.900	0.958
11	10.1	5.813	1.595	4.197	0.966
12	10.4	5.280	1.528	5.659	0.950
13	10.4	5.603	1.554	5.453	0.957
14	10.7	5.307	1.593	4.459	0.954
15	10.7	5.777	1.558	5.148	0.962
16	11.6	5.763	1.537	4.269	0.968
17	11.6	5.857	1.583	4.469	0.966
18	12	5.733	1.623	5.084	0.958
19	12.2	5.750	1.639	4.131	0.963
20	12.2	5.733	1.644	4.467	0.960
21	12.3	5.688	1.478	4.559	0.968
22	12.4	5.413	1.363	3.768	0.974
23	12.6	5.220	1.308	4.450	0.969
24	12.6	5.587	1.447	4.091	0.970
25	12.6	5.770	1.598	4.285	0.964
26	12.7	5.673	1.676	3.120	0.965
27	12.7	5.783	1.621	3.309	0.969

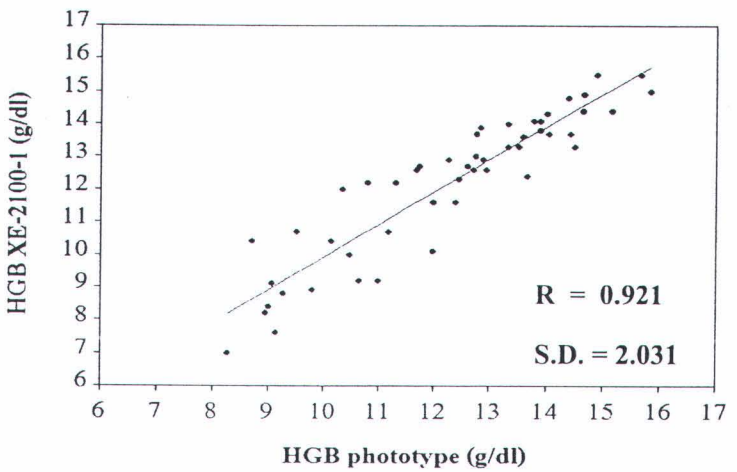
ตารางที่ 3.3 ผลการทดลองหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสง (ต่อ)

No.	HGB	I_0	I_R	I_T	$A = 1- R -T$
28	12.9	5.480	1.499	3.268	0.970
29	12.9	5.783	1.624	3.577	0.967
30	13	5.773	1.545	3.902	0.969
31	13.3	5.693	1.476	3.825	0.972
32	13.3	5.650	1.502	2.418	0.978
33	13.3	5.370	1.413	3.251	0.973
34	13.6	5.773	1.643	2.182	0.973
35	13.7	5.770	1.606	1.813	0.978
36	13.7	5.697	1.683	2.246	0.970
37	13.7	5.730	1.601	2.075	0.976
38	13.8	5.670	1.622	1.794	0.975
39	13.9	5.650	1.575	3.116	0.970
40	14	5.727	1.521	3.492	0.972
41	14.1	5.460	1.526	2.195	0.974
42	14.1	5.407	1.519	1.989	0.975
43	14.3	5.123	1.431	1.882	0.976
44	14.4	5.800	1.529	2.482	0.979
45	14.4	5.780	1.607	1.184	0.981
46	14.8	5.643	1.634	1.176	0.977
47	14.9	5.750	1.642	1.171	0.979
48	15	5.360	1.464	0.824	0.984
49	15.5	5.230	1.506	0.768	0.980
50	15.5	5.337	1.507	0.469	0.983
ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์(R)				0.921	
ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน(S.D.)				2.031	

ผลการทดลองที่ได้จากเครื่องต้นแบบจะถูกนำมาสร้างสมการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าฮีโมโกลบิน และค่าการดูดกลืน ดังสมการที่ (3.6) โดยจะนำมาสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องมือมาตรฐาน และค่าฮีโมโกลบินที่ได้จากเครื่องต้นแบบ ดังสมการที่ (3.7) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.921 และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 2.031 ดังแสดงในรูปที่ 3.12

$$S = 208A - 188.9 \tag{3.6}$$

$$S = 0.9998\,P - 0.0802 \tag{3.7}$$



รูปที่ 3.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่วัดได้จากเครื่องมาตรฐาน และค่าที่วัดได้จากเครื่องต้นแบบหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสง

ความสามารถในการอ่านค่าซ้ำของเครื่องต้นแบบจะถูกทดสอบโดยใช้ตัวอย่างจำนวน 12 ตัวอย่าง ที่มีค่าปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเท่ากัน โดยเลือกใช้ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่ 12.6 กรัมต่อเดซิลิตร เพื่อหาค่าการอ่านซ้ำจะทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนโดยมีขั้นตอนดังนี้

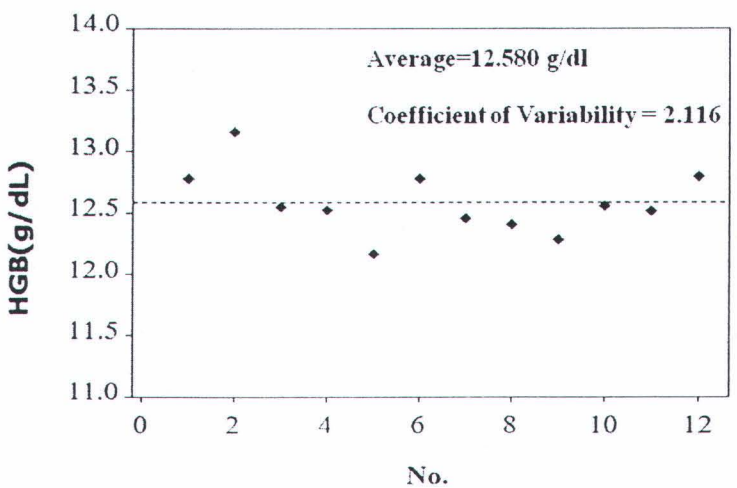
1) เลือกตัวอย่างทดลองที่มีค่าฮีโมโกลบิน 12.6 กรัมต่อเดซิลิตร จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่วัดได้จากเครื่องมือมาตรฐาน

2) ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องมือต้นแบบ

3) หาค่าเฉลี่ยและค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

ตารางที่ 3.4 ความสามารถในการอ่านซ้ำหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสง

No.	HGB	
1	12.779	
2	13.160	
3	12.544	
4	12.523	
5	12.166	
6	12.780	ค่าเฉลี่ย =12.580
7	12.458	ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน=2.116
8	12.404	
9	12.281	
10	12.555	
11	12.509	
12	12.796	



รูปที่ 3.13 ความสามารถในการอ่านซ้ำหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสง

ความสามารถในการอ่านซ้ำหลังจากการปรับปรุงการคัปปลิงแสงได้ถูกทดสอบ โดยการวัดตัวอย่างเลือดที่มีค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่ 12.6 กรัมต่อเดซิลิตร จำนวน 12 ตัวอย่าง ผลการทดลองนี้พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 2.116