เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ

COLONY COUNTING AND COLOR CLASSIFICATION DEVICE BASED ON IMAGE PROCESSING

รัตนพล ยุทธวิริยะ

RATTANAPON YUTTAWIRIYA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมระบบควบคุม

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-EN-M-080-138

เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ

COLONY COUNTING AND COLOR CLASSIFICATION DEVICE BASED ON IMAGE PROCESSING

รัตนพล ยุทธวิริยะ
RATTANAPON YUTTAWIRIYA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมระบบควบคุม
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558

KMITL-2015-EN-M-080-138

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COLONY COUNTING AND COLOR CLASSIFICATION DEVICE BASED ON IMAGE PROCESSING

RATTANAPON YUTTAWIRIYA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF ENGINEERING IN CONTROL ENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2015

KMITL-2015-EN-M-080-138

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2015
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ
Thesis Title Colony Counting and Color Classification Device based on Image Processing
นักศึกษา นายรัตนพล ยุทธวิริยะ
รหัสประจำตัว 55611306
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา วิศวกรรมระบบควบคุม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.นพดล มณีรัตน์
หมายเลขวิทยานิพนธ์ KMITL-2015-EN-M-080-138

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.สุเธียร	เกียรติสุนทร	
รศ.ดร.ชนินทร์	บุญลักษณานุสรณ์	
รศ.ดร.รัตติกร	วรากูลศิริพันธุ์	
ผศ.ดร.ดอน	อิศรากร	
ผศ.ดร.นพดล	มณีรัตน์	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ วันอังคารที่ 14 กรกฎาคม พ.ศ. 2558 เวลา 15.00-17.00 น.
สถานที่สอบ ณ อาคารเฉลิมพระเกียรติใหม่ ห้อง HM-401

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิศวกรรมศาสตร์ รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร. คมสัน มาลีสี)

คณบดี คณะวิศวกรรมศาสตร์

วันที่ 14 กรกฎาคม พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ
นักศึกษา	นายรัตนพล ยุทธวิริยะ
รหัสประจำตัว	55611306
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมระบบควบคุม
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.นพดล มณีรัตน์

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันขั้นตอนการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีนั้น จำเป็นที่จะต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งเป็นวิธีการและขั้นตอนที่ยุ่งยาก อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพไม่คงที่ ถึงแม้ว่าขั้นตอนการตรวจนับจำนวนโคโลนีแบบอัตโนมัติจะมีการพัฒนาขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ยังพบข้อจำกัดอยู่หลายด้าน วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จึงได้นำเสนอวิธีการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ ซึ่งโคโลนีที่ใช้ในการทดลองมี 2 ตระกูล คือ *Actinomycete* และ *Staphylococcus Aureus* ในขั้นตอนของการออกแบบจะประกอบไปด้วย 2 ส่วนหลักคือ ฮาร์ดแวร์ และซอฟต์แวร์ โดยส่วนของฮาร์ดแวร์คือ ส่วนของกล่องนับเชื้อซึ่งภายในประกอบด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ใช้สำหรับติดต่อกับซอฟต์แวร์ และควบคุมการแสดงค่าสีของหลอดแอลอีดีแบบ RGB โดยที่หลอดแอลอีดีจะถูกติดตั้งไว้ที่ใต้พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ และกล้องวีดีโอเว็บแคมที่ใช้สำหรับถ่ายภาพ ส่วนของซอฟต์แวร์คือ หน้าจออินเตอร์เฟส และส่วนที่ใช้ในการประมวลผลภาพ โดยขั้นตอนหลักของการประมวลผลภาพคือ การเลือกสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสม การทำเทรชโฮลด์หลายระดับ การกำจัดสัญญาณรบกวนโดยใช้มอร์โฟโลยี การหาขอบภาพโดยใช้วิธี Prewitt และการนับจำนวนโคโลนี การทดลองสามารถจำแนกสีโคโลนีได้ 5 สี คือ ขาว ดำ ชมพู ม่วง และครีม โดยมีค่าความผิดพลาดเฉลี่ยเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญคือ 5.1% ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่มีข้อได้เปรียบเรื่องการใช้เวลาในการนับที่น้อยกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Colony Counting and Color Classification Device based on Image Processing
Student	Mr. Rattanapon Yuttawiriya
Student ID	55611306
Degree	Master of Engineering
Program	Control Engineering
Year	2015
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Noppadol Maneerat

ABSTRACT

At the present, the method of color classification and colony counting are identified by the expert which is complicated process and not stable. Although the automated colony counting process is continually developing but it has many limitations. This thesis presents a method of color classification and colony counting using image processing. Both *Actinomycete* Bacteria and *Staphylococcus Aureus* Bacteria are used for the testing process. The design and development of colony counting device comprises of two main parts which are hardware and software. The hardware of the device consists of microcontroller that used for communication with software and control the RGB LED, RGB LED bulbs which are equipped under the plate's floor the webcam is used for image caption. The developed software has the graphic user interface and image processing unit. The main steps of image processing are determination the of color component, multilevel threshold, edge detection by using Prewitt and colony counting algorithm. The experiments can identify the color of colonies in 5 colors which are white, black, pink, purple and cream. The result of average error is about 5.1% and it takes the less time to process compared with the experts.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากการที่ข้าพเจ้าได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล มณีรัตน์ อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำปรึกษาชี้แนะช่วยแก้ปัญหา ตลอดจนให้ความรู้ ประสบการณ์ และความคิดริเริ่มในการศึกษา และทำวิจัยของข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณศักรินทร์ กิรานนท์ ตำแหน่งนักวิจัย และ คุณวาสินี ธรรมสถิต ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ความรู้ และคำแนะนำเกี่ยวกับขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและวิธีการนับจำนวนโคโลนี ตั้งแต่ต้นจนทำให้การทดลองสำเร็จลุล่วงสมบูรณ์

ขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทดลองการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียและความรู้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

ขอขอบคุณ ศูนย์ห้องปฏิบัติการวิจัยทางการแพทย์และการเกษตรแห่งเอเชีย จำกัด (AMARC) ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในในด้านผู้เชี่ยวชาญ ตัวอย่างโคโลนี และการเข้าไปศึกษาดูงาน

ขอขอบคุณ คุณศานติกร อำนวยผล และสมาชิกในห้องปฏิบัติการทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดี

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดา มารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้ และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และบัณฑิตศึกษา คณะวิศวกรรมศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกในการให้ข่าวสารและการจัดการด้านเอกสารต่างๆ ณ โอกาสนี้ด้วย

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์นี้ ผู้เขียนขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

รัตนพล ยุทธวิริยะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อไทย I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II
กิตติกรรมประกาศ III
สารบัญ IV
สารบัญตาราง VII
สารบัญรูป VIII

บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย 2
1.4 แนวคิดที่ใช้ในงานวิจัย 3
1.5 ขอบเขตงานวิจัย 3
1.6 โครงสร้างของวิทยานิพนธ์ 3

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 5
2.1 บทนำ 5
2.2 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 5
2.2.1 วิธีการ Spread - Plate Technique 5
2.2.2 วิธีการ Pour - Plate Technique 6
2.2.3 วิธีการ Streak - Plate Technique 7
2.3 วิธีการนับเชื้อโคโลนีแบบดั้งเดิม 8
2.4 หลักการทำงานของหลอดแอลอีดี 8
2.5 หลักการของไอซี LED เบอร์ WS2812B 9
2.5.1 โครงสร้างของโมดูล ไอซี LED เบอร์ WS2812B 10
2.5.2 การควบคุมทำงานของไอซี LED เบอร์ WS2812B 11
2.6 แสง 12
2.7 ไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino Leonardo Pro Micro 13
2.7.1 คุณสมบัติที่สำคัญ 13

บทที่ 3 การประมวลผลภาพดิจิตอลที่ใช้ในงานวิจัย 14
3.1 บทนำ 14
3.2 การประมวลผลภาพเชิงตัวเลข 14
3.2.1 มาตรแสดงค่าความสว่าง 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.2 พิกัดตำแหน่งจุดภาพ 14
3.3 การตัดระดับเทรชโฮลด์ (Thresholding) 15
3.3.1 การทำเทรชโฮลด์ (Thresholding) 15
3.3.2 การทำเทรชโฮล์หลายระดับ (Multilevel Threshold) 16
3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างพิกเซล 17
3.4.1 จุดรอบข้างของพิกเซล 17
3.4.2 การเชื่อมต่อ 17
3.4.3 การใส่เลเบลให้กับจุดที่ติดกัน (Connected-component labeling) 18
3.4.4 การกระทำทางลอจิก 19
3.5 การทำภาพกลับขาวเป็นดำ (Digital Negative) 19
3.6 การหาขอบภาพ (Edge Detection) 20
3.6.1 Mask ที่ใช้สำหรับการหาอนุพันธ์ของภาพอันดับที่ 1 20
3.6.2 Mask ที่ใช้สำหรับการหาอนุพันธ์ของภาพอันดับที่ 2 21
3.7 Morphological Operations 21
3.7.1 คำนิยามและข้อกำหนด 22
3.7.2 การเซาะ (Erosion) 23
3.7.3 การขยาย (Dilation) 24
3.7.4 คุณสมบัติพื้นฐานของการเซาะ (Erosion) และการขยาย (Dilation) 25
3.7.5 การเปิด (Opening) และการปิด (Closing) 25
3.7.6 คุณสมบัติพื้นฐานของการเปิด (Opening) และการปิด (Closing) 27
3.8 การประยุกต์ใช้มอร์โฟโลยี 27
3.8.1 การหาเส้นขอบ (Boundary Extraction) 27
3.8.2 การเติมบริเวณ (Region Filling) 28

บทที่ 4 การออกแบบและพัฒนา 30
4.1 บทนำ 30
4.2 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องจำแนกสีและตรวจนับโคโลนี 30
4.3 การออกแบบกล่องนับเชื้อ 31
4.3.1 กล่องนับเชื้อ 31
4.3.2 วงจรสำหรับควบคุมหลอดแอลอีดีแบบ RGB 32
4.4 การประมวลผลภาพดิจิตอล 33
4.4.1 พิจารณาภาพในแต่ละองค์ประกอบสี 34
4.4.2 การตัดระดับเทรชโฮลด์ 37
4.4.3 การลบสัญญาณรบกวน 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4.4 การลบขอบจานเพาะเชื้อ 38
4.4.5 ขั้นตอนการนับจำนวนเชื้อโคโลนี 41
4.4.6 การซ้อนทับภาพ 41
4.5 การออกแบบหน้าจออินเตอร์เฟส 42

บทที่ 5 การทดลองและผลการทดลอง 43
5.1 บทนำ 43
5.2 ผลการแยกองค์ประกอบสี 43
5.3 ขั้นตอนการแยกโคโลนีสีต่างๆ ออกจากพื้นหลังโดยใช้วิธี
การเทรชโฮลด์หลายระดับ 54
5.4 ขั้นตอนการหาขอบของจานเพาะเชื้อโดยใช้วิธีการหาขอบภาพ 56
5.5 ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนี 58
5.6 ผลการทดลองของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี
โดยใช้การประมวลผลภาพ 60
5.6.1 การหาค่าสีพื้น และองค์ประกอบสีที่เหมาะสำหรับโคโลนีแต่ละสี 60
5.6.2 ผลการนับจำนวนโคโลนี 60
5.6.3 ผลของการหมุนจานเพาะเชื้อในแนวระนาบ 66
5.6.4 การเปรียบเทียบคุณสมบัติ 67
5.6.5 วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง 68

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 69
6.1 สรุปผลการวิจัย 69
6.2 แนวทางการพัฒนาต่อ 69

เอกสารอ้างอิง 71
ภาคผนวก 73
ภาคผนวก ก เชื้อโคโลนีที่ใช้ในการทดลอง 74
ภาคผนวก ข บทความทางวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์ 77
ประวัติผู้เขียน 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ค่าความกว้างของช่วง HIGH และ LOW ที่กำหนดค่าของแต่ละบิต 11
5.1 ภาพโคโลนีสีขาวกับพื้นหลังสีต่างๆ 44
5.2 ภาพโคโลนีสีดำกับพื้นหลังสีต่างๆ 46
5.3 ภาพโคโลนีสีชมพูกับพื้นหลังสีต่างๆ 48
5.4 ภาพโคโลนีสีม่วงกับพื้นหลังสีต่างๆ 50
5.5 ภาพโคโลนีสีครีมกับพื้นหลังสีต่างๆ 52
5.6 ขั้นตอนการแยกโคโลนีออกจากพื้นหลังโดยวิธีการทำเทรชโฮลด์หลายระดับ 54
5.7 ขั้นตอนการหาขอบภาพของจานเพาะเชื้อ 56
5.8 ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนี 58
5.9 สีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี 60
5.10 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีขาว 61
5.11 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีดำ 62
5.12 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีชมพู 63
5.13 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีม่วง 64
5.14 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีครีม 65
5.15 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีขาวในแนวระนาบ 66
5.16 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีดำในแนวระนาบ 66
5.17 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีชมพูในแนวระนาบ 66
5.18 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีม่วงในแนวระนาบ 67
5.19 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีครีมในแนวระนาบ 67
5.20 เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี กับการตรวจนับ โดยผู้เชี่ยวชาญ 67
5.21 ค่าความผิดพลาดของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ขั้นตอนการเพาะเชื้อด้วยวิธี Spread - Plate Technique 5
2.2 ขั้นตอนการเพาะเชื้อด้วยวิธี Pour - Plate Technique 6
2.3 ขั้นตอนการเพาะเชื้อด้วยวิธี Streak - Plate Technique 7
2.4 หลอดแอลอีดี 8
2.5 หลักการทำงานของหลอดแอลอีดี 9
2.6 ตำแหน่งขาต่อใช้งานไอซี LED เบอร์ WS2812B 10
2.7 การต่อโมดูล (Module) แบบ Cascade 10
2.8 ข้อกำหนดสำหรับสัญญาณดิจิตอลที่ใช้กำหนดค่าบิตแต่ละบิต สำหรับ WS2812B 11
2.9 การจัดเรียงบิตแบบ GRB 11
2.10 ขั้นตอนการส่ง Frame Data 12
2.11 ความยาวคลื่นแสงในช่วงที่มนุษย์มองเห็น 12
2.12 สีปฐมภูมิและสีทุติยภูมิ 12
2.13 Leonardo Pro Micro 13
3.1 การแทนภาพด้วยเมตริกซ์สองมิติ 15
3.2 ฮิสโตแกรมและตำแหน่งเทรชโฮลด์ 16
3.3 ฮิสโตแกรมของภาพที่มีโคโลนี 16
3.4 ฮิสโตแกรมและตำแหน่งการเทรชโฮลด์หลายระดับ 17
3.5 จุดรอบข้างของพิกเซล 17
3.6 ชนิดของการเชื่อมต่อ 18
3.7 การกำหนดเลเบล 18
3.8 ตัวอย่างการกระทำทางลอจิกของภาพไบนารี 19
3.9 การทำภาพกลับขาวเป็นดำ 19
3.10 ตัวอย่างการทำภาพกลับขาวเป็นดำ 20
3.11 ภาพผลลัพธ์ที่ได้จากการหาขอบภาพโดยวิธีต่างๆ 20
3.12 คำนิยามและข้อกำหนดของการทำมอร์โฟโลยี (Morphology) 22
3.13 การทำการเซาะ (Erosion) ของสามเหลี่ยม A ด้วยเทมเพลท B 23
3.14 ขั้นตอนการหา $A \ominus B$ ตามวิธีในสมการที่ 3.14 24
3.15 การทำการขยาย (Dilation) ของสามเหลี่ยม A ด้วยเทมเพลท B 24
3.16 ขั้นตอนการหา $A \oplus B$ ตามวิธีในสมการที่ 3.12 25
3.17 การดำเนิกการแบบการเปิด (Opening) และการปิด (Closing) โดยใช้เทมเพลทวงกลม 26
3.18 กระบวนการหาขอบของภาพไบนารี 27
3.19 กระบวนการเติมบริเวณ 28
4.1 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี 31
4.2 กล่องนับเชื้อที่ออกแบบ 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.3 วงจรภายในกล่องนับเชื้อ 32
4.4 การต่อหลอดแอลอีดี RGB แบบ Cascade 32
4.5 หลอดแอลอีดีชนิด RGB ที่ใช้งาน 32
4.6 ขั้นตอนการประมวลผลภาพ 33
4.7 ขั้นตอนการหาค่าสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสม 34
4.8 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีแดง 35
4.9 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีเขียว 35
4.10 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีน้ำเงิน 36
4.11 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีขาว 36
4.12 กราฟฮิสโตแกรม และตำแหน่ง T_1 T_2 37
4.13 ภาพหลังการทำเทรชโฮลด์ 37
4.14 ภาพหลังการทำมอร์โฟโลยี 38
4.15 การหาขอบภาพโดยใช้วิธี Prewitt 38
4.16 การลบพิกเซลที่มีไม่อยู่ในช่วงที่กำหนด 39
4.17 การขยายภาพโดยใช้มอร์โฟโลยี 39
4.18 ขั้นตอนการ OR ภาพ 40
4.19 การลบขอบจานเพาะเชื้อ 40
4.20 การกำหนดเลเบล 41
4.21 การตีกรอบรอบโคโลนีที่ทำการนับ 41
4.22 หน้าจออินเตอร์เฟส 42
ก-1 โคโลนีสีขาว 75
ก-2 โคโลนีสีดำ 75
ก-3 โคโลนีสีชมพู 75
ก-4 โคโลนีสีม่วง 76
ก-5 โคโลนีสีครีม 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันนี้มีการคิดค้นยารักษาโรคขึ้นมามากมายเพื่อใช้สำหรับป้องกันและรักษาโรคภัยไข้เจ็บที่เกิดขึ้น โดยยาแต่ละประเภทนั้นจะมีสารตั้งต้นและวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน ซึ่งสารแอนติไบโอติก (Antibiotic) เป็นหนึ่งในสารที่สำคัญที่ใช้ในการผลิตยา เนื่องจากสารนี้มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด จึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย รา ไวรัส โปรโตซัว รวมทั้งสามารถต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอกได้ โดยที่ 2 ใน 3 ของสารแอนติไบโอติกทั้งหมดที่มีในปัจจุบัน สามารถพบได้ในแบคทีเรียตระกูล *Actinomycete* ดังนั้นแบคทีเรียในตระกูล *Actinomycete* นี้จึงจัดว่าเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์และทางเภสัชกรรมเป็นอย่างมาก [1]

อีกหนึ่งความสำคัญของการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียคือ เพื่อหาสิ่งที่ปนเปื้อนในอาหารซึ่งจะมีทั้งแบคทีเรียที่มีประโยชน์และให้โทษ เนื่องจากการบริโภคอาหารที่ไม่สะอาดเข้าไป อาจทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้ การนำเข้าและส่งออกอาหารจำเป็นต้องผ่านการตรวจสอบคุณภาพและการรับรองตามกฎหมาย ของประเทศนั้นๆ ดังนั้นความสะอาดในอุตสาหกรรมอาหารจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ โดยที่การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ เพื่อจำแนกชนิดและนับจำนวนโคโลนีจึงเป็นขั้นตอนพื้นฐาน ซึ่งการตรวจนับดังกล่าวจะสามารถรายงานค่าที่เกี่ยวข้องออกมาได้หลายค่า คือชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ปริมาณของเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ โดยเชื้อ *Staphylococcus Aureus* เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อ่อนเพลีย ในรายที่รุนแรงมีอาการ ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ ความดันโลหิตเปลี่ยนแปลงเป็นต้น [2] นอกจากนี้แล้วการเพาะเชื้อแบคทีเรียยังช่วยให้เราทราบว่าอาหารที่ผลิตขึ้นมานั้นสามารถเก็บรักษาไว้ได้กี่วัน และควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิใด

โดยทั่วไปแล้วในการจำแนกชนิดและนับจำนวนโคโลนีมีหลายวิธี เริ่มตั้งแต่การจำแนกชนิดและนับจำนวนโดยจะใช้แรงงานคน ซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุด เนื่องจากให้ผลถูกต้องมากที่สุด แต่ถ้านำมาใช้ในทางปฏิบัติแล้ว ซึ่งต้องนับจำนวนโคโลนีเป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะระมัดระวังเพียงได้ย่อมเกิดความคลาดเคลื่อน อีกทั้งยังมีความยุ่งยาก ใช้เวลานาน ประสิทธิภาพในการนับไม่คงที่ขึ้นอยู่กับแต่ละบุคคล

ด้วยความจำเป็นของการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีที่ได้กล่าวมาข้างต้น จึงมีหลายงานวิจัยที่ได้ออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์สำหรับตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งในปัจจุบันแต่ละงานวิจัยก็จะใช้เทคโนโลยีที่แตกต่างกันออกไป มีผลให้เกิดความเฉพาะด้านชนิดของแบคทีเรียและสีของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีราคาที่แพง ขนาดที่ใหญ่ จึงทำให้เคลื่อนย้ายลำบากและเปลืองพื้นที่ อีกทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในบางงานวิจัยได้มีการออกแบบเฉพาะในส่วนของฮาร์ดแวร์จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของภาพถ่ายได้

ทางผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำเทคนิคการประมวลผลภาพมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี โดยเน้นไปที่การนับจำนวนของโคโลนี ตระกูล *Actinomycete* และตระกูล *Staphylococcus Aureus* ซึ่งโคโลนีจะมีสีที่เด่นชัดอยู่ 8 สี คือ สีขาว สีดำ สีชมพู สีม่วง สีครีม สีเหลือง สีแดง และสีส้ม โดยในขั้นตอนการพัฒนานั้นจะมีการออกแบบทั้งในส่วนของฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์ จึงทำให้สามารถกำจัดปัญหาด้านคุณภาพของภาพถ่ายออกไปได้ ซึ่งเครื่องนี้จะสามารถช่วยให้ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนีนั้นมีความรวดเร็ว สะดวกสบาย มีประสิทธิภาพที่คงที่และมีค่าความผิดพลาดอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้ อีกทั้งตัวเครื่องยังมีราคาที่ถูก จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาได้

วิทยานิพนธ์นี้ มุ่งเน้นการพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ ที่สามารถนับแยกชนิดโคโลนีได้ 5 สี และมีความถูกต้องที่ใกล้เคียงกับผู้เชี่ยวชาญ

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาความรู้ด้านการประมวลผลภาพดิจิตอล (Digital Image Processing)
2. เพื่อจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี 5 ชนิด โดยการวิเคราะห์จากภาพถ่ายได้
3. เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้กับผลจากผู้เชี่ยวชาญ
4. เพื่อปรับปรุงการนับจำนวนโคโลนีให้มีประสิทธิภาพ และสะดวกสบายยิ่งขึ้น
5. เพื่อออกแบบอุปกรณ์ให้มีราคาถูกและสามารถเคลื่อนย้ายให้ใช้งานนอกเหนือจากห้องวิจัยได้
6. เพื่อเสนออีกแนวทางหนึ่งสำหรับใช้ในการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

จากการทำวิจัยเบื้องต้น พบว่าการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีที่มีสีแตกต่างกันไปนั้นทำได้ค่อนข้างลำบาก เนื่องจากสีของโคโลนีหลายชนิดจะมีสีที่ใกล้เคียงกับสีของพื้นหลัง อีกทั้งยังมีโคโลนีบางชนิดที่สีมีความคล้ายคลึงกัน จึงทำให้การประมวลผลภาพมีความผิดพลาด ดังนั้นการออกแบบเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีจึงใช้หลอดแอลอีดีชนิด RGB มาติดตั้งที่ใต้พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ เพื่อช่วยสร้างความแตกต่างระหว่างสีของโคโลนีแต่ละชนิดกับสีของพื้นหลัง แล้วจึงนำเข้ากระบวนการประมวลผลภาพ เพื่อทำการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีต่อไป ด้วยวิธีนี้จึงน่าจะมีความถูกต้องในการจำแนกและนับจำนวนโคโลนีได้ดีกว่าการจำแนก และนับจำนวนโคโลนีโดยใช้พื้นหลังที่มีสีเดียวกัน ดังนั้นส่วนของความถูกต้องของการจำแนกและนับจำนวนโคโลนีจะมีมากหรือน้อยเพียงใดนั้น จึงขึ้นกับกระบวนการเลือกสีพื้นหลังที่ถูกต้องด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 แนวคิดที่ใช้ในงานวิจัย

งานวิจัยนี้นำเสนอการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีจากภาพถ่าย โดยมีขั้นตอนการทำงานแบ่งออกเป็น 6 ขั้นตอนหลัก ได้แก่

1. การออกแบบกล่องนับเชื้อซึ่งภายในประกอบไปด้วยหลอดแอลอีดีชนิด RGB, กล้องเว็บแคม และไมโครคอนโทรลเลอร์

2. การเลือกสีพื้นที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี โดยพิจารณาจากองค์ประกอบสี

3. การเลือกค่าเทรชโฮลด์หลายระดับที่เหมาะสม โดยอาศัยหลักการหาค่าที่ต่ำที่สุด และค่าที่สูงที่สุดที่ทำให้เชื้อโคโลนีสีที่ต้องการแยกออกจากพื้นหลังได้อย่างชัดเจน

4. กระบวนการมอร์โฟโลยี (Morphology) ที่ใช้สำหรับกำจัดสัญญาณรบกวน เพื่อลดความผิดพลาดก่อนเข้ากระบวนการนับจำนวนเชื้อโคโลนี

5. การหาขอบภาพโดยใช้วิธีการ Prewitt เพื่อลบขอบของจานเพาะเชื้อที่ไม่ต้องการออก

6. การกำหนดเลเบล (Label) ให้กับกลุ่มของพิกเซลที่อยู่แยกกัน เพื่อนับจำนวนโคโลนี

1.5 ขอบเขตงานวิจัย

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีการใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์สำหรับควบคุมการทำงานของหลอดแอลอีดีชนิด RGB ที่ใช้ในการสร้างสีของพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ ซึ่งทำงานร่วมกับซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ ที่พัฒนาผ่านโปรแกรม Matlab โดยอาศัยการใช้สีพื้นที่แตกต่างกันออกไปสำหรับโคโลนีแต่ละสี หลังจากนั้นจึงเข้ากระบวนการเทรชโฮลด์หลายระดับ กระบวนการมอร์โฟโลยี (Morphology) การหาขอบภาพโดยใช้วิธีการ Prewitt ขั้นตอนสุดท้ายคือ การกำหนดเลเบล (Label) เพื่อทำการนับจำนวนของโคโลนี

1.6 โครงสร้างของวิทยานิพนธ์

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้แบ่งเนื้อหาออกเป็น 6 บท โดยมีรายละเอียดดังนี้

บทที่ 1 กล่าวถึงความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา วัตถุประสงค์ สมมติฐาน ตลอดจนแนวคิดที่ใช้ในงานวิจัย และขอบเขตของการวิจัย

บทที่ 2 แนะนำให้รู้จักกับขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ วิธีการนับเชื้อโคโลนีแบบดั้งเดิม การควบคุมการทำงานของหลอดแอลอีดีชนิด RGB ความรู้พื้นฐานของไมโครคอนโทรลเลอร์

บทที่ 3 กล่าวถึงการประมวลผลภาพดิจิตอลที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ การตัดระดับเทรชโฮลด์ ความสัมพันธ์ระหว่างพิกเซล มอร์โฟโลยี (Morphology) และการหาขอบภาพ

บทที่ 4 การออกแบบและพัฒนา ซึ่งจะกล่าวถึงขั้นตอนการออกแบบกล่องนับเชื้อ วงจรที่ออกแบบสำหรับกล่องนับเชื้อ หลักการโดยรวมของซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ ตั้งแต่การเลือกสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พื้นที่เหมาะสม การแยกภาพของเชื้อโคโลนีออกจากพื้นหลัง การหาขอบภาพ การนับจำนวนโคโลนี สุดท้ายจะเป็นการออกแบบหน้าจออินเตอร์เฟส (Graphic User Interface)

บทที่ 5 การทดลองและผลการทดลอง แสดงผลลัพธ์ของการทดลอง การหาค่าสีพื้นที่เหมาะสม และการนับจำนวนโคโลนี

บทที่ 6 สรุปผลงานวิจัย กล่าวถึงบทสรุปของงานวิจัย และแนวทางในการพัฒนาต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

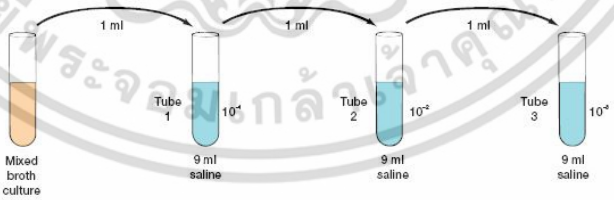
2.1 บทนำ

ในการพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพภาพดิจิตอล ซึ่งจะกล่าวถึง ขั้นตอนการเพาะเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ การตรวจนับตัวอย่างโคโลนีซึ่งในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เรียกว่าวิธีการนับเชื้อแบคทีเรียแบบดั้งเดิม รวมไปถึงการออกแบบตู้นับเชื้อที่ต้องใช้หลอดแอลอีดีชนิด RGB ทำงานร่วมกับใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์และวงจรอิเล็กทรอนิกส์

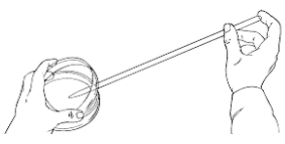
2.2 ขั้นตอนการเพาะเชื้อแบคทีเรีย

2.2.1 วิธีการ Spread - Plate Technique

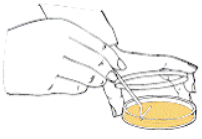
ในแหล่งธรรมชาตินั้นปกติเชื้อแบคทีเรียจะเติบโตอยู่รวมกันหลายๆ สายพันธุ์ เพื่อการคัดแยกและจำแนกชนิดของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะต้องมีขั้นตอนการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (Pure Culture) โดยเทคนิคที่ทำได้ง่ายคือ Spread - Plate Technique ซึ่งเทคนิคนี้แบคทีเรียที่ถูกทำให้เจือจางให้มีจำนวนประมาณ 100 - 200 เซลล์ หรือน้อยกว่า แสดงดังรูปที่ 2.1(ก) ซึ่งจะถูกนำมาหยดที่ตำแหน่งตรงกลางของจานเพาะเชื้อ (Petri Dish/Plate) แล้วทำการเกลี่ยให้เชื้อกระจายทั่วด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอล (L) แสดงดังรูปที่ 2.1(ค) หลังจากบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมและมีระยะเวลาเพียงพอ จะปรากฏโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียขึ้น โดยแต่ละโคโลนีจะมีจำนวนแบคทีเรียอยู่จำนวนมากและแต่ละโคโลนีจะถือว่ามาจากแบคทีเรียเพียงสายพันธุ์เดียว ดังนั้นจะทำให้เกิดการแยกแบคทีเรียออกมาเป็นเชื้อบริสุทธิ์ขึ้น นอกจากนั้นยังสามารถทำให้เชื้อมีความบริสุทธิ์มากขึ้นโดยการนำโคโลนีที่ต้องการไปเพาะเลี้ยงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารใหม่ด้วยเทคนิคที่เรียกว่า Streak - Plate Technique



(ก) ขั้นตอนการทำ Serial dilution



(ข) ขั้นตอนการหยดเชื้อในจานเพาะเชื้อ



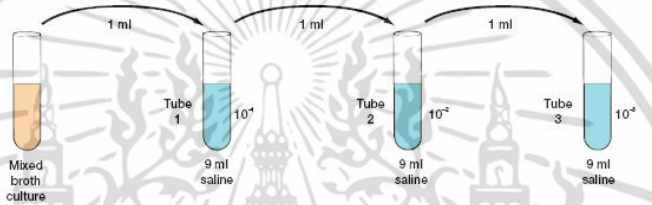
(ค) ขั้นตอนการเกลี่ยเชื้อ

รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการเพาะเชื้อด้วยวิธี Spread - Plate Technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

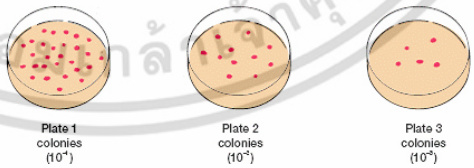
2.2.2 วิธีการ Pour - Plate Technique

เทคนิคการเพาะเชื้อแบบ Pour - Plate Technique เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้เช่นกัน โดยตัวอย่างเริ่มต้นจะถูกเจือจางให้มีความเข้มข้นหลายๆ ระดับด้วยเทคนิค Serial Dilution แสดงดังรูปที่ 2.2(ก) เพื่อทำให้เชื้อถูกเจือจางมากพอที่จะทำให้เกิดโคโลนีเดี่ยวๆ บนจานเพาะเชื้อ โดยนำตัวอย่างที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมเติมลงในจานเพาะเชื้อเปล่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ต่อจากนั้นทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบวุ้น (Agar Medium) ลงไปในจานเพาะเชื้อ โดยอุณหภูมิของอาหารเพาะเชื้อต้องมีอุณหภูมิประมาณ 48 - 50 องศาเซลเซียส ซึ่งจะไม่ทำให้เชื้อแบคทีเรียและยีสต์ตายได้ ผสมอาหารและเชื้อให้เข้ากันและให้เกิดการกระจายอย่างสม่ำเสมอด้วยการหมุนจานเพาะเชื้อ เมื่อวุ้นเกิดการแข็งตัว เชื้อแบคทีเรียจะถูกตรึงให้อยู่ด้านในของอาหาร และจะเกิดโคโลนีเดี่ยวๆ ของเชื้อขึ้นมาแสดงดังรูปที่ 2.2(ค)



(ก) ขั้นตอนการทำ Serial dilution

(ข) การเทเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ



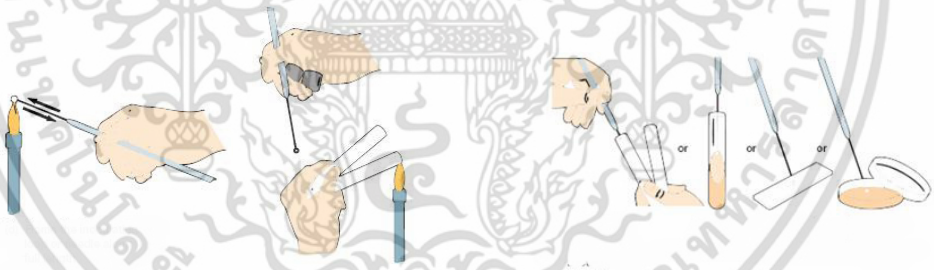
(ค) ปริมาณโคโลนีที่ได้ในแต่ละจานเพาะเชื้อ

รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการเพาะเชื้อด้วยวิธี Pour - Plate Technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 วิธีการ Streak - Plate Technique

การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์เป็นเทคนิคพื้นฐานทางจุลชีววิทยาที่มีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น น้ำ อากาศ พื้น หรือแม้แต่ร่างกายของคนก็มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่หลายชนิดที่อาจปนเปื้อนในหลอดเพาะเชื้อได้ หลักการของการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture Medium) คือ จะต้องแยกเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยวๆ (Single Colony) จำนวนมาก จากนั้นจึงนำเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวไปศึกษารูปร่างลักษณะและคุณสมบัติต่างๆ เพื่อให้ทราบว่าเป็นเชื้อชนิดใด เทคนิคที่นิยมใช้ในการแยกเชื้อบริสุทธิ์คือ วิธี Cross Streak Plate ซึ่งทำได้โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop) แตะตัวอย่างหรือสิ่งส่งตรวจแล้วลากหรือขีด (Streak) ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็ง (Agar Plate) อยู่ให้ได้แนวระนาบติดต่อกัน 4-5 เส้น หลังจากเสร็จในระนาบแรกซึ่งมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่หนาแน่นที่สุด ให้นำห่วงเขี่ยเชื้อมาเผาไฟให้ลวดที่ปลายร้อนแดงเพื่อฆ่าเชื้อที่ติดให้หมด จากนั้นจึงขีดเชื้อจากส่วนของรอยลากในระนาบแรกออกมาเพียงหนึ่งครั้งแล้วลากเป็นระนาบที่สอง 4 - 5 เส้น ติดกันโดยรอยขีดของเชื้อจะไม่ทับกับระนาบแรกอีก หลังจากนั้นก็ทำเช่นเดียวกันกับระนาบที่สองจนครบทั่วทั้งจานเพาะเชื้อซึ่งมีประมาณสี่ระนาบ เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจะมีการศึกษาเชื้อต่อไปในด้านต่างๆ ซึ่งจะต้องมีการถ่ายเชื้อจากอาหารเดิมไปยังอาหารใหม่ หรือมีการเพาะเชื้อลงในอาหารเพื่อการทดสอบและการวิเคราะห์ต่างๆ ดังนั้นวิธีการที่ถูกต้องในการถ่ายเชื้อจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งซึ่งต้องอาศัยหลักการของ Aseptic Technique เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นซึ่งจะทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้ โดยในขั้นตอนการถ่ายเชื้อจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียจะใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ และเข็มเขี่ยเชื้อปลายตรง ส่วนเชื้อราที่เป็นเส้นสาย (Filamentous Fungi) จะใช้เข็มเขี่ยปลายงอ [3]



(ก) ขั้นตอนการเผาไฟเพื่อฆ่าเชื้อ (ข) การใช้ Loop เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการ

(ค) การ Streak เชื้อบนอาหารเพาะเชื้อ (ง) เชื้อโคโลนีที่ได้

รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการเพาะเชื้อด้วยวิธี Streak - Plate Technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

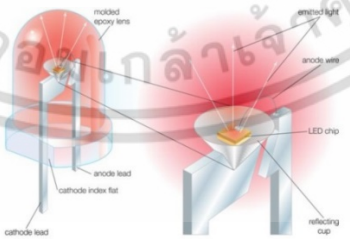
2.3 วิธีการนับเชื้อโคโลนีแบบดั้งเดิม

การนับจำนวนโคโลนีเป็นวิธีการพื้นฐานในการหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย โดยอาศัยหลักการว่าแบคทีเรียที่มีชีวิตเมื่อได้รับสารอาหารจะสามารถเจริญเติบโต และแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนทับถมกันจนเป็นโคโลนี ดังนั้น 1 โคโลนีจึงหมายถึงการเจริญเติบโตและแบ่งตัวจากเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้น 1 เซลล์ วิธีการทั่วไปที่ใช้ในทางปฏิบัติคือ การนับจำนวนของแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งขั้นตอนต่อไปนี้ [4]

1. เพาะตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
2. ตรวจสอบจานเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีเกิดขึ้น หลังจากที่ได้บ่มในระยะเวลาที่เหมาะสม
3. เลือกจานที่โคโลนีปรากฏขึ้นระหว่าง 30 - 300 โคโลนี ซึ่งจะเป็นตัวอย่างที่ดีที่สุด
4. ใช้ Light Box หรือ Colonies Counter แล้วใช้ปากกาทำเครื่องหมายบริเวณโคโลนีที่นับแล้วเพื่อป้องกันการนับซ้ำ โดยปกติแล้วจะนับโคโลนีที่อยู่ในช่วง 30 - 300 โคโลนี เพื่อจะเป็นเรื่องง่ายในการปฏิบัติต่อไป
5. ทำการบันทึกข้อมูลโดยมีรายละเอียดคือ หมายเลขของจานเพาะเชื้อและจำนวนโคโลนีที่นับได้
6. สมมติฐาน : มี 2 สมมติฐานที่ใช้ คือ
   6.1 ทุกเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียเป็นโคโลนี
   6.2 โคโลนีที่นับแต่ละครั้งจะถูกสร้างขึ้นจากเซลล์หนึ่งเซลล์

2.4 หลักการทำงานของหลอดแอลอีดี

หลอดแอลอีดี (LED) หรือไดโอดเปล่งแสง (Light-Emitting Diode) เป็นอุปกรณ์สารกึ่งตัวนำอย่างหนึ่งจัดอยู่ในจำพวกไดโอดที่สามารถเปล่งแสงในช่วงสเปกตรัมแคบ เมื่อถูกไบอัสทางไฟฟ้าในทิศทางไปข้างหน้า ปรากฏการณ์นี้อยู่ในรูปของอิเล็กโทรลูมินิเซนต์ (Eletroluminescence) สีของแสงที่เปล่งออกมานั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุกึ่งตัวนำที่ใช้ ซึ่งสามารถเปล่งแสงได้ในช่วงแสงต่างๆ ดังนี้ ช่วงใกล้อัลตราไวโอเลต ช่วงแสงที่มองเห็น และช่วงอินฟราเรด



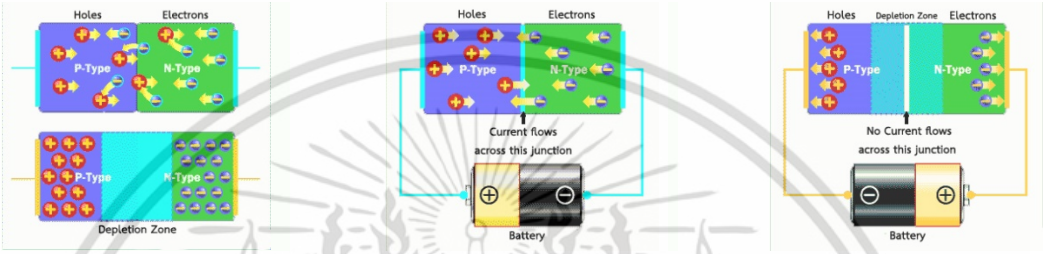
รูปที่ 2.4 หลอดแอลอีดี

หลอดแอลอีดีนั้นมีหลักการเหมือนไดโอดทั่วๆ ไป โดยเกิดจากการนำสารกึ่งตัวนำชนิด N ติดเข้ากับสารกึ่งตัวนำชนิด P เมื่อยังไม่มีการให้แรงดันไฟฟ้า อิเล็กตรอนอิสระจาก N จะเคลื่อนที่ข้ามรอยต่อไปที่ P เกิดโซนดีพลีชั่น (Depletion Zone) ขึ้น โซนนี้เปรียบเทียบได้กับกำแพงป้องกันการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน ถ้าโซนนี้มีขนาดใหญ่ขึ้น การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนอิสระจะยากขึ้น และอาจทำให้อิเล็กตรอนหยุดการเคลื่อนที่ได้ อย่างไรก็ตามถ้าโซนนี้มีขนาดที่เล็กลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนก็จะง่ายขึ้น ดังนั้นทำได้โดยการต่อขั้ว N ของไดโอดเข้ากับขั้วลบของแหล่งจ่ายไฟ และขั้วบวกเข้ากับขั้ว P ทำให้อิเล็กตรอนอิสระใน N ถูกดันด้วยแรงดันทางไฟฟ้า ส่วนโฮล (Hole) ขั้ว P จะถูกดันด้วยแรงทางไฟฟ้าเช่นเดียวกัน ถ้าให้แรงดันทางไฟฟ้ามากพอ โซนนี้จะแคบจนหายไป และอิเล็กตรอนอิสระสามารถเคลื่อนที่ผ่านรอยต่อได้อย่างง่ายดาย เหมือนกับไม่มีแรงเสียดทานหรือความต้านทาน แสดงดังรูปที่ 2.5(ข)

ในทางกลับกัน ถ้าต่อขั้วลบเข้ากับ P และขั้วบวกเข้ากับ N การไหลของอิเล็กตรอนจะเป็นไปได้ยาก เพราะการเคลื่อนที่เป็นไปในทิศทางตรงกันข้าม โซนดีพลีชั่นจะหนาขึ้นเป็นกำแพงกั้นการไหลของกระแสไฟฟ้า แสดงดังรูปที่ 2.5(ค)



(ก) กรณีไม่มีแหล่งพลังงาน (ข) ขั้วบวกเข้า P ขั้วลบเข้า N (ค) ขั้วบวกเข้า N ขั้วลบเข้า P

รูปที่ 2.5 หลักการทำงานของหลอดแอลอีดี

แสงเกิดขึ้นจากพลังงานที่ปลดปล่อยจากอะตอม แสงเป็นโฟตรอนที่มีพลังงานและโมเมนตัม ดังนั้นจึงเป็นอนุภาคชนิดหนึ่ง ภายในอะตอมอิเล็กตรอนจะโคจรรอบนิวเคลียสและมีวงโคจรหลายวง แต่ละวงมีพลังงานแตกต่างกัน วงนอกมีพลังงานมากกว่าวงใน ถ้าอะตอมได้รับพลังงานจากภายนอก อิเล็กตรอนจะกระโดดจากวงโคจรในออกสู่วงโคจรนอก ในทางกลับกัน ถ้าอิเล็กตรอนกระโดดจากวงโคจรนอกเข้าสู่วงโคจรใน มันจะปลดปล่อยพลังงานออกมา และพลังงานนี้ก็คือแสงนั่นเอง ขณะที่อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ผ่านรอยต่อไปที่โฮล (Hole) ของสาร P อิเล็กตรอนจะตกจากวงโคจรสูง หรือแถบนำไฟฟ้าไปสู่วงโคจรต่ำหรือแถบวาเลนซ์ มันจะปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของโฟตรอน ปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นกับไดโอดทุกชนิด แต่จะสามารถเห็นแสงได้ก็ต่อเมื่อความถี่ของพลังงานอยู่ในช่วงความถี่ที่ตามองเห็นได้ ดังเช่นไดโอดที่ทำจากซิลิคอน ซึ่งมีช่วงของแถบพลังงานแคบ ทำให้ได้โฟตรอนความถี่ต่ำ เป็นความถี่ที่ตามองเห็นได้ [5]

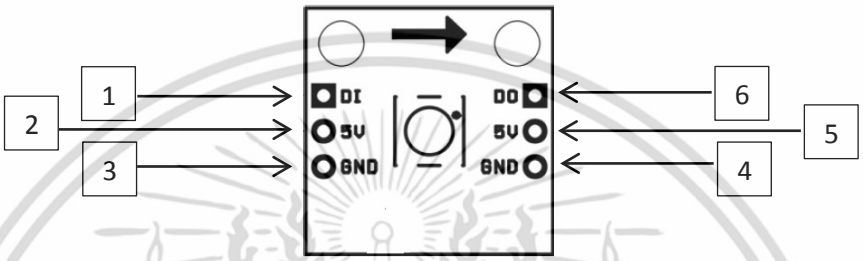
2.5 การทำงานของไอซี LED เบอร์ WS2812B

WS2812B เป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ซึ่งได้รวมหลอดแอลอีดีชนิด RGB กับไอซี WS2811 ไว้ด้วยกัน โดยภายในไอซี WS2812B จะประกอบไปด้วย วงจรปรับรูปสัญญาณ, วงจร Drive, วงจรควบคุมพิกเซล RGB, วงจรรีเซต, วงจร Power Lose Reset และภายในแอลอีดีแต่ละหลอดก็จะประกอบด้วยแม่สี 3 สี คือ สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ซึ่งจะให้ความละเอียดบิตสีได้สูงถึง 24 บิตสี RGB (3 x 8 บิต = 24 บิต) โดยในแต่ละสีจะแสดงความสว่างได้ 256 ระดับ นั่นหมายความว่าหลอดแอลอีดีแบบ RGB นี้สามารถแสดงสีได้ทั้งหมด 16,777,216 สี และเมื่อใช้อัตราการ Refresh อยู่ที่ 30 fps จะสามารถนำโมดูลนี้มาต่อกันแบบ Cascade หรือแบบอนุกรมได้ทั้งหมด 1024 หลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยไม่จำเป็นต้องเพิ่มวงจรใดๆ ในส่วนของขั้นตอนการควบคุมจะใช้การอินเตอร์เฟส (Interface) ด้วยสายเพียงเส้นเดียวแบบ NRZ (Non Return to Zero) คือส่งข้อมูล (Data) ในแบบอนุกรม (Serial) โดยข้อมูล 0 หรือ 1 นั้น จะถูกกำหนดด้วยคาบเวลาซึ่งมีลักษณะเหมือนกับสัญญาณพัลล์ (Pulse) โดยจะใช้สัญญาณ 1 คาบเวลาต่อ 1 บิตข้อมูล (Bit Data) เป็นตัวกำหนดข้อมูล 0 หรือ 1 ตัวโมดูลนี้สามารถรองรับอินพุต ได้ทั้งในแบบ TTL 5 โวลต์ และ 3.3 โวลต์ แต่ไฟเลี้ยงโมดูลนี้จะต้องเป็นดีซี 5 โวลต์ เท่านั้น

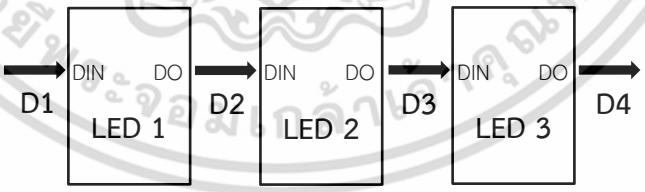
2.5.1 โครงสร้างของโมดูล ไอซี LED เบอร์ WS2812B



รูปที่ 2.6 ตำแหน่งขาต่อใช้งานไอซี LED เบอร์ WS2812B

โดยที่

1 = DI คือ ขาอินพุตรับสัญญาณ Serial Data Bit Color/รองรับสัญญาณ TTL 5V
2 = 5V คือ ไฟเลี้ยงโมดูล DC 5V
3 = GND คือ Ground
4 = GND คือ Ground
5 = 5V คือ ไฟเลี้ยง DC 5V ให้กับโมดูลตัวต่อไป
6 = DO คือ ขาเอาต์พุตสำหรับส่ง Serial Data Bit Color สำหรับโมดูลตัวต่อไป



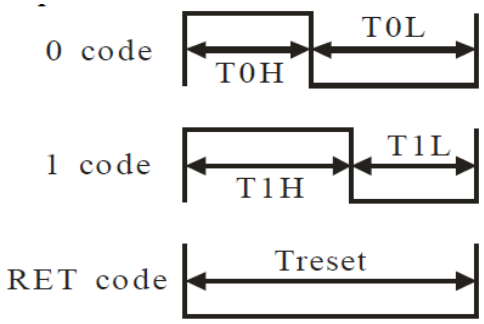
รูปที่ 2.7 การต่อโมดูล (Module) แบบ Cascade

2.5.2 การควบคุมทำงานของไอซี LED เบอร์ WS2812B

โดยสิ่งสำคัญในการควบคุมนี้ จะอยู่ที่วิธีการสร้างสัญญาณลอจิก 0, 1 และรีเซต ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความสามารถของทรัพยากรของไมโครคอนโทรลเลอร์ ว่าสามารถสร้างสัญญาณได้ตามที่โมดูลต้องการหรือไม่ โดยจะใช้การส่งข้อมูลของ SPI เป็นตัวสร้างสัญญาณ ซึ่งมีกระบวนการดังนี้

1. เริ่มต้นจะต้องสร้างสัญญาณขึ้นมา 3 แบบ คือ สัญญาณ ลอจิก 0, ลอจิก 1 และ สัญญาณรีเซต โดยสัญญาณทั้ง 3 รูปแบบนี้จะเกี่ยวข้องกับเวลาในการ On/Off ของสัญญาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ข้อกำหนดสำหรับสัญญาณดิจิตอลที่ใช้กำหนดค่าบิตแต่ละบิต สำหรับ WS2812B

ตารางที่ 2.1 ค่าความกว้างของช่วง HIGH และ LOW ที่กำหนดค่าของแต่ละบิต (สำหรับ data rate =16 MHz) โดยที่ TH + TL = 1.25 us ± 150ns

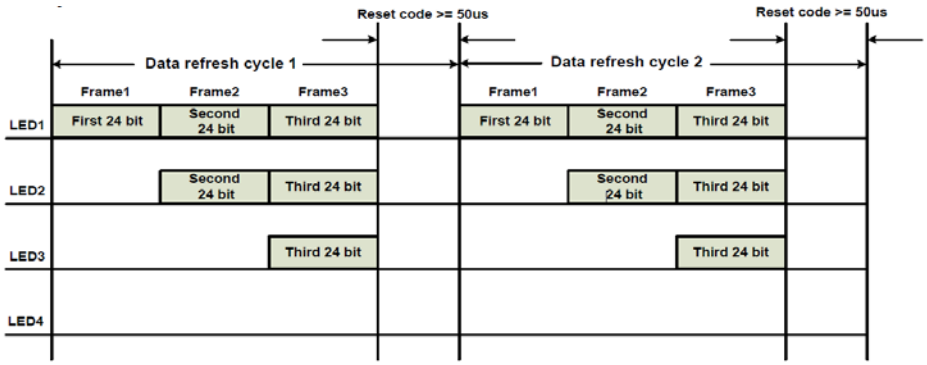
ช่วง	High / Low	เวลา	ความคลาดเคลื่อน
T0H	0 code ,high voltage time	0.35 us	± 150 ns
T1H	1 code ,high voltage time	0.9 us	± 150 ns
T0L	o code ,low voltage time	0.9 us	± 150 ns
T1L	1 code ,low voltage time	0.35 us	±150 ns
RES	low voltage time	Above 50 us	

2. ส่งข้อมูลลอจิกโค้ด (Logic Data Code) สี 24 บิตไปยังขา DI ของโมดูลหลอดแอลอีดี โดยการส่ง Code 0 หรือ 1 ตามตารางที่ 2.1 ออกไป 1 คาบเวลา ก็จะหมายถึงการส่งข้อมูล 0 หรือ 1 ออกไปให้โมดูลแอลอีดี 1 บิต นั่นเอง ซึ่ง Code สี 24 บิต ที่ส่งออกไปนั้นจะมีการจัดเรียงบิตแบบ GRB แสดงดังรูปที่ 2.9 และจำเป็นต้องส่งข้อมูลบิต MSB (Most Significant Bit) ออกไปเป็นบิตแรก

รูปที่ 2.9 การจัดเรียงบิตแบบ GRB

3. ฟังก์ชันสำหรับส่ง Frame Data โดยการส่งข้อมูล 1 Frame ก็คือ การส่งข้อมูลสี 24 บิต ในข้อ 2 นั่นเอง ซึ่งการส่งข้อมูล 1 Frame นี้จะเป็นการกำหนดสีให้กับแอลอีดี 1 หลอดนั่นเอง ดังนั้น จำนวน Frame ที่ส่งแต่ละครั้งก็จะต้องเท่ากับจำนวนหลอดแอลอีดีที่ต่อ Cascade กันอยู่ทั้งหมด โดย Frame ที่ส่งออกไป Frame แรก จะเป็นการกำหนดสีให้กับแอลอีดีหลอดแรก Frame ที่ส่งออกไป Frame ที่ 2 ก็จะเป็นการกำหนดสีให้กับแอลอีดีหลอดที่ 2 ที่ต่อ Cascade อยู่ตามลำดับเช่นนี้ไปเรื่อยๆ เมื่อส่ง Frame ครบตามจำนวนหลอดแอลอีดี ที่ต่อแล้วก็จะต้องปิดท้ายด้วยสัญญาณรีเซตเสมอ เพื่อให้ Frame ที่ส่งต่อมา หลังสัญญาณรีเซตจะเริ่มต้นกำหนดค่าสีให้กับแอลอีดีหลอดแรกใหม่อีกครั้ง ซึ่งสามารถเขียนเป็นไดอะแกรม แสดงดังรูปที่ 2.10

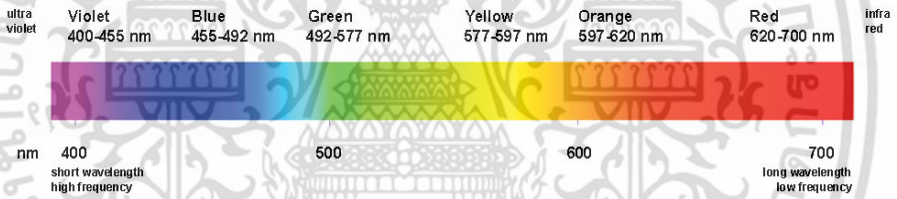
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 ขั้นตอนการส่ง Frame Data

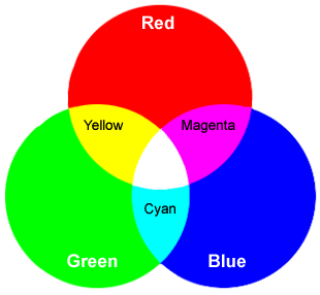
2.6 แสง

แสงที่มนุษย์มองเห็น (Visible Spectrum) เป็นแสงสีขาว (Light White) มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 380 – 750 นาโนเมตร เมื่อส่องผ่านแท่งแก้วปริซึม จะเกิดการหักเหให้แสงสีรุ้ง จำนวน 7 สี คือ ม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง ส้ม แดง ซึ่งเกิดจากความยาวคลื่นและแอมพลิจูดที่แตกต่างกัน โดยมีความยาวคลื่นเป็นตัวกำหนดสี (Hue) และแอมพลิจูดเป็นตัวกำหนดความสว่างของสี (Brightness) [6]



รูปที่ 2.11 ความยาวคลื่นแสงในช่วงที่มนุษย์มองเห็น

โดยที่แสงสีขาวจะประกอบด้วยแสงสีหลัก 3 สี คือ แสงสีแดง แสงสีเขียว และแสงสีน้ำเงิน ถ้าสีมีความเข้มมากพอ เมื่อนำมาผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน จะทำให้เกิดเป็นสีขาว เรียกว่า สีปฐมภูมิ (Primary Color) หรือการผสมสีแบบบวก (Additive Color) หากนำสีปฐมภูมิมาผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน จะทำให้เกิดเป็นสีเรียกว่า สีทุติยภูมิ (Secondary Color) หรือการผสมแสงสีแบบลบ (Subtractive Color) ได้แก่ สีฟ้า (Cyan) สีแดงม่วง (Magenta) และสีเหลือง (Yellow) แสดงดังรูปที่ 2.12

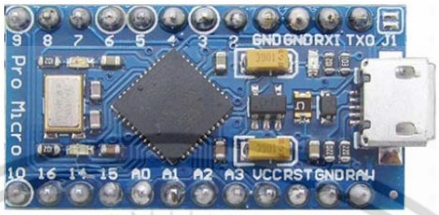


รูปที่ 2.12 สีปฐมภูมิและสีทุติยภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino Leonardo Pro Micro (ATmega32U4)

บอร์ด Arduino Leonardo เป็นบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ตระกูล AVR ที่สามารถพัฒนาโปรแกรมด้วยภาษา C หรือ C++ ของ Arduino ซึ่งเป็นรูปแบบ Open Source โดยในบอร์ดนี้ใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ของ AVR เบอร์ ATMEGA32U4 ที่มี USB Port ในตัว ทำให้สามารถใช้งาน Serial Port และดาวน์โหลดโปรแกรมได้โดยตรงกับขั้ว USB Port ของเครื่องคอมพิวเตอร์ได้



รูปที่ 2.13 Leonardo Pro Micro

2.7.1 คุณสมบัติที่สำคัญ

- ใช้ ATMEGA32U4 แบบ เป็น MCU ประจำบอร์ด ทำงานที่ 5 โวลต์ และความถี่ 16MHz
- หน่วยความจำแบบ FLASH 32 KBYTE (สงวนไว้ 4 KBYTE สำหรับ BOOTLOADER), RAM 2.5 KBYTE, EEPROM 1 KBYTE
- มี USB คอนโทรลเลอร์ในตัว ซึ่งเป็น USB 2.0 FULL SPEED/LOW SPEED
- ในการพัฒนาด้วยโปรแกรม Arduino สามารถโปรแกรมได้ทันที ผ่านทาง Port USB โดยไม่ต้องมีเครื่องโปรแกรมภายนอก ใช้งานได้บนระบบปฏิบัติการ Windows 98/XP/2000/VISTA/7/8 /MAC OSX/LINUX
- มี 12 พอร์ตสำหรับต่ออินพุต เอาต์พุต แบบดิจิตอล และ 5 พอร์ตสามารถต่อใช้งาน PWM ได้
- มี 4 พอร์ตสำหรับการต่อแบบ ADC (Analog to Digital Converter) โดยมีความระเอียดที่ 10 บิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การประมวลผลภาพดิจิตอลที่ใช้ในงานวิจัย

3.1 บทนำ

ในขั้นตอนการจำแนกสีและนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ผู้เชี่ยวชาญนั้น ต้องอาศัยทั้งประสบการณ์และลักษณะการมองเห็นของมนุษย์ที่จะสามารถแยกแยะลักษณะและสีได้ แต่เมื่อใช้คอมพิวเตอร์มาช่วยในการวิเคราะห์ภาพถ่ายของจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่นั้น เป็นที่น่าสนใจว่าคอมพิวเตอร์สามารถแยกแยะภาพเหล่านั้นได้อย่างไร นั่นก็คือ ต้องอาศัยการประมวลผลภาพดิจิตอล (Digital Image Processing) ซึ่งเป็นวิทยาศาสตร์แขนงหนึ่งที่กำลังพัฒนาอย่างต่อเนื่องและใช้กันอย่างกว้างขวาง เช่น ทางด้านสิ่งพิมพ์ อุตสาหกรรม ทางการแพทย์ และการค้นคว้าทางด้านวิทยาศาสตร์ เป็นต้น สำหรับในบทนี้ จะกล่าวถึงหลักการประมวลผลเบื้องต้น วิธีการทำเทรชโฮลด์ การทำมอร์โฟโลยี วิธีการหาขอบภาพ และการประยุกต์ใช้งาน

3.2 การประมวลผลภาพเชิงตัวเลข

โดยการแทนจุดภาพใดๆ ด้วยฟังก์ชันสองมิติชนิดไม่ต่อเนื่อง f(x, y) ซึ่งเกิดจากการแบ่งซอยฟังก์ชันต่อเนื่อง F(x, y) เป็นช่วง (Quantized) ผลลัพธ์ที่ได้ประกอบด้วยสององค์ประกอบคือ

3.2.1 มาตรแสดงค่าความสว่าง

คือมาตรแสดงค่าความสว่างของจุดภาพใดๆ จากการวัดแล้วแปลงเป็นค่าตัวเลข (Amplitude Digitization) ซึ่งจะเรียกว่าความเข้ม ในกรณีของภาพสี จะหมายถึงค่าระดับของแม่สีที่ผสมกันเป็นสีต่างๆ ส่วนภาพขาวดำจะแสดงค่าระดับความเข้มของสีขาว โดยแทนด้วยเลขจำนวนเต็มบวก L จำนวน การแบ่งขั้นของระดับค่า L จะบอกถึงความระเอียดของภาพในเชิงตัวเลข เช่น ภาพที่มีระดับความเข้มหลายระดับจะถูกเรียกว่าภาพระดับสีเทา (Gray scale image) ในทางคอมพิวเตอร์นิยมแบ่งค่าระดับความเข้ม L ให้เหมาะสมกับจำนวนบิต เช่น ภาพระดับสีเทาที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีขนาด 8 บิต จึงสามารถแบ่งระดับของความเข้มออกเป็น 256 ระดับ (2^8=256) ซึ่งแสดงได้ดังสมการที่ (3.1)

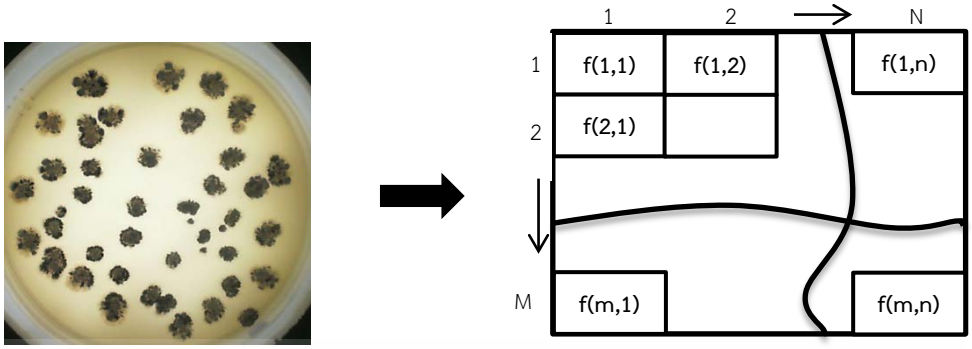
$$f(x, y) = L \quad , 0 \le L \le 2^n-1 \tag{3.1}$$

โดยที่ x, y คือ พิกัดตำแหน่งจุดภาพ f
n คือ จำนวนบิตของรหัสแทนค่าความเข้มของจุดภาพ
L คือ ค่าแสดงความเข้มจุดภาพ

3.2.2 พิกัดตำแหน่งจุดภาพ

โดยการแบ่งภาพที่ต่อเนื่องกันให้เป็นตาราง (Spatial Digitization) โดยแต่ละช่องของตารางภาพคือ จุดภาพ (Pixel) และแทนตำแหน่งที่อยู่ของจุดภาพด้วยฟังก์ชันสองมิติในระนาบแกน x, y หรือใช้เมตริกซ์สองมิติขนาด M x N แสดงดังรูปที่ 3.1 โดยเรียกวิธีการนี้ว่าการสุ่มจุดภาพ (Image Sampling)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) ภาพต้นฉบับ (ข) ภาพที่แปลงเป็นดิจิตอล

รูปที่ 3.1 การแทนภาพด้วยเมตริกซ์สองมิติ

3.3 การตัดระดับเทรชโฮลด์ (Thresholding)

3.3.1 การทำเทรชโฮลด์ (Thresholding)

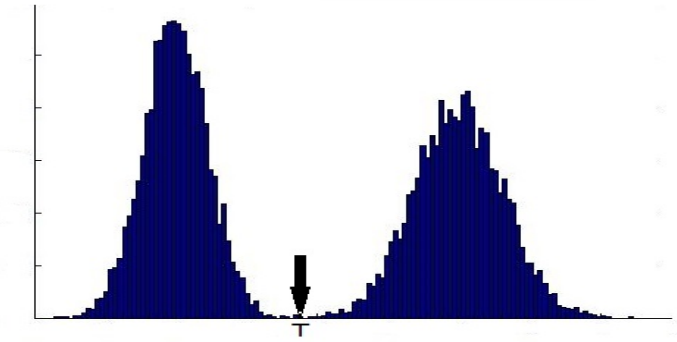
การตัดค่าระดับเทรชโฮลด์ (Thresholding) เป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้กัน เพื่อแยกส่วนที่เป็นวัตถุและพื้นหลังออกจากกัน ซึ่งมีวิธีการคือ นำจุดภาพใดๆ บนภาพต้นฉบับ f(x, y) มาเปรียบเทียบกับค่าแบ่งระดับความเข้ม T หรือเรียกว่าค่าเทรชโฮลด์ Threshold ถ้าจุดของภาพต้นฉบับมีค่าความเข้มมากกว่าหรือเท่ากับค่าแบ่งระดับความเข้ม จะกำหนดให้ภาพผลลัพธ์ f'(x, y) มีค่าเป็น '1' นอกนั้นจะให้ค่าเป็น '0' ซึ่งแสดงดังสมการที่ (3.2)

$$f'(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } f(x, y) \geq T \\ 0 & \text{if } f(x, y) < T \end{cases} \qquad (3.2)$$

โดยที่ f'(x, y) คือ จุดภาพผลลัพธ์ชนิดความเข้มสองระดับ
T คือ ค่าเทรชโฮลด์
f(x, y) คือ จุดภาพต้นฉบับ

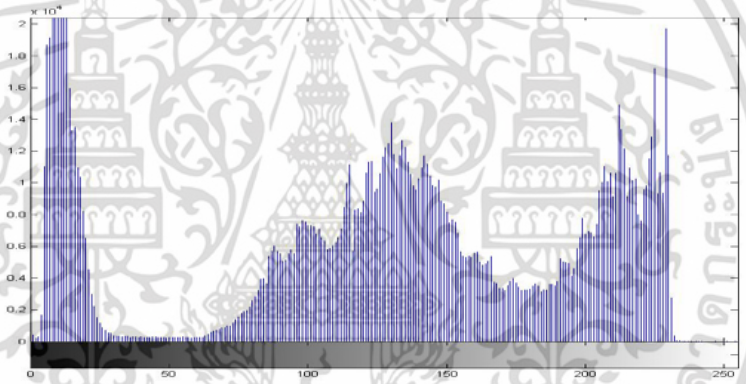
ภาพความเข้มสองระดับจะให้ค่า '1' แทนวัตถุ หรือเนื้อภาพ (Foreground) และให้ค่า '0' แทนส่วนที่เป็นพื้นหลัง (Background) เนื่องจากการแทนค่าความเข้มด้วยตัวเลขของภาพชนิดนี้ใช้เพียงสองค่าเท่านั้น จึงเรียกภาพชนิดนี้ว่า ภาพไบนารี (Binary Image) คุณภาพของภาพ ไบนารีย่อมขึ้นอยู่กับค่าเทรชโฮลด์ที่ใช้ ปกตินั้นการเลือกค่าเทรชโฮลด์จะได้มาจากค่า ฮิสโตแกรมของภาพ (Histogram) หากฮิสโตแกรมของภาพมีลักษณะเป็นแบบไบโมดอล (Bimodal Histogram) แสดงดังรูปที่ 3.2 จะสามารถเลือกค่าเทรชโฮลด์ได้จากค่าฮิสโตแกรมจุดต่ำสุดที่อยู่ระหว่างจุดสูงสุด (Peak)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 ฮิสโตแกรมและตำแหน่งเทรชโฮลด์

แต่สำหรับภาพของเชื้อโคโลนี ไม่สามารถหาค่าเทรชโฮลด์ด้วยวิธีดังกล่าวได้ เนื่องจากจำนวนจุดภาพของวัตถุและจำนวนจุดภาพของพื้นหลังมีจำนวนแตกต่างกันมากซึ่งไม่สมดุลกัน ฮิสโตแกรมของภาพจึงไม่เป็นแบบไบโมดอล ดังแสดงในรูปที่ 3.3 แต่ก็ได้นำเสนอวิธีการหาค่าเทรชโฮลด์ที่เหมาะสมดังที่จะกล่าวต่อไป



รูปที่ 3.3 ฮิสโตแกรมของภาพที่มีโคโลนี

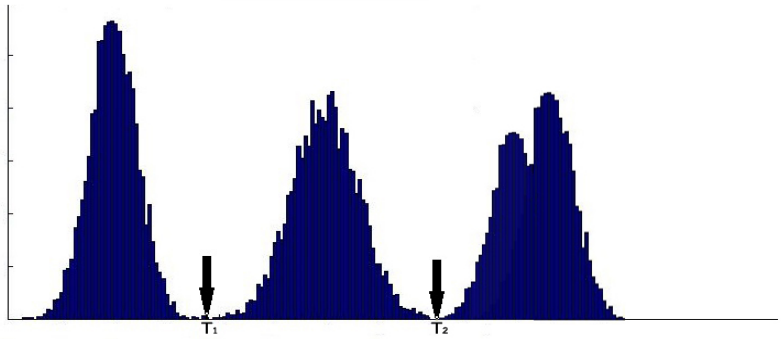
3.3.2 การทำเทรชโฮล์หลายระดับ (Multilevel Threshold)

ในบางครั้งโคโลนีอาจมีค่าระดับความเข้มที่แตกต่างกันออกไปเพื่อให้การแยกโคโลนีกับพื้นหลังมีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องกำหนดค่าระดับเทรชโฮลด์ (T) ให้มีค่ามากกว่าหนึ่งค่าขึ้นไป ในที่นี้กำหนดค่าเทรชโฮลด์คือ T_1 และ T_2 แสดงดังรูปที่ 3.4 จะเห็นได้ว่าค่าเทรชโฮลด์ T_1 และ T_2 จะเป็นค่าที่ทำให้แยกวัตถุของภาพออกจากพื้นหลังได้ โดยกำหนดให้

ถ้า $f(x, y) < T_1$ แล้ว $g(x, y) = 0$
ถ้า $T_1 \leq f(x, y) \leq T_2$ แล้ว $g(x, y) = 255$
ถ้า $f(x, y) > T_2$ แล้ว $g(x, y) = 0$

โดยที่ $f(x, y)$ คือ จุดภาพต้นฉบับที่อยู่ในระดับเทา
$g(x, y)$ คือ ภาพผลลัพธ์ที่จุดพิกัด (x, y) ใดๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 ฮิสโตแกรมและตำแหน่งเทรชโฮลด์

3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างพิกเซล

หลังจากการผ่านกระบวนการตัดระดับเทรชโฮลด์ มาแล้วจะได้ภาพไบนารี โดยพิกเซลที่มีค่า ‘1’ แทนส่วนที่เป็นวัตถุ และพิกเซลที่มีค่า ‘0’ แทนส่วนที่เป็นพื้นหลัง กำหนดให้ภาพแทนด้วย f(x, y) และเมื่ออ้างถึงพิกเซลใดๆ จะแทนด้วยอักษรตัวเล็ก เช่น p และ q จะมีความสัมพันธ์ระหว่างพิกเซลได้ ดังนี้

3.4.1 จุดรอบข้างของพิกเซล

- พิกเซล p ที่ตำแหน่ง (x, y) จะมีจุดรอบข้างในแนวตั้งและแนวนอน 4 จุด คือ

(x + 1,y), (x - 1,y), (x,y + 1), (x,y - 1)

- เรียกว่า 4-neighbors ของจุด p แทนด้วย $N_4(p)$ โดยที่แต่ละพิกเซลมีระยะห่างจาก (x, y) 1 หน่วย ส่วนจุดรอบข้างในแนวทแยงมุมของจุด p คือ

(x + 1,y + 1), (x + 1,y - 1), (x -1,y + 1), (x – 1,y - 1)

ทั้งสี่จุดนี้แทนด้วย N_DP และเมื่อรวมกับ 4-neighbors จึงเรียกว่า 8-neighbors ของจุด p แทนด้วย $N_8(p)$ แสดงดังรูปที่ 3.5

(ก) จุดรอบข้าง 4-neighbors (ข) จุดรอบข้าง 8-neighbors

รูปที่ 3.5 จุดรอบข้างของพิกเซล

3.4.2 การเชื่อมต่อ

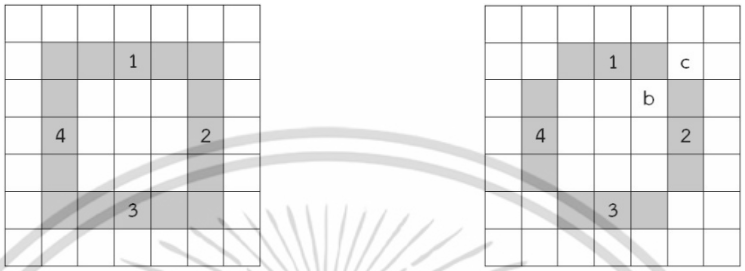
รูปแบบการเชื่อมต่อ (Connectivity) ระหว่างพิกเซล มีความสำคัญอย่างมากในการหาขอบของวัตถุในภาพ โดยทั่วไปมีการเชื่อมต่อ 2 แบบ คือ

- **4-Connectivity** คือ สองพิกเซล p และ q ที่มีค่า ‘1’ จะเชื่อมต่อแบบ 4-connectivity เมื่อ q อยู่ในเซตของ N_4 (p)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **8-Connectivity** คือ สองพิกเซล p และ q ที่มีค่า ‘1’ จะเชื่อมต่อแบบ 8-Connectivity เมื่อ q อยู่ในเซตของ N_8 (p)

ดังแสดงในรูปที่ 3.6(ข) เป็นการเชื่อมต่อชนิด 8-Connectivity ทำให้ด้าน 1, 2, 3 และ 4 เชื่อมต่อถึงกัน แต่ก็จะสังเกตเห็นว่าส่วนที่เป็นพื้นหลัง (สังเกตที่จุด b และ c) จะเชื่อมต่อถึงกันด้วย ดังนั้นจึงกำหนดให้วัตถุเชื่อมต่อกันแบบ 8-Connectivity และพื้นหลังเชื่อมต่อกันแบบ 4-Connectivity



(ก) แบบ 4-connectivity (ข) แบบ 8-connectivity

รูปที่ 3.6 ชนิดของการเชื่อมต่อ

3.4.3 การใส่เลเบลให้กับจุดที่ติดกัน (Connected-component Labeling)

กลุ่มข้อมูลของภาพรูปที่ 3.7(ก) เป็นภาพไบนารีที่มีข้อมูลอยู่ติดกันเป็นกลุ่มหรือก้อนเดียวกัน หากพิจารณารูปแบบการเชื่อมต่อระหว่างพิกเซล เพื่อกำหนดเลเบลให้กลุ่มก้อนของข้อมูลไบนารี ผลลัพธ์ที่ได้จะทำให้ข้อมูลในแต่ละกลุ่มก้อนที่อยู่แยกกันนั้น จะได้เลเบลที่แตกต่างกัน แสดงดังรูปที่ 3.7(ข) ภาพที่ผ่านการใส่เลเบล

1	1	1	0	0	0	0	0
1	1	1	0	1	1	0	0
1	1	1	0	1	1	0	0
1	1	1	0	0	0	1	0
1	1	1	0	0	0	1	0
1	1	1	0	0	0	1	0
1	1	1	0	1	1	1	0
1	1	1	0	0	0	0	0

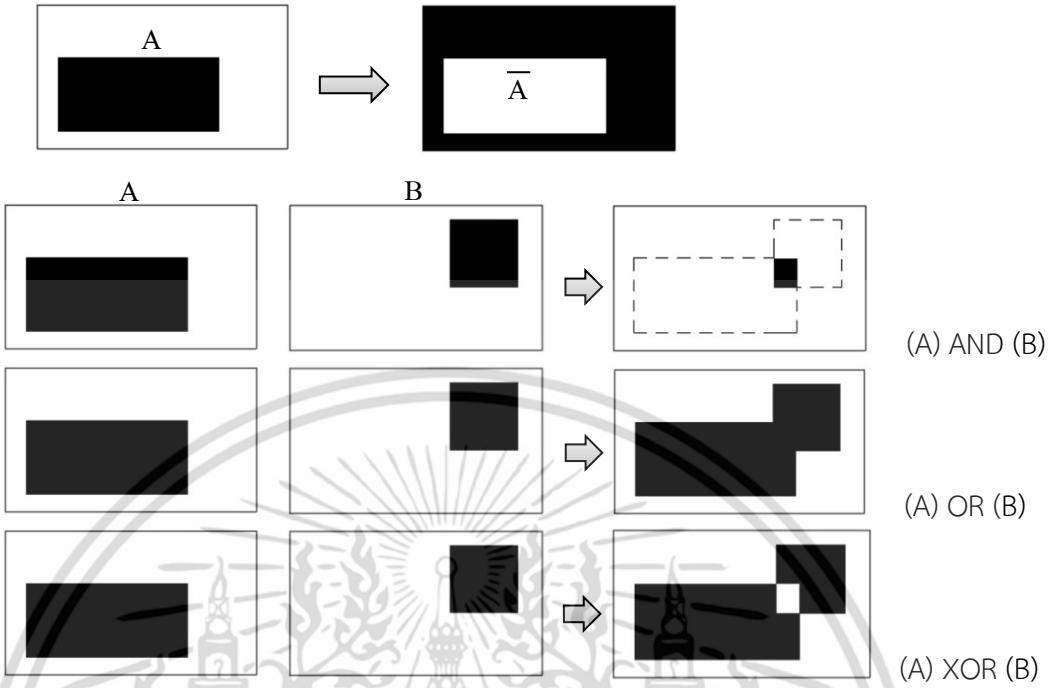
1	1	1	0	0	0	0	0
1	1	1	0	2	2	0	0
1	1	1	0	2	2	0	0
1	1	1	0	0	0	3	0
1	1	1	0	0	0	3	0
1	1	1	0	0	0	3	0
1	1	1	0	3	3	3	0
1	1	1	0	0	0	0	0

(ก) ภาพไบนารีต้นฉบับ (ข) ภาพที่ผ่านการใส่เลเบล

รูปที่ 3.7 การกำหนดเลเบล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การกระทำทางลอจิก



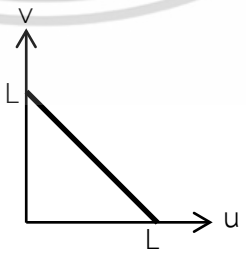
รูปที่ 3.8 ตัวอย่างการกระทำทางลอจิกของภาพไบนารี

เนื่องจากภาพไบนารีนั้น มีข้อมูลที่เป็น 0 กับ 1 เท่านั้น เหมือนกับเลขฐานสองในทางดิจิตอล จึงสามารถนำมากระทำทางลอจิกในลักษณะเดียวกันได้ โดยการกระทำทางลอจิกพื้นฐานได้แก่ NOT, AND, OR และ XOR แสดงดังรูปที่ 3.8

3.5 การทำภาพกลับขาวเป็นดำ (Digital Negative)

ภาพกลับขาวเป็นดำได้จากการกลับระดับเท่าโดยใช้การแปลง แสดงดังรูปที่ 3.9 โดยกำหนดให้

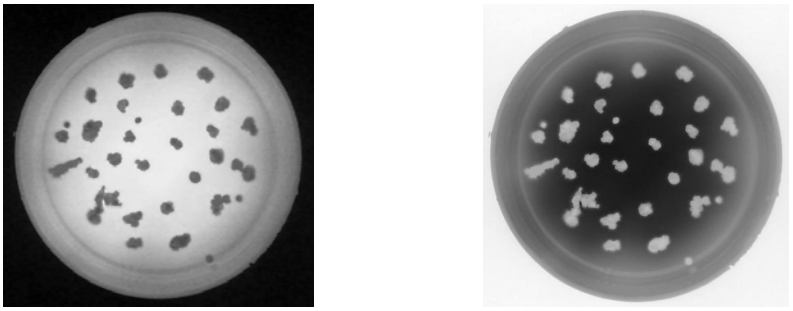
$$v = L - u \tag{3.3}$$



รูปที่ 3.9 การทำภาพกลับขาวเป็นดำ

ซึ่งการดำเนินการทั่วไปจะทำการกลับสีทุกจุดพิกเซลในภาพ โดยสีดำและสีขาวในส่วนประกอบภาพจะกลับกัน พื้นสีเข้มจะกลายเป็นสีอ่อนและพื้นที่มีสีอ่อนจะกลายเป็นสีเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) ภาพต้นฉบับ (ข) ภาพหลังการทำกลับขาวเป็นดำ

รูปที่ 3.10 ตัวอย่างการทำภาพกลับขาวเป็นดำ

3.6 การหาขอบภาพ (Edge Detection)

การหาขอบภาพ (Edge Detection) เป็นวิธีสำหรับการประมวลผลภาพที่มีจุดประสงค์เพื่อการหาขอบเขตในภาพ โดยการทำให้ขอบของภาพนั้นมีความเด่นชัดขึ้นมา เพื่อที่จะทำการหาขอบเขตของภาพต่างๆ ได้ โดยขอบเขตภาพที่เกิดความเด่นชัดขึ้นมานั้นมาจากความแตกต่างระหว่างความเข้มของแสงจากจุดภาพจุดหนึ่งไปยังจุดภาพอีกจุดหนึ่งที่มีความต่อเนื่องกัน โดยขอบภาพจะเด่นชัดหรือไม่นั้น ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงระหว่างจุดภาพ

การหาขอบภาพด้วย Mask เป็นการหาวัตถุในภาพ หรือลายเส้นที่มีระดับความแตกต่างของความเข้มแสงมากๆ ซึ่งมีวิธีที่ใช้ในการหาหลายวิธี เช่น Sobel Operator, Prewitt Operator และ Laplacian Operator เป็นต้น ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้มีความคล้ายคลึงกันมาก แตกต่างกันแค่ Mask ของแต่ละวิธีเท่านั้น แสดงดังรูปที่ 3.11

(ก) ภาพต้นฉบับ (ข) การหาขอบภาพโดยวิธี Prewitt Operator

(ค) การหาขอบภาพโดยวิธี Sobel Operator (ง) การหาขอบภาพโดยวิธี Laplacian Operator

รูปที่ 3.11 ภาพผลลัพธ์ที่ได้จากการหาขอบภาพโดยวิธีต่างๆ

3.6.1 Mask ที่ใช้สำหรับการหาอนุพันธ์ของภาพอันดับที่ 1

Mask 1 มิติ ที่สามารถนำไปใช้หาขอบภาพในแนวแถวและแนวหลักของภาพคือ

$$[-1 \;\; 0 \;\; 1] \qquad \text{และ} \qquad \begin{bmatrix} -1 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mask 2 มิติ ที่สามารถนำไปใช้หาขอบภาพในแนวแถวและแนวหลักของภาพคือ

- Prewitt operator

$$G_x=\begin{bmatrix}-1 & 0 & 1\\ -1 & 0 & 1\\ -1 & 0 & 1\end{bmatrix} \qquad G_y=\begin{bmatrix}-1 & -1 & -1\\ 0 & 0 & 0\\ 1 & 1 & 1\end{bmatrix}$$

- Sobel operator

$$G_x=\begin{bmatrix}-1 & 0 & 1\\ -2 & 0 & 2\\ -1 & 0 & 1\end{bmatrix} \qquad G_y=\begin{bmatrix}-1 & -2 & -1\\ 0 & 0 & 0\\ 1 & 2 & 1\end{bmatrix}$$

โดย G_x คือ Mask ที่ใช้หาขอบภาพในแนวหลักของภาพต้นฉบับ

G_y คือ Mask ที่ใช้หาขอบภาพในแนวแถวของภาพต้นฉบับ

3.6.2 Mask ที่ใช้สำหรับการหาอนุพันธ์ของภาพอันดับที่ 2

วิธีการในการหาขอบภาพอีกรูปแบบหนึ่งคือ การนำเอาวิธีการหาค่าอนุพันธ์ลำดับที่ 2 มาประยุกต์ใช้ หรือที่เรียกว่าการทำแบบ Laplacian Operator โดย Mask 2 มิติ ของ Laplacian Operator ที่สามารถนำมาหาขอบภาพของภาพต้นแบบมีดังนี้

$$\begin{bmatrix}-1 & -1 & -1\\ -1 & 8 & -1\\ -1 & -1 & -1\end{bmatrix} \quad \text{และ} \quad \begin{bmatrix}1 & -2 & 1\\ -2 & 4 & -2\\ -1 & -2 & 1\end{bmatrix}$$

3.7 Morphological Operations

การศึกษารูปแบบโครงสร้างที่เกี่ยวกับพืช และสัตว์ เราเรียกว่ามอร์โฟโลยี (Morphology) วิทยาศาสตร์แขนงนี้ เริ่มปรากฏขึ้นมาจากทฤษฎี Mathematical Morphology อธิบายเกี่ยวกับโครงสร้างในรูปแบบของเรขาคณิตในลักษณะ 2 มิติ และ 3 มิติ อย่างไรก็ตามมอร์โฟโลยีกลับถูกประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์ภาพ ซึ่งทำให้เกิด Image Operations ในลักษณะที่มีโครงสร้างเฉพาะในการเปลี่ยนแปลงภาพ Operations เหล่านี้โดยทั่วไปจะถูกเรียกว่า Morphological Operations

Mathematical Morphology จะอยู่บนพื้นฐานของทฤษฎีเซต ถ้าแทนวัตถุของภาพด้วยเซต จะได้ $A \subset Z^2$

ในกรณีของภาพไบนารีที่มีสองระดับ คือ ขาว และดำ Z^2 คือ Orthogonal Grid มีโดเมนเป็น {0,1} หากกำหนดให้แต่ละหน่วยใน Z^2 มีค่าเท่ากับ ‘1’ เป็นสมาชิกของ A ดังนั้นจุดภาพที่ไม่เป็นสมาชิกใน A จะมีค่าเท่ากับ ‘0’ ดังสมาการที่ (3.4)

ถ้า $A \subset Z^2$ แล้ว

$$a_{n,m}=\begin{cases}1 & \text{if } (n,\ m) \in A\\ 0 & :\ \text{otherwise}\end{cases} \qquad (3.4)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.1 คำนิยามและข้อกำหนด

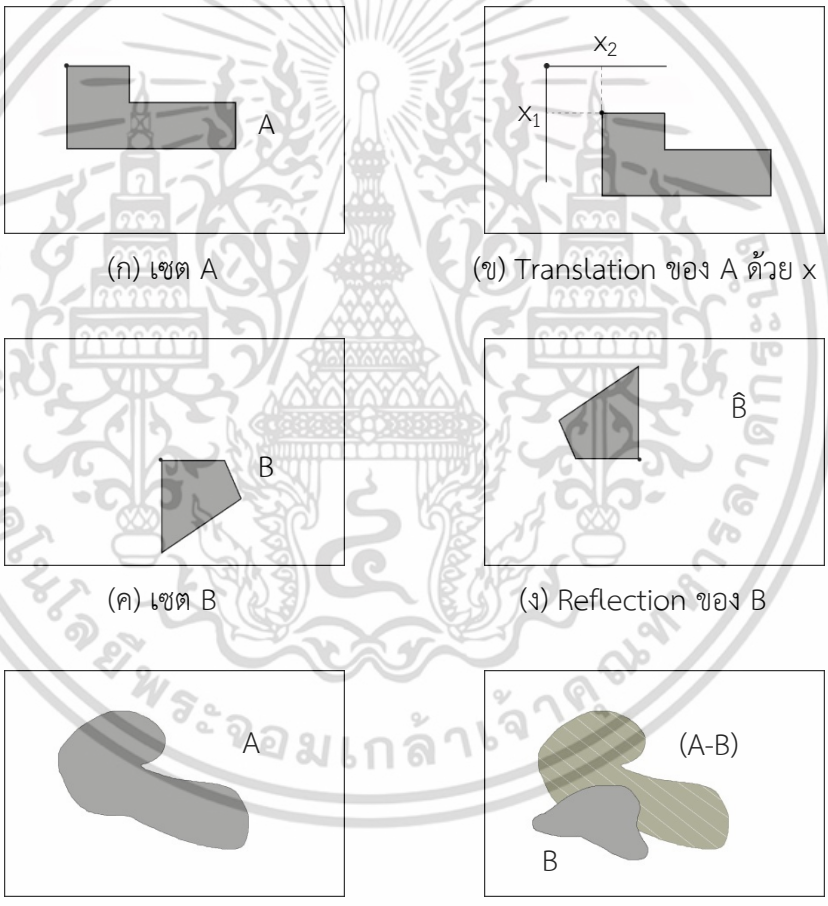
เมื่อกำหนดให้ A และ B เป็นเซตใน Z^2 ซึ่งมีองค์ประกอบ a = (a_1,a_2) และ b = (b_1,b_2) ตามลำดับแล้วจะได้

- Region เป็นการพิจารณาการรวมกันของจุดภาพ จะได้ว่า

$$A=\{a_i \mid i = 1,2\ldots\} \subset Z^2 \tag{3.5}$$

- Complement ของ Region A คือ A^c หมายถึงจุดทั้งหมดที่ไม่อยู่ใน A ดังนั้นเมื่อ A คือวัตถุ แล้ว A^c จะเป็นพื้นหลังแทนด้วย

$$A=\{x \mid x \notin A\} \tag{3.6}$$



(ก) เซต A (ข) Translation ของ A ด้วย x

(ค) เซต B (ง) Reflection ของ B

(จ) เซต A และ Complement (ฉ) Difference ของ A และ B

รูปที่ 3.12 คำนิยามและข้อกำหนดของการทำมอร์โฟโลยี (Morphology)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Translation ของ A โดย x = (x_1, x_2) คือ $(A)_x$ หรือ (A+B) แทนด้วย

$$(A)_x = \{c \mid c = a + x, \text{ for } a \in A\} \tag{3.7}$$

- Reflection ของ B คือ $\hat{B}$ แทนด้วย

$$\hat{B} = \{x \mid x = -b, \text{ for } b \in B\} \tag{3.8}$$

- Difference ของ A และ B คือ A-B ได้จาก

$$A - B = \{x \mid x \in A, x \notin B\} = A \cap B^C \tag{3.9}$$

3.7.2 การเซาะ (Erosion)

การเซาะ (Erosion) เป็น Operation พื้นฐานของมอร์โฟโลยี (Morphology) มีลักษณะที่คล้ายกับการย่อภาพ โดยลบข้อมูลบริเวณของขอบภาพออก การเซาะ (Erosion) ของภาพ A โดยใช้เทมเพลท B สามารถเขียนได้ดังนี้

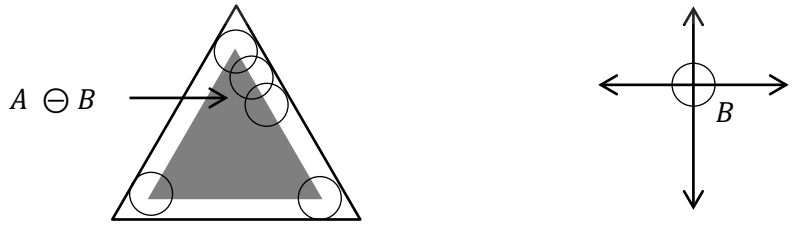
$$A \ominus B = \{x : B+x \subseteq A\} \tag{3.10}$$

จากสมการ (3.10) การทำ Erosion ของ A ด้วย B หมายถึงเซตของจุด x ทุกจุด ที่เมื่อ Translate B ด้วยค่า x แล้วยังอยู่ในภาพ A ดังตัวอย่างในรูปที่ 3.13 ที่แสดงการทำการเซาะ (Erosion) ของสามเหลี่ยม A ด้วยเทมเพลทเป็นรูปวงกลม B โดยผลที่ได้คือพื้นที่ในสามเหลี่ยม

นอกจากนั้นการหาการเซาะ (Erosion) ของภาพยังสามารถหาได้จากการ Intersect ของภาพอินพุตทุกภาพที่ถูก Translates ด้วยค่า Reflection ของเทมเพลท ดังสมการที่ (3.11)

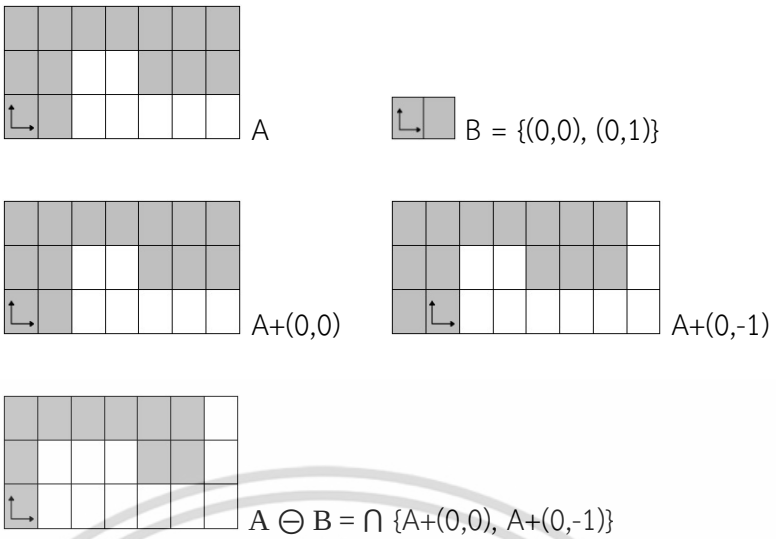
$$A \ominus B = \bigcap\{A+b : b \in -B\} \tag{3.11}$$

ตัวอย่างของการทำการเซาะ (Erosion) ตามสมการที่ (3.11) แสดงดังรูปที่ 3.14 เมื่อลูกศรแสดงตำแหน่งจุดเริ่มต้น (Origin) และจุดที่แรงเงาแทนวัตถุมีค่าเป็น ‘1’



รูปที่ 3.13 การทำการเซาะ (Erosion) ของสามเหลี่ยม A ด้วยเทมเพลท B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.14 ขั้นตอนการหา $A \ominus B$ ตามวิธีในสมการที่ (3.11)

3.7.3 การขยาย (Dilation)

Dilation หรือการขยายภาพเป็น Operation ที่คู่กับการเซาะ (Erosion) ในที่นี้ การขยาย (Dilation) ของภาพอินพุต A ด้วยเทมเพลท B สามารถนิยามได้ดังนี้

$$A \oplus B = \cup\{B + a : a \in A\} \tag{3.12}$$

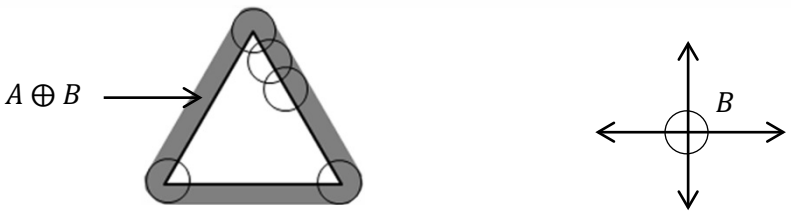
จากสมการที่ (3.12) $A \oplus B$ หมายถึงการ Union กันทุกๆ Translation ของ เทมเพลท B ที่ถูก Translate ด้วยทุกตำแหน่งของภาพ A ดังตัวอย่างในรูปที่ 3.15 ที่แสดงการทำการขยาย (Dilation) ของภาพสามเหลี่ยม A ด้วยเทมเพลทรูปวงกลม B

จากกฎการกสลับที่ (Commutation) และการเปลี่ยนกลุ่ม (Associative) จะได้

$$A \oplus B = B \oplus A \quad \text{and} \quad (A \oplus B) \oplus C = A \oplus (B \oplus C) \tag{3.13}$$

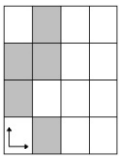
และจากกฎการสลับที่จะได้

$$A \oplus B = \cup\{A + b : b \in B\} \tag{3.14}$$

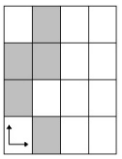


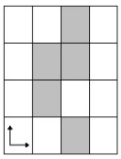
รูปที่ 3.15 การทำการขยาย (Dilation) ของสามเหลี่ยม A ด้วยเทมเพลท B

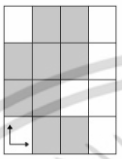
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


A

B = {(0,0), (0,1)}


A+(0,0)


A+(0,1)


$A \oplus B = U\{A+(0,0), A+(0,1)\}$

รูปที่ 3.16 ขั้นตอนการหา $A \oplus B$ ตามวิธีในสมการที่ (3.12)

จากสมการที่ (3.14) หมายถึง สามารถหาการขยาย (Dilation) ได้โดยการ Union ของทุกๆ ภาพอินพุตที่ถูก Translate ด้วยค่าของเทมเพลททุกจุด ดังแสดงตัวอย่างในรูปที่ 3.16

3.7.4 คุณสมบัติพื้นฐานของการเซาะ (Erosion) และการขยาย (Dilation)

1. จุดเริ่มต้น (Origin) อยู่ในส่วนของเทมเพลทการเซาะ (Erosion) จะเป็นการย่อภาพ (anti-extensive)

$$0 \in B \Rightarrow A \ominus B \subseteq A$$

ส่วนการขยาย (Dilation) จะเป็นภาพการขยาย (Extensive)

$$0 \in B \Rightarrow A \oplus B \supseteq A$$

2. คุณสมบัติ Translation invariant

$$(A + x) \ominus B = (A \ominus B) + x \quad \text{and} \quad (A+ x) \oplus B = (A \oplus B) + x$$

3. คุณสมบัติ Monotonically increasing

$$A_1 \subseteq A_2 \Rightarrow A_1 \ominus B \quad \text{and} \quad A_1 \subseteq A_2 \Rightarrow A_1 \oplus B \subseteq A_2 \oplus B$$

4. คุณสมบัติ Dual operations

$$A \ominus B = [A^C \oplus (-B)]^C \quad \text{and} \quad A \oplus B = [A^C \ominus (-B)]^C$$

3.7.5 การเปิด (Opening) และการปิด (Closing)

การเปิด (Opening) ของภาพ A โดยเทมเพลท B คือ $A \circ B$

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \tag{3.15}$$

หรือ

$$A \circ B = U\{B + x : B + x \subseteq A\} \tag{3.16}$$

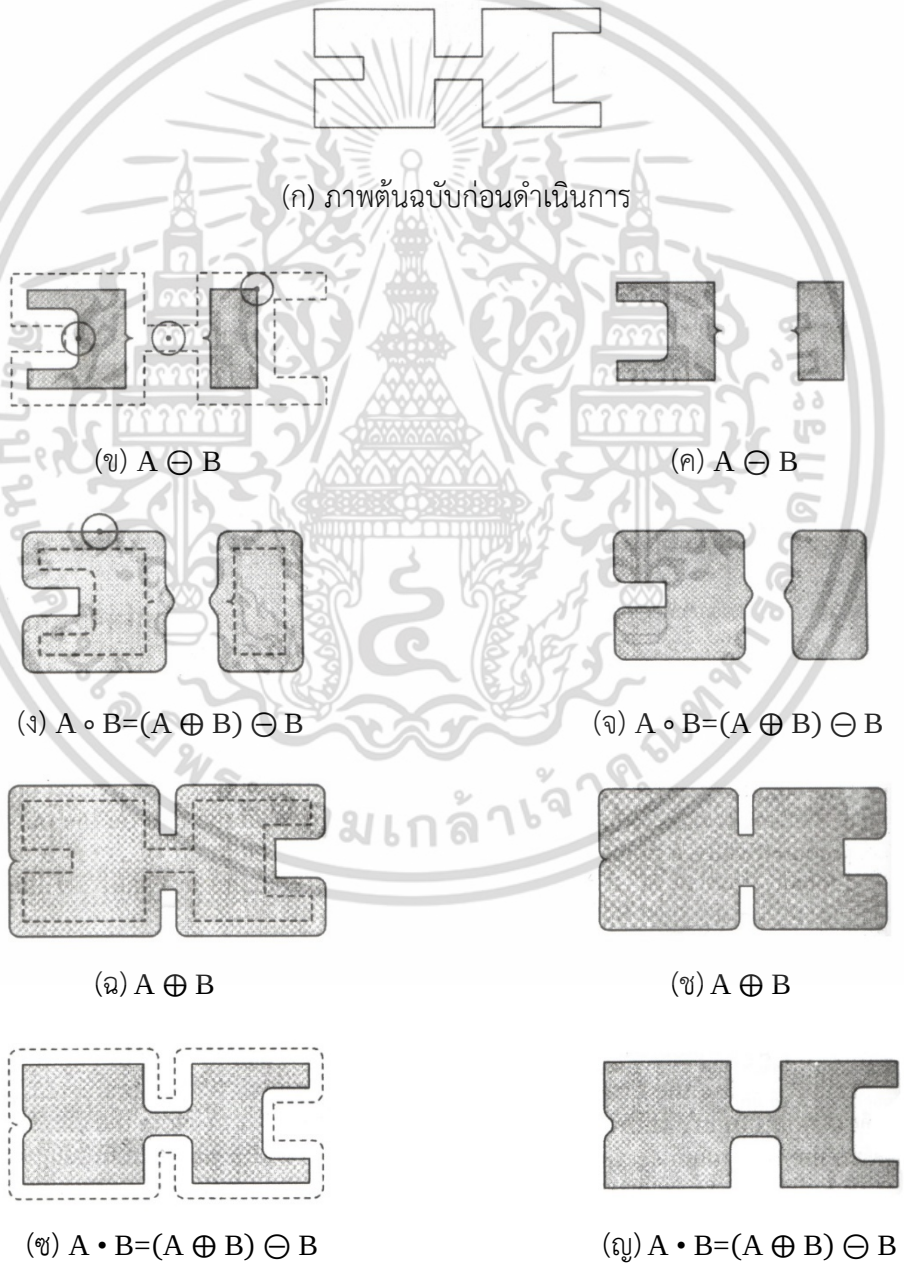
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$A \circ B$ ในสมการที่ (3.16) หาได้จากการ Union ของทุกๆ Translation ของ B ที่ Translate ด้วยค่า x แล้วทำให้ B + x อยู่ใน A

การปิด (Closing) ของภาพ A โดยเทมเพลท B คือ $A \bullet B$

$$A \bullet B = (A \oplus B) \ominus B \tag{3.17}$$

จากสมการที่ (3.16) และสมการที่ (3.17) สามารถแสดงให้เห็นถึงผลการดำเนินการแบบการเปิด (Opening) และการปิด (Closing) ได้ดังรูปที่ 3.17 โดยกระทำกับรูปเรขาคณิตเพื่อให้สังเกตเห็นผลการดำเนินการได้อย่างชัดเจน และใช้เทมเพลทรูปวงกลม



รูปที่ 3.17 การดำเนิกการแบบการเปิด (Opening) และการปิด (Closing) โดยใช้เทมเพลทวงกลม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.6 คุณสมบัติพื้นฐานของการเปิด (Opening) และการปิด (Closing)

1. การเปิด (Opening) เป็นการย่อภาพ (Anti-extensive) ส่วนการปิด (Closing) เป็นการขยายภาพ (Extensive)

$$A \circ B \subseteq A \quad \text{and} \quad A \bullet B \supseteq A$$

2. คุณสมบัติ Translation invariant

$$(A + x) \circ B = (A \circ B) + x \quad \text{and} \quad (A + x) \bullet B = (A \bullet B) + x$$

3. คุณสมบัติ Monotonically increasing

$$A_1 \subseteq A_2 \Rightarrow A_1 \circ B \subseteq A_2 \circ B \quad \text{and} \quad A_1 \subseteq A_2 \Rightarrow A_1 \bullet B \subseteq A_2 \bullet B$$

4. คุณสมบัติ Dual operations

$$A \circ B = [A^C \bullet (-B)]^C \quad \text{and} \quad A \bullet B = [A^C \circ (-B)]^C$$

5. คุณสมบัติ Idempotent

$$(A \circ B) \circ B = A \circ B \quad \text{and} \quad (A \bullet B) \bullet B = A \bullet B$$

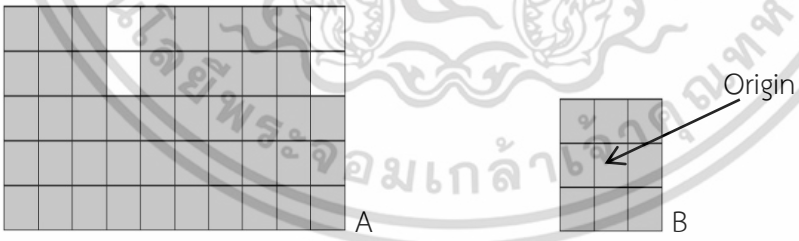
3.8 การประยุกต์ใช้มอร์โฟโลยี

3.8.1 การหาเส้นขอบ (Boundary Extraction)

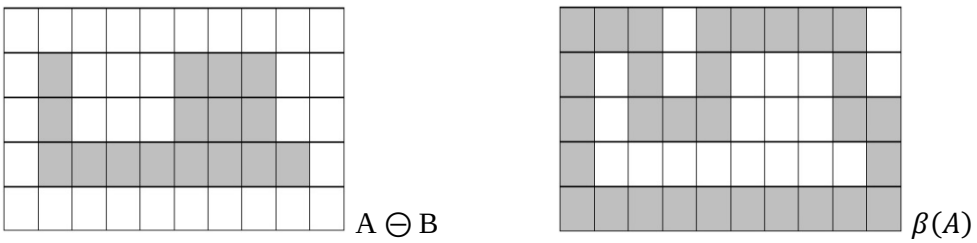
ขอบของภาพ A แทนด้วย $\beta(A)$ สามารถหาได้โดยผลต่างระหว่าง A กับ Erosion ของ A ด้วย B เมื่อ B เป็นเทมเพลท ดังสมการที่ (3.18)

$$\beta(A) = A - (A \ominus B) \tag{3.18}$$

จากรูปที่ 3.18 แสดงขั้นตอนการหาขอบภาพตามสมการที่ (3.18) โดยยกตัวอย่างภาพไบนารีในรูปที่ 3.18(ก) ใช้เทมเพลท 3X3 ดังรูปที่ 3.18(ข) ซึ่งเป็นแบบที่นิยมใช้กัน และขอบของภาพที่ได้แสดงดังรูปที่ 3.18(ง)



(ก) ภาพต้นฉบับ (เซต A) (ข) เทมเพลท B



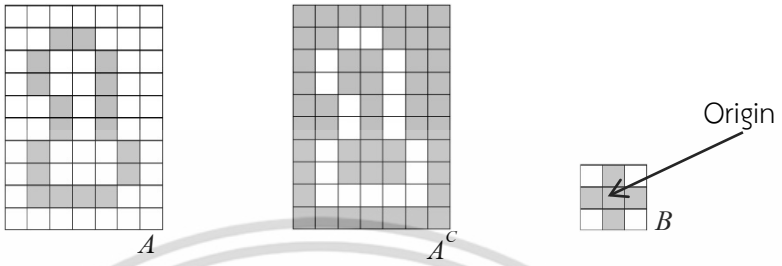
(ค) ผลที่ได้จากการทำการเซาะ (Erosion) A ด้วย B (ง) ขอบภาพที่ได้

รูปที่ 3.18 กระบวนการหาขอบของภาพไบนารี

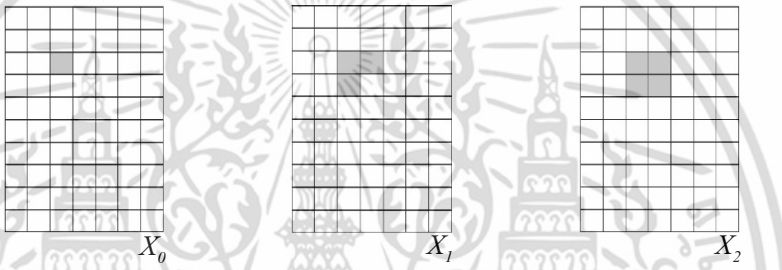
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.2 การเติมบริเวณ (Region Filling)

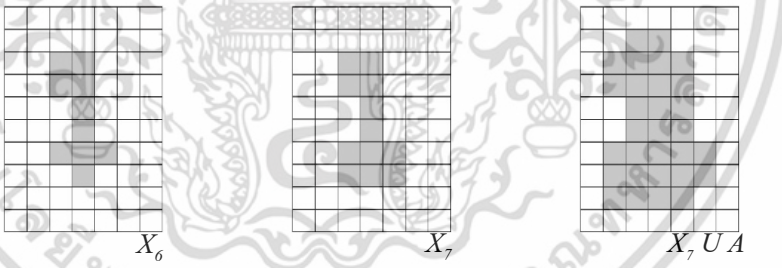
การทำ Region Filling ในภาพไบนารีสามารถทำได้หลายวิธี แต่ในที่นี้เป็นวิธีการที่อยู่บนพื้นฐานการทำ Dilation, Complementation และ Intersection ของเซต ในรูปที่ 3.19(ก) แสดงขอบของภาพไบนารีที่ต่อแบบ 8-connected



(ก) ภาพต้นฉบับ (เซต A) (ข) Complement ของ A (ค) เทมเพลท B



(ง) จุดเริ่มต้นภายในขอบ (จ), (ฉ) ผลที่ได้ในแต่ละรอบ ตามสมการ 3.17



(ช), (ซ) ผลที่ได้ในแต่ละรอบ ตามสมการ (3.17) (ญ) ผลลัพธ์สุดท้าย

รูปที่ 3.19 กระบวนการเติมบริเวณ

เริ่มกระบวนการโดยกำหนดให้ทุกจุดที่ไม่ใช่ขอบภาพมีค่าเท่ากับ ‘0’ และกำหนดให้จุด p ซึ่งเป็นจุดที่อยู่ภาพในขอบมีค่าเท่ากับ ‘1’ จากนั้นทำการเติม ‘1’ ภายในบริเวณขอบโดย

$$X_k = \left(X_{k-1} \oplus B\right) \cap A^C, \quad k=1,2,3,\ldots \tag{3.19}$$

เมื่อ X_0 = p และ B คือ เทมเพลทดังรูปที่ 3.19(ค)

จากสมการ ในเทอมของการขยาย (Dilation) จะทำการเติม ‘1’ ให้ทุกจุดโดยไม่ตรวจสอบ แต่การ Intersect ในแต่ละรอบด้วย A^C จะช่วยจำกัดให้มีการเติม ‘1’ เฉพาะบริเวณภายในขอบเท่านั้น และกระบวนการจะสิ้นสุดเมื่อ $X_k = X_{k-1}$ และผลลัพธ์สุดท้ายได้จากการ Union ระหว่าง X_k

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ A ดังแสดงรายละเอียดในรูปที่ 3.19 ถึงแม้ว่าในตัวอย่างจะมีแค่ 1 พื้นที่ย่อย แต่หลักการนี้ก็สามารถนำไปใช้ได้ในกรณีที่ภาพมีหลายๆ พื้นที่ย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
การออกแบบและการพัฒนา

4.1 บทนำ

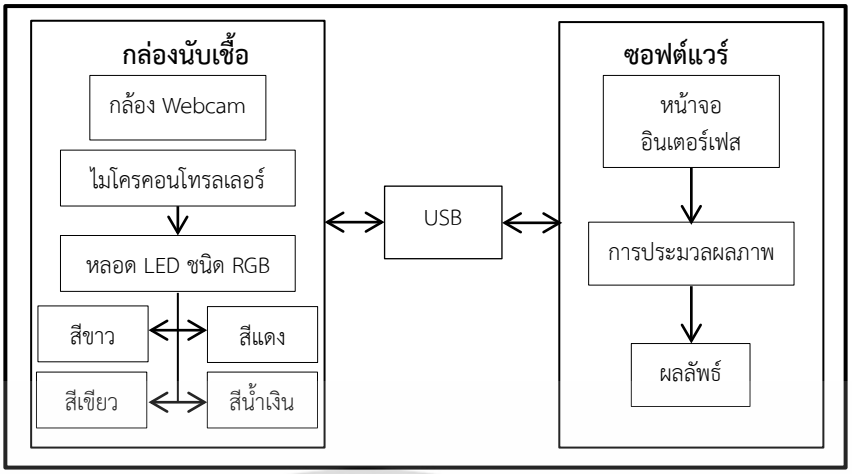
ในงานวิจัยนี้ได้ทำการออกแบบและพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี ซึ่งใช้อุปกรณ์ในการพัฒนานั้นประกอบไปด้วย 2 ส่วนหลัก ได้แก่ ฮาร์ดแวร์ และซอฟต์แวร์ โดยในส่วนของฮาร์ดแวร์คือ ส่วนของกล่องนับเชื้อซึ่งภายในประกอบไปด้วย กล้องเว็บแคม ไมโครคอนโทรลเลอร์ตระกูล Arduino (ATmega32U4) ที่ใช้ในการติดต่อกับซอฟต์แวร์ และควบคุมการทำงานของหลอดแอลอีดีชนิด RGB ดังที่ได้อธิบายไว้ในบทที่ 3 และส่วนซอฟต์แวร์คือ โปรแกรมการประมวลผลภาพดิจิตอลและหน้าจออินเตอร์เฟสโดยใช้วิธีการและอัลกอริธึมต่างๆ ดังที่ได้อธิบายไว้ในบทที่ 4 ซึ่งพัฒนาซอฟต์แวร์โดยใช้โปรแกรม MATLAB Version 2012 บนระบบปฏิบัติการ Microsoft Windows 7

ภาพของโคโลนีที่ใช้ในการทดลอง เป็นภาพที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียในตระกูล *Staphylococcus Aureus* และตระกูล *Actinomycete* ที่ได้ผ่านการเพาะเชื้อจนถึงระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการคัดแยก เพื่อให้การจำแนกสีและการนับมีความถูกต้องมากที่สุด จากนั้นจึงถ่ายภาพโดยใช้กล้องเว็บแคม ซึ่งจะได้ภาพสีชนิด JPEG (.jpg) ที่มีความละเอียด 2560 X 1440 พิกเซล โดยโคโลนีทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองนั้นได้ทำการจำแนกสีและนับจำนวนไว้ก่อนอย่างถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญ เพื่อนำมาเป็นตัวอย่างในการทดลองและใช้เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการทดลอง โดยมีขั้นตอนการทดลองดังต่อไปนี้

4.2 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องจำแนกสีและตรวจนับโคโลนี

เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีที่ออกแบบนั้นประกอบไปด้วย ซอฟต์แวร์, กล่องนับเชื้อ, กล้องเว็บแคม, ไมโครคอนโทรลเลอร์, และหลอดแอลอีดีชนิด RGB ดังที่แสดงในรูปที่ 4.1 ใช้โปรแกรม MATLAB ในการออกแบบซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพและพัฒนาหน้าจออินเตอร์เฟสโดยหน้าจออินเตอร์เฟสใช้สำหรับแสดงภาพถ่ายที่ได้จากกล้องเว็บแคม และควบคุมการทำงานหลอดแอลอีดีผ่านทางพอร์ต USB คอมพิวเตอร์ โดยขั้นตอนการทำงานนั้นจะเริ่มจากผู้ใช้เลือกสีของโคโลนีที่ต้องการ จากนั้นซอฟต์แวร์จึงทำการกำหนดค่าสีพื้นที่เหมาะสมตามที่ได้มีการออกแบบไว้ และส่งข้อมูลค่าสีไปยังไมโครคอนโทรลเลอร์ เพื่อควบคุมการแสดงผลของหลอดแอลอีดีชนิด RGB ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี

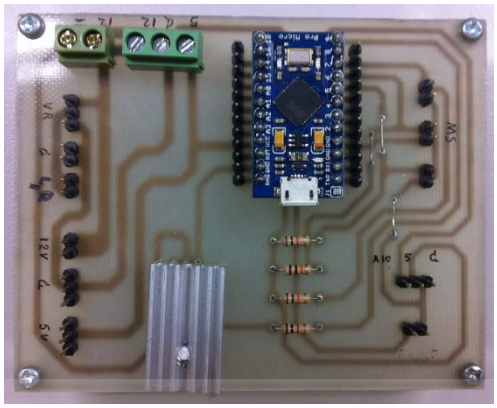
4.3 การออกแบบกล่องนับเชื้อ

4.3.1 กล่องนับเชื้อ

ในการออกแบบกล่องนับเชื้อนั้นได้ใช้กล่องที่ทำจากเหล็กเพื่อความแข็งแรง แต่ยังคงมีขนาดที่เล็กเพื่อไม่ให้มีน้ำหนักที่มากเกินไป กล่องนับเชื้อจะเป็นกล่องทึบแสงมีฝาปิดเพื่อป้องกันแสงจากภายนอกมาสะท้อนที่ฝาปิดจานเพาะเชื้อ ซึ่งอาจทำให้ขั้นตอนการประมวลผลภาพเกิดข้อผิดพลาดได้ ภายในกล่องนับเชื้อได้ติดตั้งหลอดแอลอีดีสีขาวไว้ที่ด้านข้างกล่องทั้งซ้ายและขวาเพื่อให้แสงสว่างภายในกล่อง แล้วจึงปิดทับด้วยแผ่นอะคริลิคสีขาวขุ่น เพื่อเป็นการทำให้แสงที่ได้นวล ไม่สว่างจนเกินไป ในส่วนของพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อนั้น ใช้แผ่นอะคริลิคสีขาวขุ่นเหมือนด้านข้าง ซึ่งได้นำมาเซาะเป็นวงกลมเพื่อให้เป็นจุดอ้างอิงสำหรับวางจานเพาะเชื้อ แล้วจึงติดตั้งหลอดแอลอีดีชนิด RGB จำนวน 68 หลอดไว้ที่ด้านล่าง ภายในกล่องนับเชื้อมีปุ่มสำหรับเลือกการทำงานของหลอดแอลอีดีชนิด RGB โดยมีโหมดอัตโนมัติที่รับคำสั่งจากซอฟต์แวร์ และโหมดแมนนวล (Manual) ที่ผู้ใช้งานสามารถเลือกสีของหลอดได้เอง

รูปที่ 4.2 กล่องนับเชื้อที่ออกแบบ

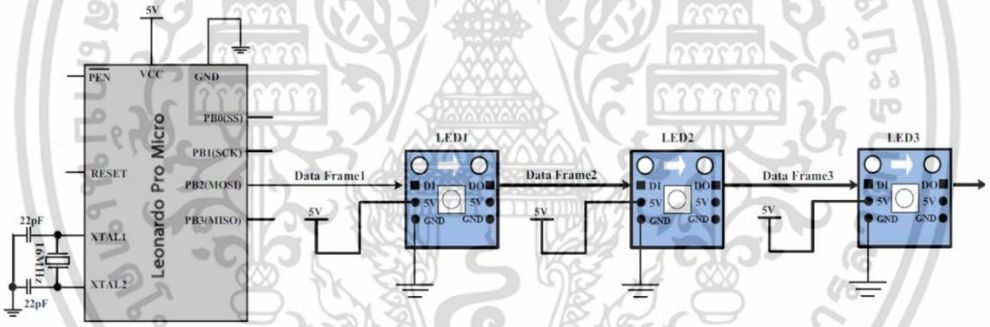
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



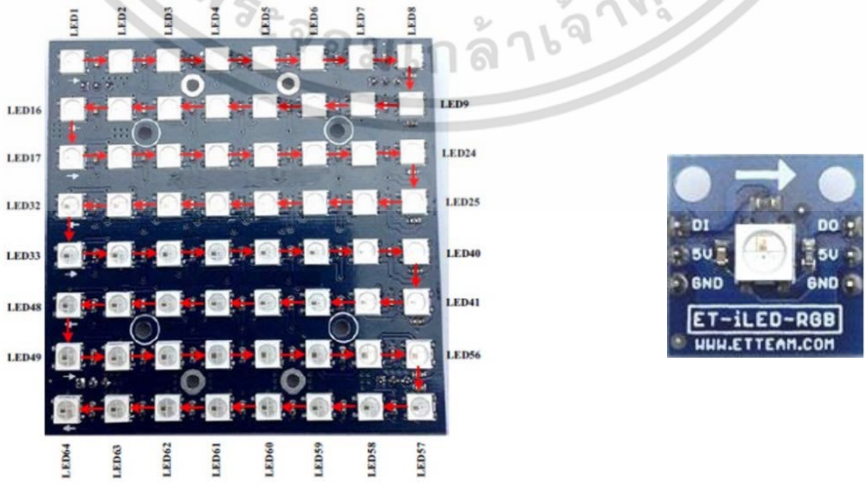
รูปที่ 4.3 วงจรภายในกล่องนับเชื้อ

4.3.2 วงจรสำหรับควบคุมหลอดแอลอีดีแบบ RGB

ในการควบคุมการทำงานของหลอดแอลอีดีชนิด RGB นั้น ได้ใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ตระกูล Ardunio โดยการต่อขาสัญญาณ MOSI (Master-Out Slave-In) ของไมโครคอนโทรลเลอร์ ไปยังขา DI ของหลอดแอลอีดีแบบ RGB หลอดที่ 1 การต่อหลอดที่ 2 ทำได้โดยการต่อขา DO ของหลอดที่หนึ่งเข้ากับขา DI ของหลอดที่ 2 และเป็นอย่างนี้ไปเรื่อยๆจนถึงหลอดที่ 68



รูปที่ 4.4 การต่อหลอดแอลอีดี RGB แบบ Cascade

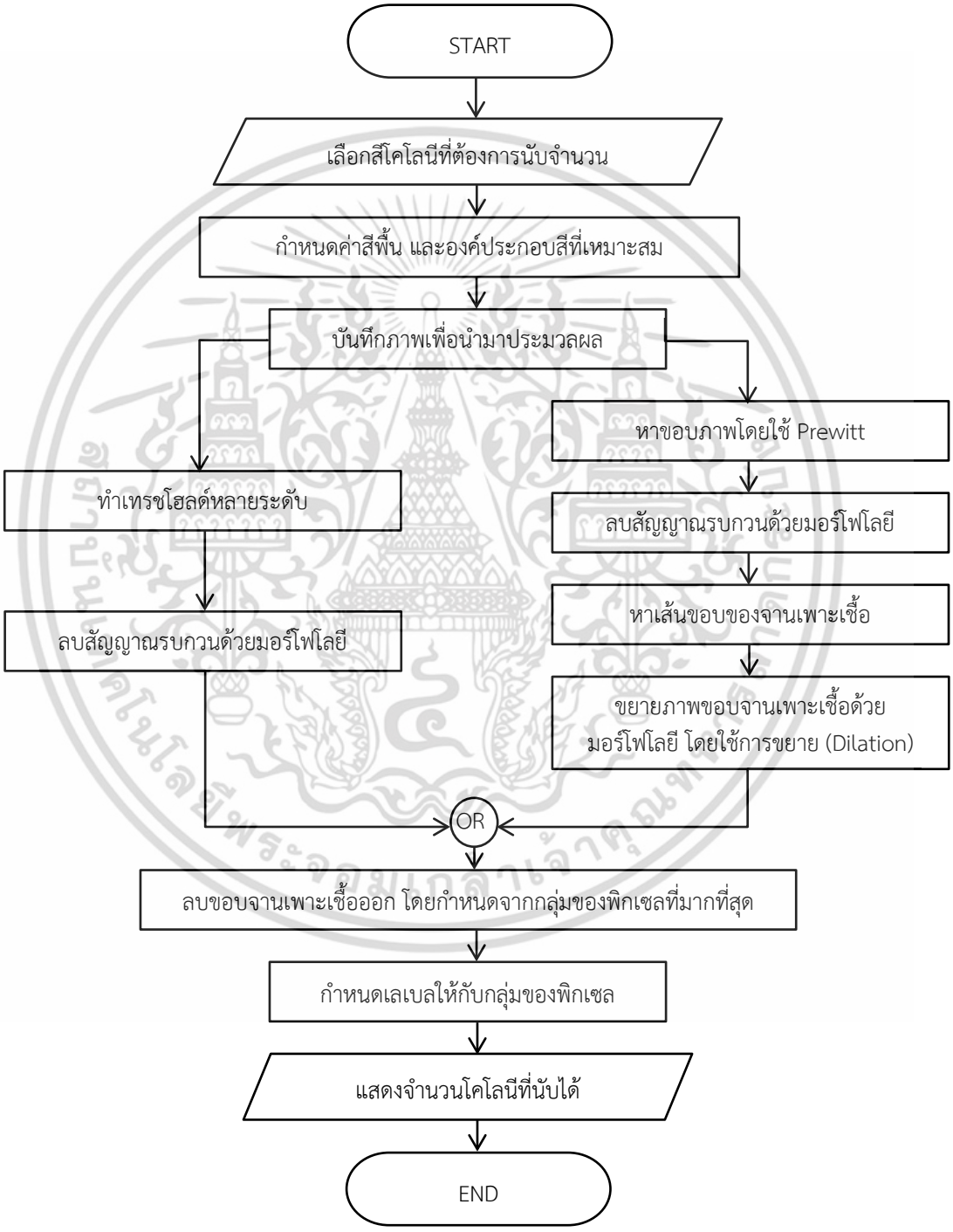


รูปที่ 4.5 หลอดแอลอีดีชนิด RGB ที่ใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การประมวลผลภาพดิจิตอล

ขั้นตอนของการประมวลผลภาพนั้นจะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนหลัก คือการคัดแยกโคโลนีที่ต้องการออกจากพื้นหลังโดยใช้วิธีการเทรชโฮลด์หลายระดับ และขั้นตอนการหาขอบภาพของจานเพาะเชื้อโดยใช้วิธีของ Prewitt หลังจากนั้นจึงนำทั้ง 2 ภาพมา OR กันเพื่อลบขอบจานเพาะเชื้อออก และนับจำนวนโคโลนี แสดงดังรูปที่ 4.6

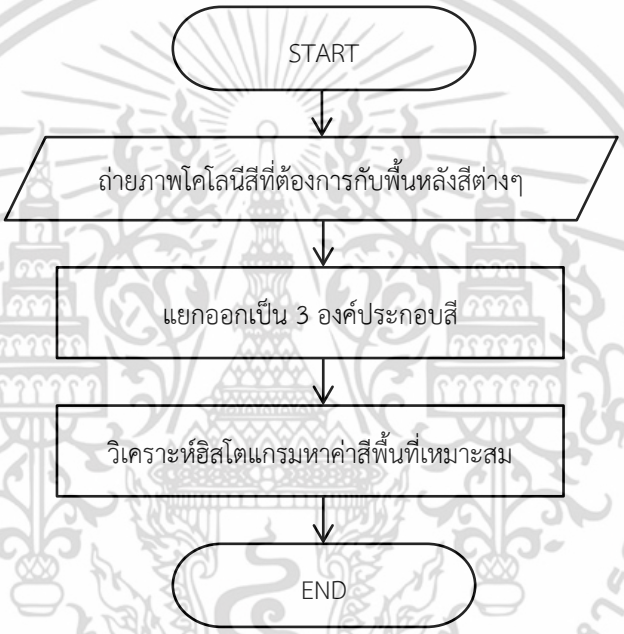


รูปที่ 4.6 ขั้นตอนการประมวลผลภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

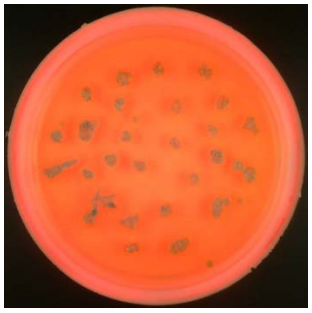
4.4.1 พิจารณาภาพในแต่ละองค์ประกอบสี

ในขั้นตอนการทดลองจะทำการเก็บข้อมูลภาพของโคโลนีแต่ละสี โดยจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีสีที่ต้องการจะถูกนำไปถ่ายภาพกับพื้นหลังที่มีสีแตกต่างกันทั้งหมด 4 สี คือ พื้นสีแดง เขียว น้ำเงิน และขาว ตามลำดับ จากนั้นจึงนำภาพที่ได้มาแยกออกพิจารณาเป็น 3 องค์ประกอบสีคือ องค์ประกอบของสีแดง องค์ประกอบของสีเขียว และองค์ประกอบของสีน้ำเงิน ซึ่งผลที่ได้หลังจากการแยกองค์ประกอบสีคือ ภาพระดับสีเทา (Gray Scale Image) ของแต่ละองค์ประกอบสี จากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์ฮิสโตแกรมของภาพระดับสีเทาในแต่ละองค์ประกอบสี เพื่อหาว่าพื้นสีใดและองค์ประกอบสีใดที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างระดับความสว่างของพื้นหลัง และระดับความสว่างของโคโลนีสีที่ต้องการมีค่ามากที่สุด เพื่อให้สามารถแยกโคโลนีสีที่ต้องการออกจากส่วนอื่นๆ ของภาพได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ แสดงดังรูปที่ 4.8 – รูปที่ 4.11

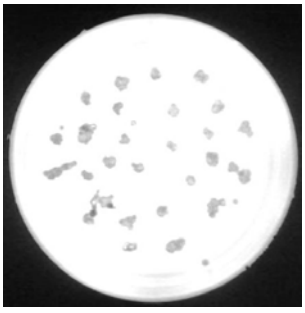


รูปที่ 4.7 ขั้นตอนการหาค่าสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสม

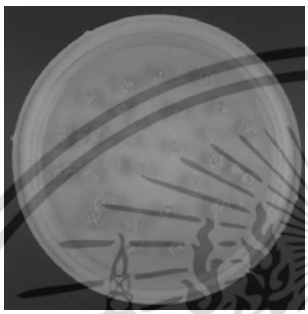
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



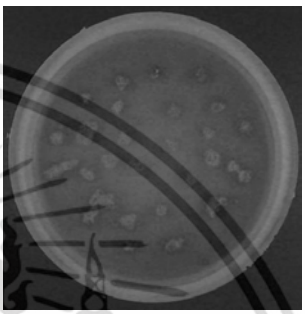
(ก) ภาพจากกล้องเว็บแคม



(ข) องค์ประกอบสีแดง

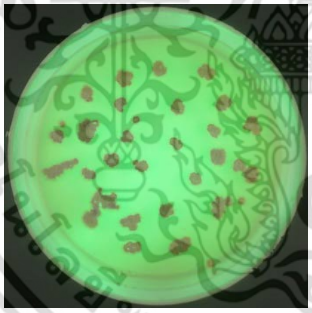


(ค) องค์ประกอบสีเขียว



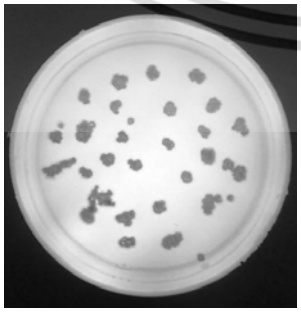
(ง) องค์ประกอบสีน้ำเงิน

รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีแดง

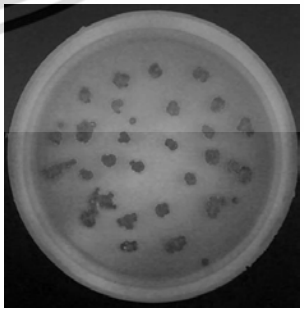


(ก) ภาพจากกล้องเว็บแคม

(ข) องค์ประกอบสีแดง



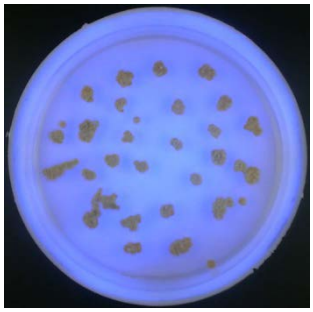
(ค) องค์ประกอบสีเขียว



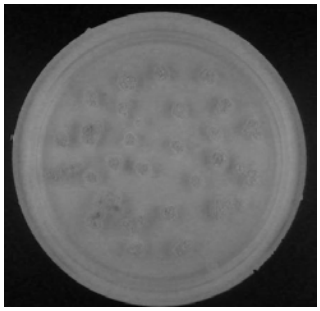
(ง) องค์ประกอบสีน้ำเงิน

รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีเขียว

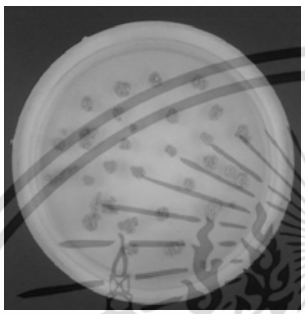
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



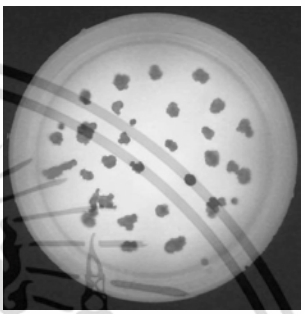
(ก) ภาพจากกล้องเว็บแคม



(ข) องค์ประกอบสีแดง

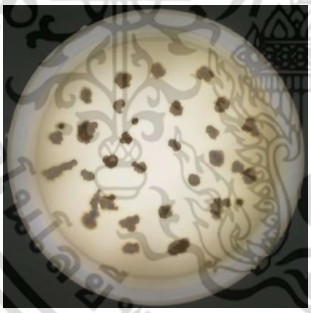


(ค) องค์ประกอบสีเขียว

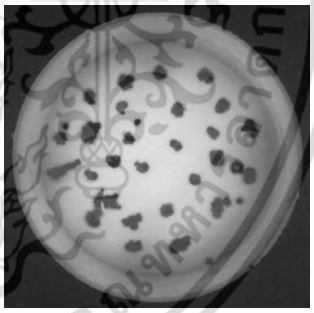


(ง) องค์ประกอบสีน้ำเงิน

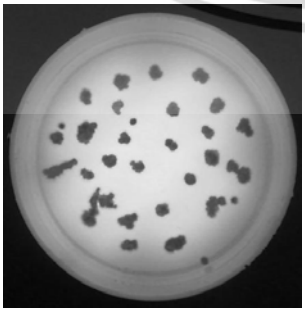
รูปที่ 4.10 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีน้ำเงิน



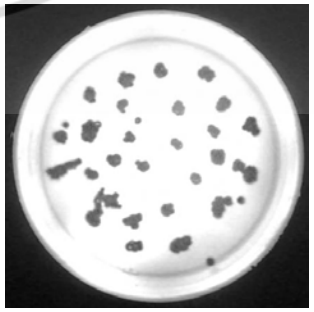
(ก) ภาพจากกล้องเว็บแคม



(ข) องค์ประกอบสีแดง



(ค) องค์ประกอบสีเขียว



(ง) องค์ประกอบสีน้ำเงิน

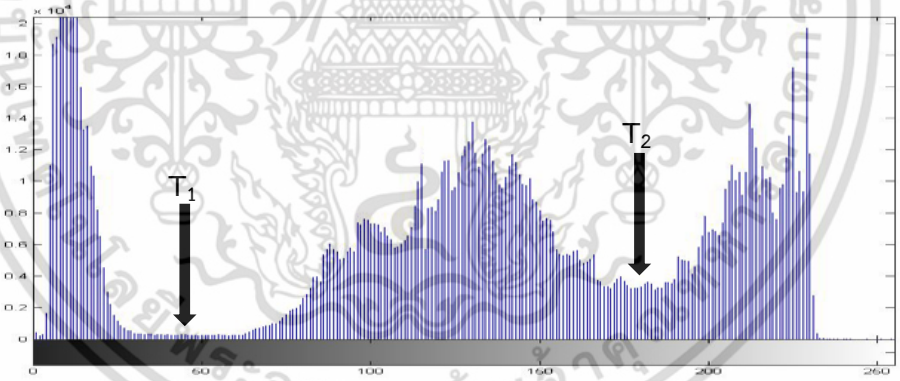
รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายเชื้อโคโลนีโดยใช้พื้นที่มีสีขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

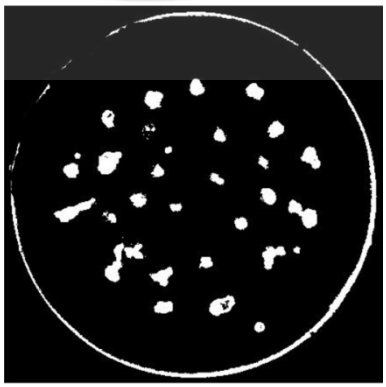
4.4.2 การตัดระดับเทรชโฮลด์

ภาพของโคโลนีที่ผ่านการทำเป็นภาพระดับสีเทาในองค์ประกอบของสีต่างๆ มาแล้วนั้น ค่าที่เก็บในแต่ละจุดภาพจะเป็นค่าของระดับความสว่างซึ่งจะมีทั้งหมด 256 ระดับ โดยพื้นสีขาวนั้นจะแทนด้วยค่าความสว่าง 255 ส่วนพื้นสีดำจะแทนด้วยค่าความสว่างเป็น 0 ในขั้นตอนการออกแบบนั้นได้ออกแบบให้พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อแบ่งออกเป็น 2 ระดับคือ พื้นสีดำด้านนอก และพื้นด้านในซึ่งมีลักษณะเป็นวงกลมที่สามารถเปลี่ยนสีได้ โดยที่พื้นสีดำด้านนอกจะมีค่าระดับความสว่างที่ต่ำกว่าระดับความสว่างของโคโลนี ส่วนบริเวณพื้นวงกลมด้านในนั้นจะมีค่าระดับความสว่างที่สูงกว่าส่วนที่เป็นโคโลนี ดังนั้นการแยกส่วนของโคโลนีสีที่ต้องการออกจากพื้นหลังนั้นสามารถทำได้โดยการกำหนดค่าเทรชโฮลด์หลายระดับที่เหมาะสม ซึ่งค่าเทรชโฮลด์นี้จะเป็นตัวกำหนดว่าจุดภาพใดๆ ที่มีค่าระดับความสว่างไม่ได้อยู่ในช่วงที่กำหนดของค่าเทรชโฮลด์ จะเป็นส่วนของพื้นหลัง ส่วนจุดภาพซึ่งมีค่าความสว่างอยู่ในช่วงที่กำหนดนั้น จะเป็นส่วนของโคโลนี

วิธีการโดยทั่วไปสำหรับการหาค่าเทรชโฮลด์ของภาพระดับสีเทาทำได้โดยการสร้างฮิสโตแกรมแสดงค่าระดับความสว่างแต่ละจุดภาพ โดยนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับของความสว่าง (แกน x) กับจำนวนของจุดภาพ (แกน y) แสดงดังรูปที่ 4.12 การหาค่าเทรชโฮลด์ (T_1) ที่เหมาะสมทำได้โดยใช้เทคนิคการหาค่าระดับความเข้มต่ำที่สุด ซึ่งเป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างเส้นกราฟของระดับความเข้มพื้นสีดำและของโคโลนีที่ต่ำที่สุด และการหาค่าเทรชโฮลด์ (T_2) ทำได้โดยการหาค่าระดับความเข้มที่สูงสุด ที่เป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างเส้นกราฟของระดับความเข้มสูงที่สุดของโคโลนี และระดับความเข้มของพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ



รูปที่ 4.12 กราฟฮิสโตแกรม และตำแหน่ง T_1 , T_2

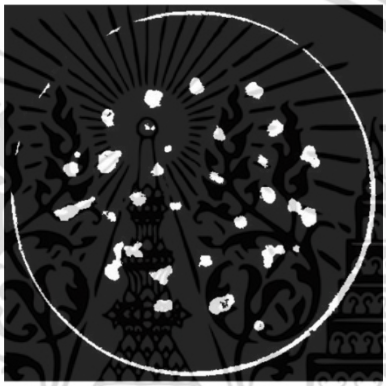


รูปที่ 4.13 ภาพหลังการทำเทรชโฮลด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การลบสัญญาณรบกวน

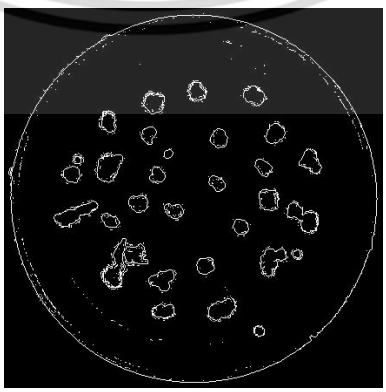
ขั้นตอนการลบข้อมูลส่วนที่ไม่ต้องการออกจากภาพ ทำได้โดยนำภาพที่ผ่านขั้นตอนทำเทรชโฮลด์หลายระดับมาวิเคราะห์ โดยบริเวณที่เป็นสีขาว ซึ่งในส่วนนี้จะเป็นส่วนของโคโลนีที่ต้องการ แต่จะมีส่วนที่ไม่ใช่โคโลนีปรากฏอยู่ด้วยซึ่งก็คือสัญญาณรบกวน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องลบส่วนที่เป็นสัญญาณรบกวนนี้ออกไป โดยการพิจารณาจำนวนจุดภาพแต่ละกลุ่ม แล้วใช้มอร์โฟโลยี (Morphology) ในการกำจัดสัญญาณรบกวนนี้ ซึ่งใช้ทฤษฎีการเปิด (Opening) โดยกำหนดให้ทำการเซาะ (Erosion) รูปภาพที่ผ่านการทำเทรชโฮลด์ ด้วยเทมเพลทเป็นรูปวงกลม (Disk) เพื่อลบจุดที่มีขนาดเล็กกว่าที่กำหนดออกจากภาพ จากนั้นจึงใช้การขยาย (Dilation) เพื่อทำให้ขนาดของโคโลนีกลับมามีขนาดที่ใกล้เคียงขนาดเดิม โดยการพิจารณาขนาดของจุดภาพที่ต้องการลบนั้น จะขึ้นอยู่กับขนาดของโคโลนีที่ต้องการนับจำนวน



รูปที่ 4.14 ภาพหลังการทำมอร์โฟโลยี

4.4.4 การลบขอบจานเพาะเชื้อ

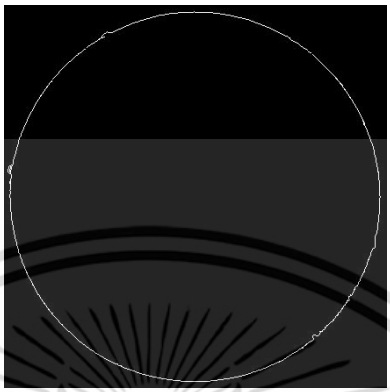
ภาพที่ได้หลังจากผ่านขั้นตอนการทำมอร์โฟโลยีมาแล้วนั้น จะยังคงมีส่วนของขอบจานเพาะเชื้อปรากฏอยู่อย่างชัดเจน ในขั้นตอนต่อไปจึงเป็นการลบขอบของจานเพาะเชื้อ เพื่อป้องกันความผิดพลาดในการนับจำนวนโคโลนี โดยนำภาพที่ได้หลังจากการแยกให้อยู่ในแต่ละองค์ประกอบสีภาพเดิม มาทำการหาขอบภาพโดยใช้วิธีการ Prewitt ซึ่งจะปรากฏขอบภาพที่มีสีขาว (ระดับความสว่าง 255) ซึ่งนั่นคือ ขอบภาพของโคโลนี และขอบจานเพาะเชื้อ แสดงดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 การหาขอบภาพโดยใช้วิธี Prewitt

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.15 จะเห็นได้ว่า บริเวณของขอบจานเพาะเชื้อซึ่งเป็นพื้นสีขาว จะเป็นกลุ่มของพิกเซลที่อยู่ติดกันมากที่สุด ดังนั้นจึงใช้ซอฟต์แวร์ในการคำนวณหากลุ่มของพิกเซลนั้น และกำหนดว่าให้ลบกลุ่มของพิกเซลออกให้หมดยกเว้นกลุ่มของพิกเซลที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยวิธีการลบคือ การกลับภาพจากขาวเป็นดำ (ระดับความสว่าง 0) แสดงดังรูปที่ 4.16



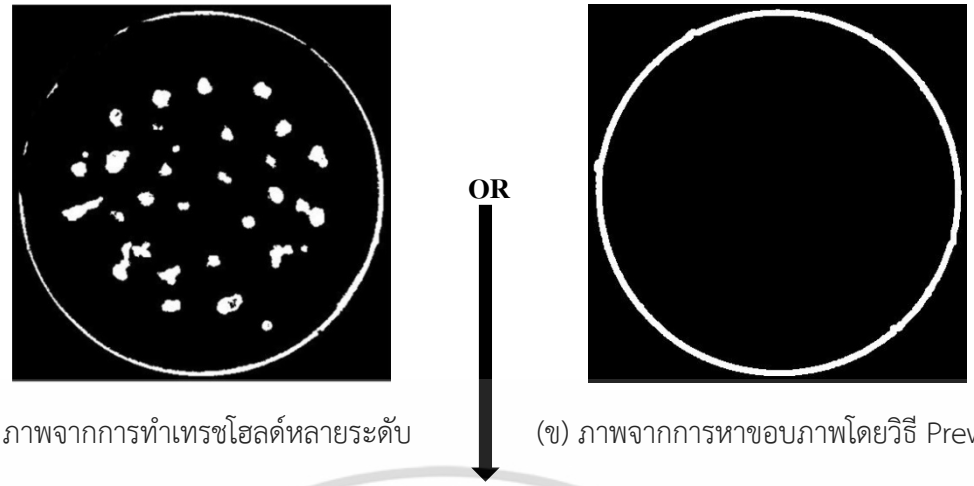
รูปที่ 4.16 การลบพิกเซลที่มีไม่อยู่ในช่วงที่กำหนด

จากนั้นจึงนำภาพที่ผ่านขั้นตอนการหาขอบภาพ มาทำวิธีการมอร์โฟโลยีโดยใช้ทฤษฎีการขยาย (Dilation) ซึ่งจำทำให้เส้นของขอบจานเพาะเชื้อมีขนาดใหญ่ขึ้น

รูปที่ 4.17 การขยายภาพโดยใช้มอร์โฟโลยี

จากรูปที่ 4.17 จะได้ภาพที่มีเฉพาะบริเวณของขอบจานเพาะเชื้อเท่านั้น นำภาพที่ได้มา OR กับภาพเดิมที่หาภาพของโคโลนีโดยใช้วิธีการทำเทรชโฮลด์หลายระดับ (รูปที่ 4.14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) ภาพจากการทำเทรชโฮลด์หลายระดับ (ข) ภาพจากการหาขอบภาพโดยวิธี Prewitt

(ค) ภาพผลลัพธ์ที่ได้

รูปที่ 4.18 ขั้นตอนการ OR ภาพ

จากขั้นตอนที่ผ่านมา จะได้ภาพที่มีโคโลนีและขอบภาพปรากฏอย่างชัดเจน ซึ่งขอบภาพก็คือกลุ่มของพิกเซลที่อยู่ติดกันมากที่สุด แสดงดังรูปที่ 4.18 จึงมีวิธีการคือ ใช้ซอฟต์แวร์ในการคำนวณหากลุ่มของพิกเซลนั้น แล้วทำการลบออกโดยกำหนดให้เป็นสีดำ (ระดับความสว่าง 0) สุดท้ายจึงได้ภาพที่ไม่มีขอบของจานเพาะเชื้อปรากฏอยู่ แสดงดังรูปที่ 4.19

รูปที่ 4.19 การลบขอบจานเพาะเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

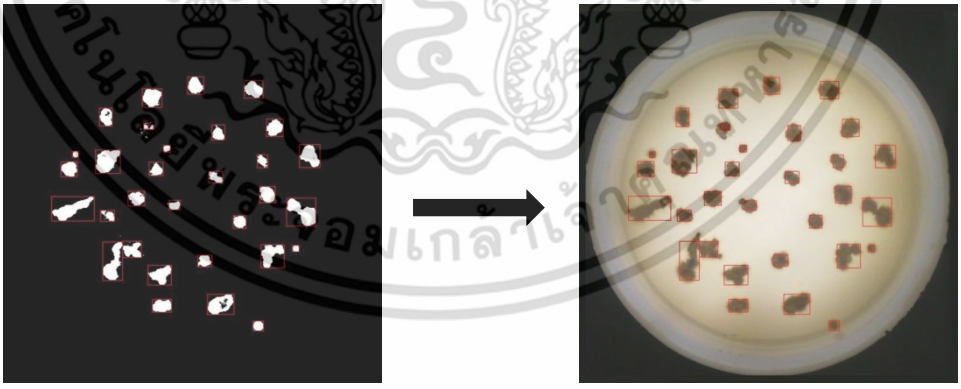
4.4.5 ขั้นตอนการนับจำนวนเชื้อโคโลนี

การนับจำนวนโคโลนีนั้นเป็นขั้นตอนสุดท้ายของการประมวลผลภาพ ซึ่งทำได้โดยการกำหนดเลเบล (Label) ให้แต่ละกลุ่มพิกเซล โดยกลุ่มของข้อมูลไบนารีแต่ละกลุ่มที่อยู่แยกกันนั้น จะได้เลเบลที่ต่างกัน จากนั้นจึงนำจำนวนของเลเบลทั้งหมดที่นับได้ มาแสดงลงในช่องสำหรับแสดงจำนวนโคโลนีแต่ละสี

รูปที่ 4.20 การกำหนดเลเบล

4.4.6 การซ้อนทับภาพ

เพื่อเป็นการระบุว่า โปรแกรมสามารถนับโคโลนีตัวใดไปบ้างแล้วนั้น จึงจำเป็นต้องมีการตีกรอบรอบโคโลนีตัวนั้นๆ ซึ่งสามารถทำได้โดยการนำภาพที่ผ่านขั้นตอนการลบขอบจานเพาะเชื้อแล้วมากำหนดกรอบภาพรอบเชื้อแต่ละจุด แสดงดังรูปที่ 4.21(ก) ต่อจากนั้นจึงลบพื้นหลังออก แล้วนำไปซ้อนทับกับภาพต้นฉบับเดิมที่ถ่ายจากกล้องเว็บแคม แสดงดังรูปที่ 4.21(ข)

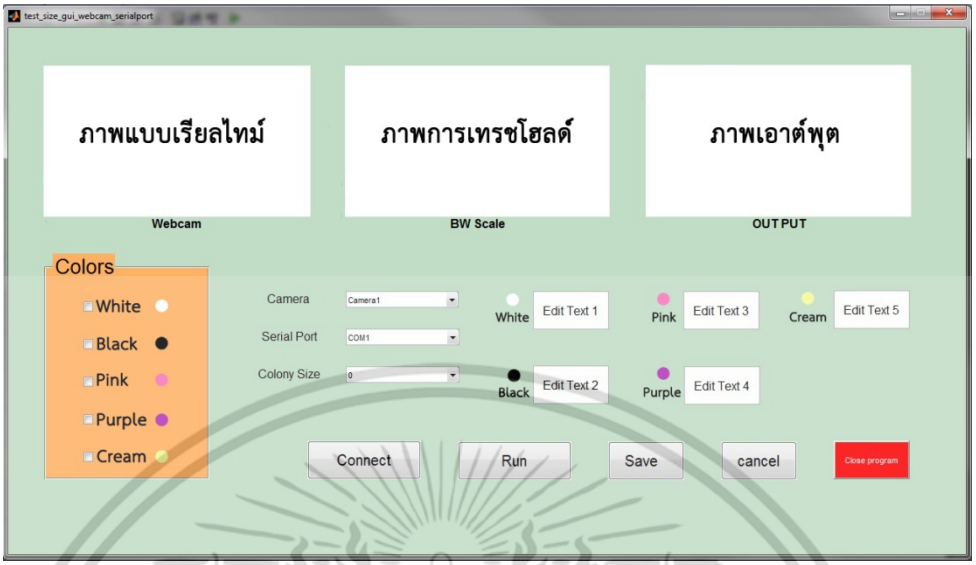


(ก) การตีกรอบรอบโคโลนี (ข) ภาพที่ได้หลังการซ้อนทับกับภาพต้นฉบับ

รูปที่ 4.21 การตีกรอบรอบโคโลนีที่ทำการนับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การออกแบบหน้าจออินเตอร์เฟส



รูปที่ 4.22 หน้าจออินเตอร์เฟส

หน้าจออินเตอร์เฟสนั้นถูกออกแบบโดยเน้นความง่ายในการใช้งาน โดยส่วนประกอบต่างๆ บนหน้าจออินเตอร์เฟสมีรายละเอียดดังนี้

1. ช่องสำหรับการแสดงผลภาพ โดยแบ่งออกเป็น 3 ระยะคือ
   - ภาพแบบเรียลไทม์ (Real Time)
   - ภาพที่ผ่านกระบวนการเทรชโฮลด์ และมอร์โฟโลยี
   - ภาพสุดท้ายเป็นภาพที่เสร็จสิ้นกระบวนการประมวลผลภาพ
2. ช่องเลือกสำหรับเลือกสีของโคโลนีที่ต้องการนับจำนวน
3. ช่องสำหรับเลือกกล้อง ในกรณีที่มีกล้องเชื่อมต่ออยู่มากกว่าหนึ่งตัว
4. ช่องสำหรับเลือก Serial Port ในการเชื่อมต่อกับไมโครคอนโทรลเลอร์
5. ช่องสำหรับเลือกขนาดของโคโลนีที่ต้องการนับ
6. ช่องแสดงจำนวนโคโลนีที่นับได้ แยกตามสีของโคโลนี
7. ปุ่มสำหรับเชื่อมต่อกับกล้องเว็บแคม
8. ปุ่มสำหรับสั่งให้โปรแกรมทำงาน
9. ปุ่มสำหรับ Save รูปภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
การทดลองและผลการทดลอง

5.1 บทนำ

งานวิจัยนี้ได้มีการออกแบบและพัฒนาอัลกอริธึมต่างๆ ดังที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 2 ถึงบทที่ 4 ซึ่งใช้โปรแกรม Matlab Version 2012 โดยได้ทำการทดลองกับภาพที่มีโคโลนีสีต่างๆ ทั้งหมด 100 ภาพ ซึ่งแบ่งออกเป็นภาพเชื้อโคโลนีสีขาว 20 ภาพ โคโลนีสีดำ 20 ภาพ โคโลนีสีชมพู 20 ภาพ โคโลนีสีม่วง 20 ภาพ และโคโลนีสีครีม 20 ภาพ โดยในขั้นตอนการทดลองนั้นจะใช้โคโลนีที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1 มิลลิเมตรขึ้นไป ซึ่งเปรียบเทียบผลการทดลองกับการคัดแยกโดยผู้เชี่ยวชาญ ในส่วนของการทดลองนั้นแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก คือ

1. การหาค่าสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี
2. การแยกโคโลนีออกจากพื้นหลังโดยใช้วิธีการทำเทรชโฮลด์หลายระดับ
3. คือการลบขอบของจานเพาะเชื้อโดยใช้วิธีการหาขอบภาพแบบ Prewitt

ซึ่งรายละเอียดต่างๆ สามารถแสดงได้ดังต่อไปนี้

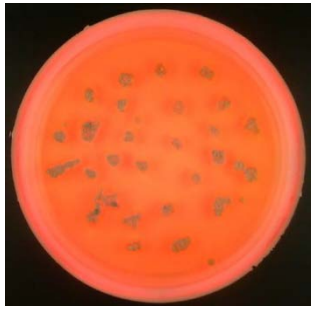
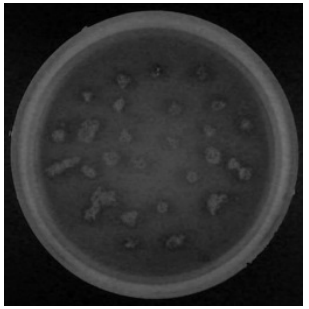
5.2 ผลการแยกองค์ประกอบสี

นำโคโลนีสีต่างๆ ที่ต้องการนับจำนวนมาถ่ายภาพกับพื้นหลังที่มีสี แดง เขียว น้ำเงิน และขาว ซึ่งจะนำภาพที่ได้มาแยกออกเป็นอีก 3 องค์ประกอบสี คือ องค์ประกอบสีแดง องค์ประกอบสีเขียว และองค์ประกอบสีน้ำเงิน ได้ผลดังตารางที่ 5.1 - ตารางที่ 5.5

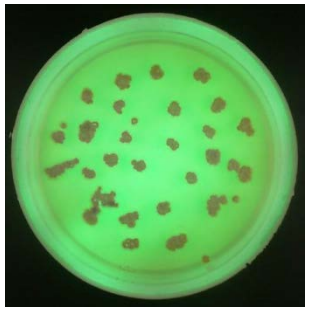
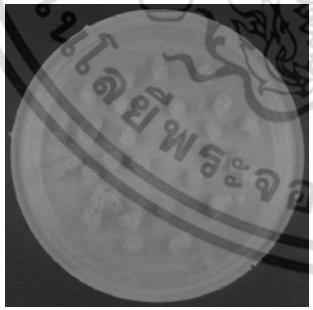
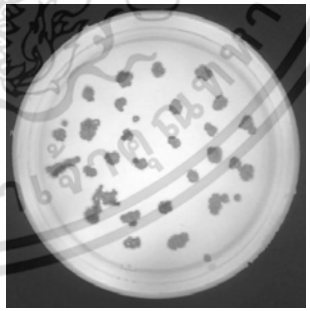
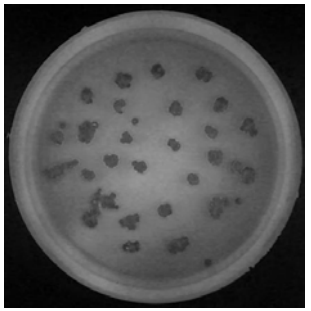
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.1 ภาพโคโลนีสีขาวกับพื้นหลังสีต่างๆ

พื้นหลังสีแดง

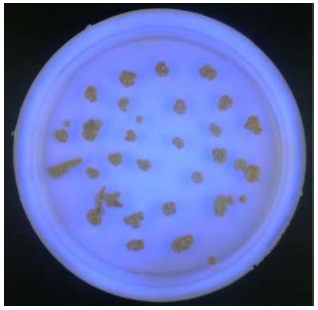
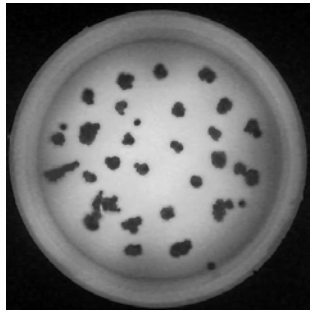
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

พื้นหลังสีเขียว

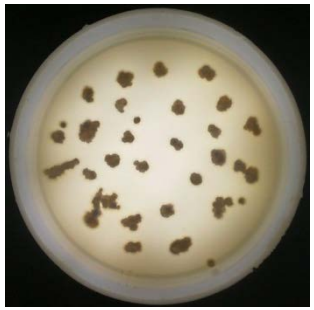
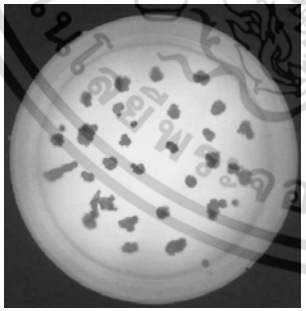
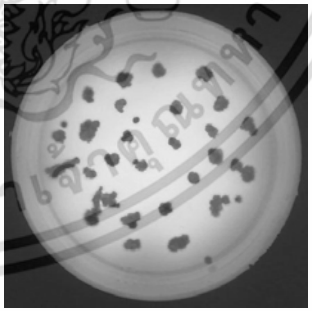
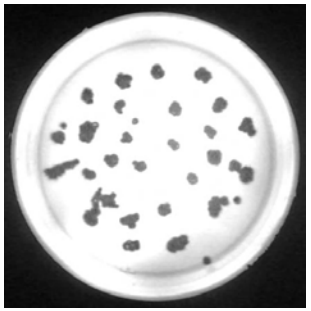
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.1 (ต่อ)

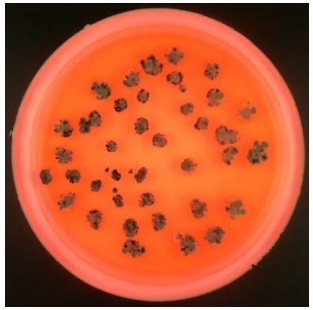
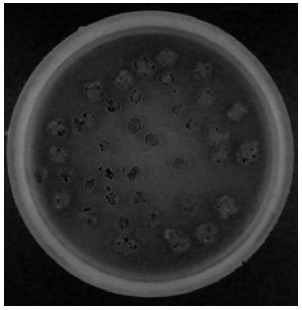
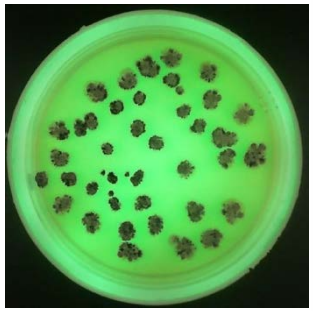
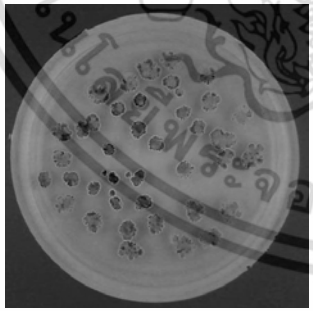
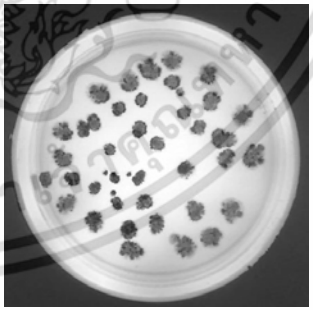
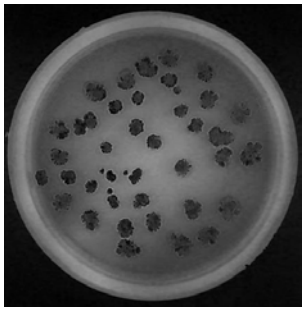
พื้นหลังสีน้ำเงิน

ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

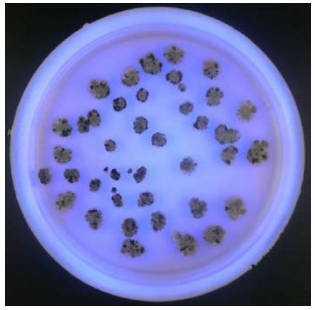
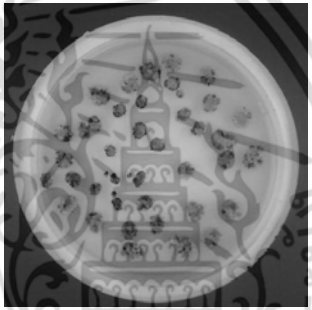
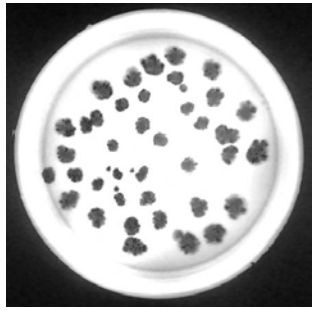
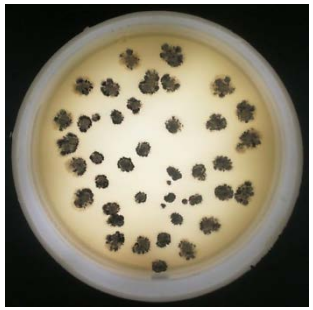
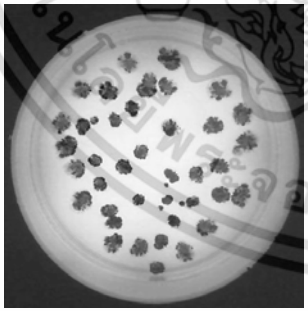
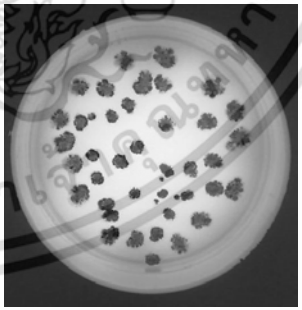
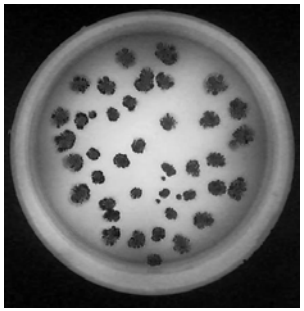
พื้นหลังสีขาว

ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.2 ภาพโคโลนีสีดำกับพื้นหลังสีต่างๆ

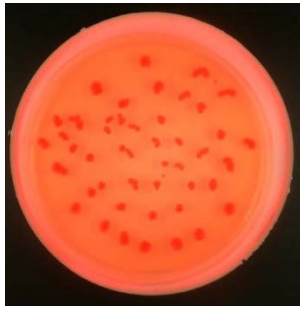
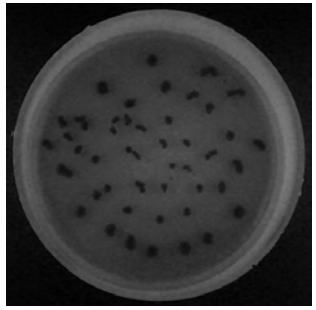
พื้นหลังสีแดง			
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			
พื้นหลังสีเขียว			
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.2 (ต่อ)

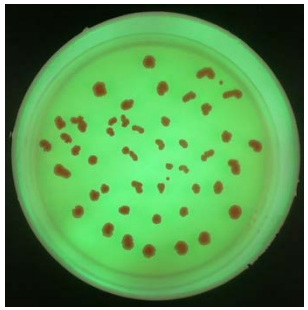
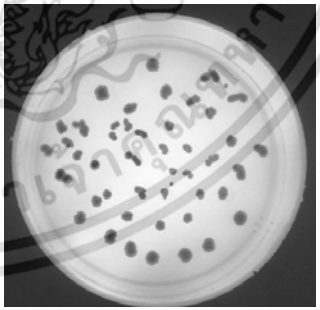
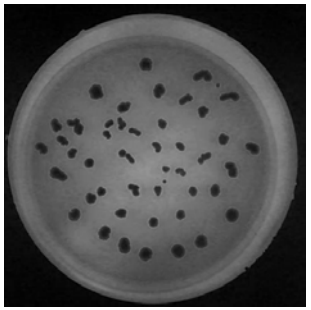
พื้นหลังสีน้ำเงิน			
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			
พื้นหลังสีขาว			
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.3 ภาพโคโลนีสีชมพูกับพื้นหลังสีต่างๆ

พื้นหลังสีแดง

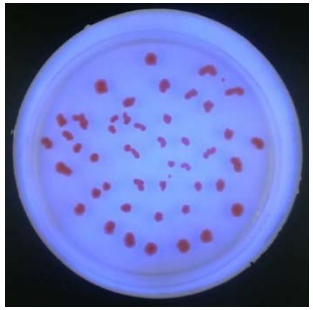
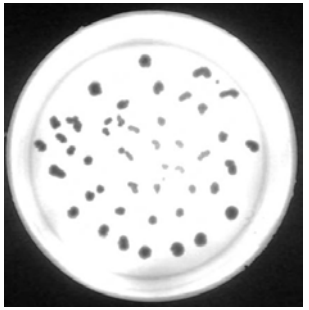
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

พื้นหลังสีเขียว

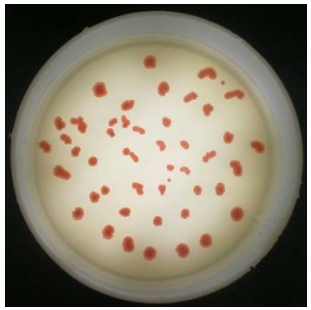
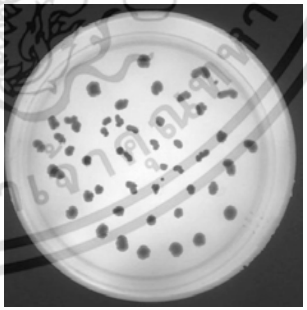
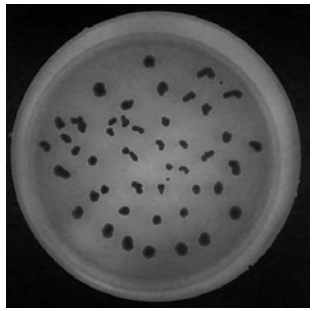
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.3 (ต่อ)

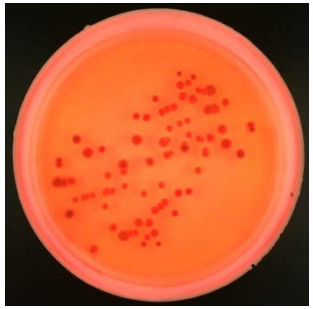
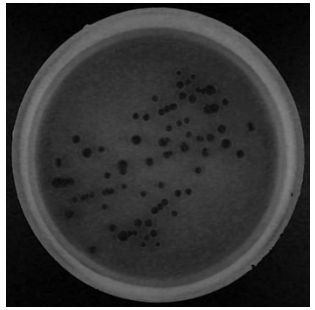
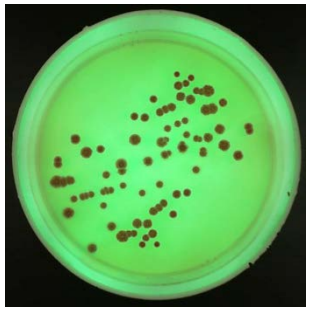
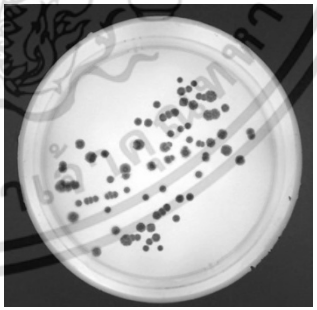
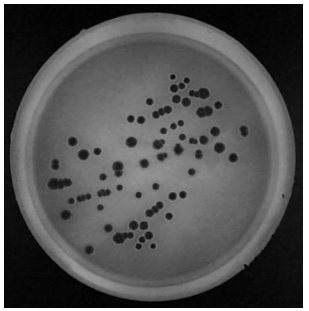
พื้นหลังสีน้ำเงิน

ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

พื้นหลังสีขาว

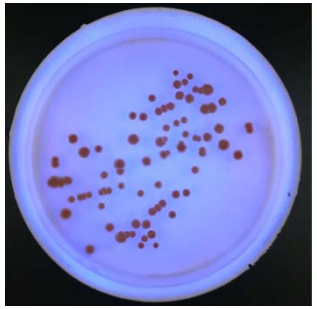
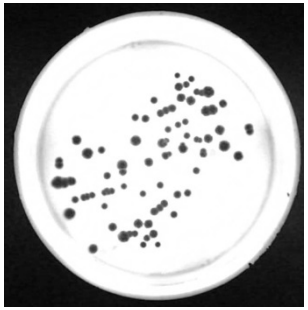
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.4 ภาพโคโลนีสีม่วงกับพื้นหลังสีต่างๆ

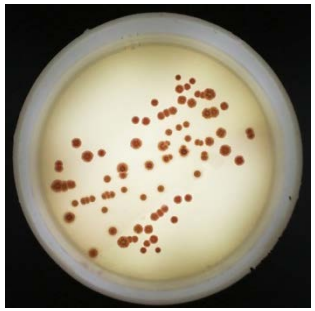
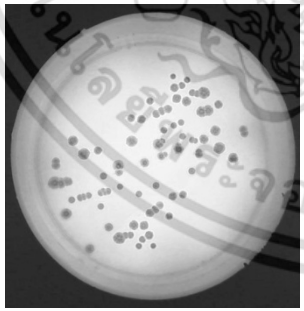
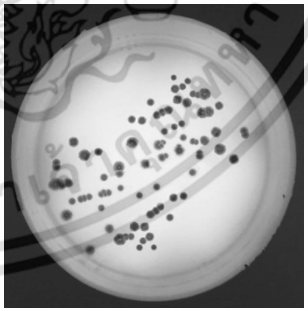
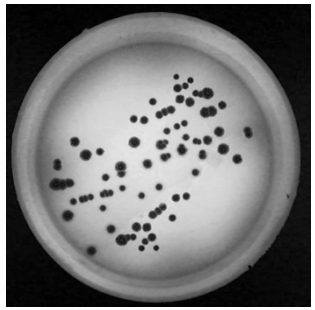
พื้นหลังสีแดง			
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			
พื้นหลังสีเขียว			
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.4 (ต่อ)

พื้นหลังสีน้ำเงิน

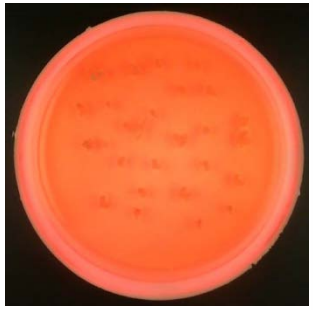
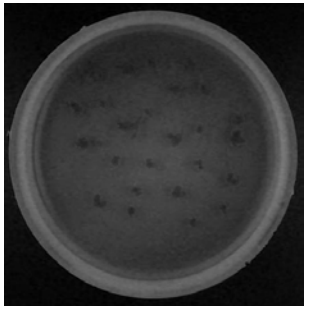
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

พื้นหลังสีขาว

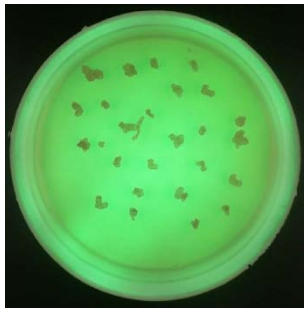
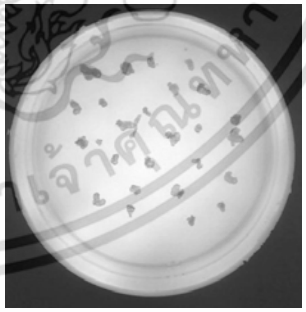
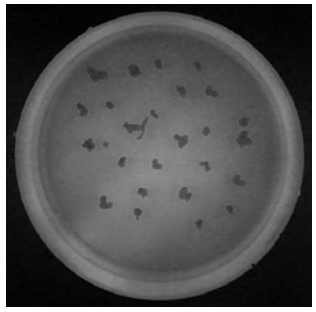
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.5 ภาพโคโลนีสีครีมกับพื้นหลังสีต่างๆ

พื้นหลังสีแดง

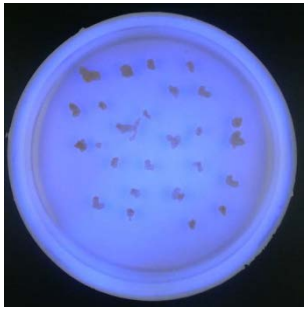
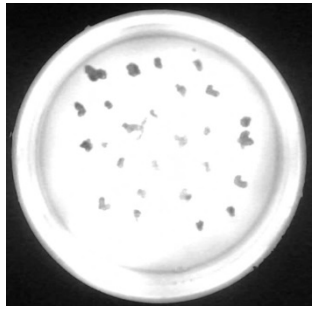
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

พื้นหลังสีเขียว

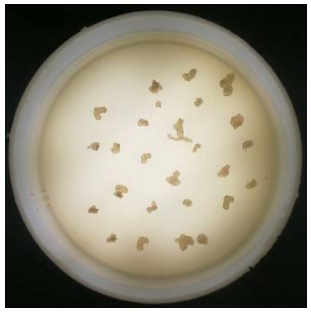
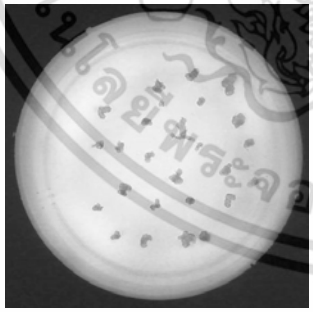
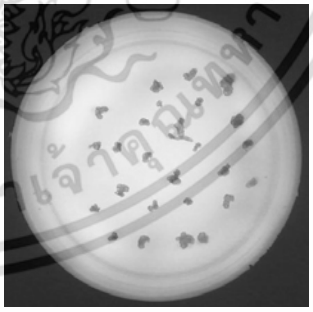
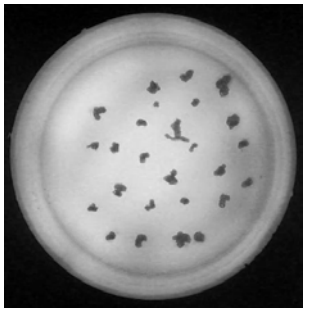
ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

ตารางที่ 5.5 (ต่อ)

พื้นหลังสีน้ำเงิน

ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

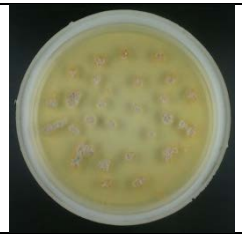
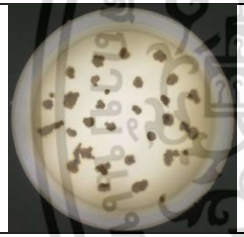
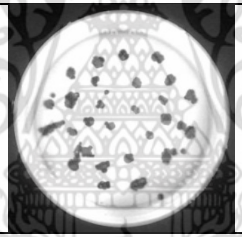
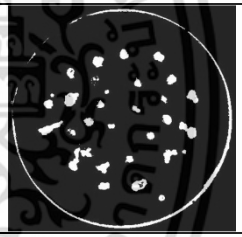
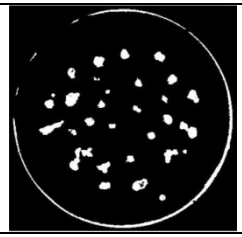
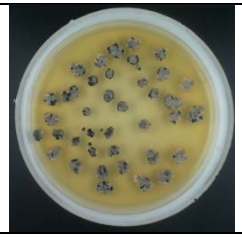
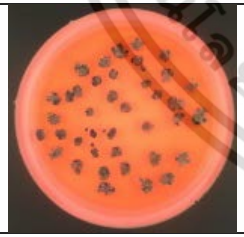
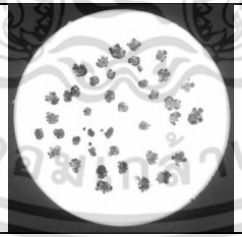
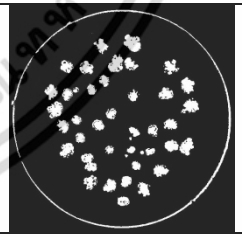
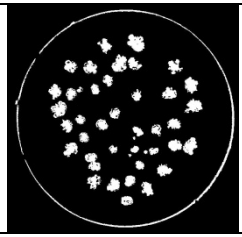
พื้นหลังสีขาว

ภาพต้นฉบับ	องค์ประกอบสีแดง	องค์ประกอบสีเขียว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน
			

5.3 ขั้นตอนการแยกโคโลนีสีต่างๆ ออกจากพื้นหลังโดยใช้วิธีการเทรชโฮลด์หลายระดับ

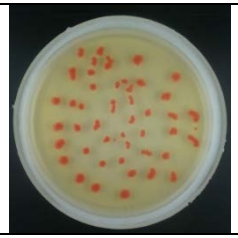
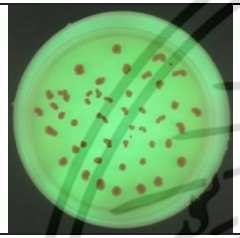
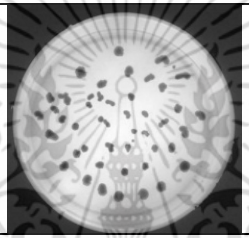
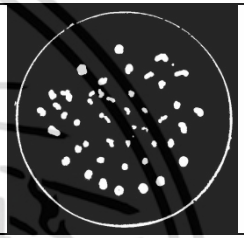
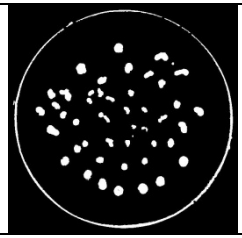
จากภาพถ่ายของโคโลนีสีต่างๆ ที่ต้องการนับจำนวนนั้น นำมาหาค่าพื้นหลังและองค์ประกอบสีที่เหมาะสม ต่อจากนั้นจึงนำมาแยกโคโลนีสีต้องการออกจกพื้นหลัง โดยใช้วิธีการทำเทรชโฮลด์หลายระดับ แสดงดังตารางที่ 5.6

ตารางที่ 5.6 ขั้นตอนการแยกโคโลนีออกจากพื้นหลังโดยวิธีการทำเทรชโฮลด์หลายระดับ

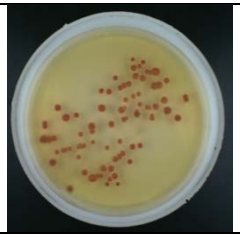
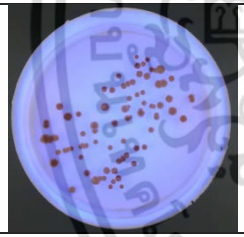
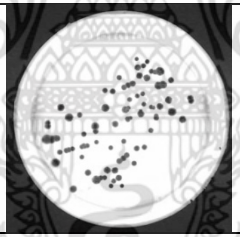
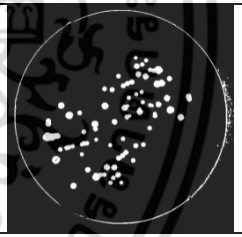
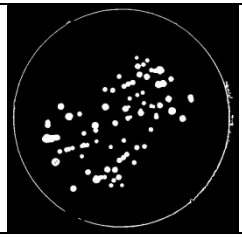
โคโลนีสีขาว				
เชื้อโคโลนี	ภาพพื้นหลังสีขาว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน	การทำเทรชโฮลด์	มอร์โฟโลยี
				
โคโลนีสีดำ				
เชื้อโคโลนี	ภาพพื้นหลังสีแดง	องค์ประกอบสีแดง	การทำเทรชโฮลด์	มอร์โฟโลยี
				

ตารางที่ 5.6 (ต่อ)

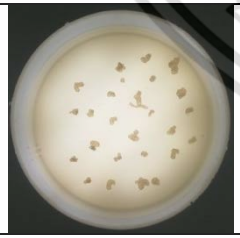
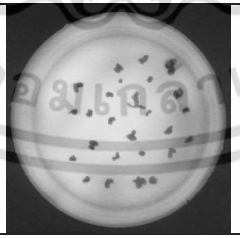
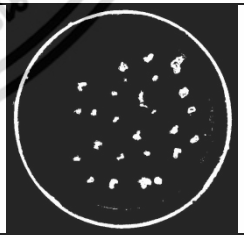
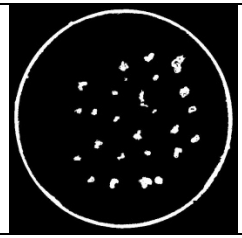
โคโลนีชมพู

เชื้อโคโลนี	ภาพพื้นหลังสีเขียว	องค์ประกอบสีเขียว	การทำเทรชโฮลด์	มอร์โฟโลยี
				

โคโลนีสีม่วง

เชื้อโคโลนี	ภาพพื้นหลังสีน้ำเงิน	องค์ประกอบสีน้ำเงิน	การทำเทรชโฮลด์	มอร์โฟโลยี
				

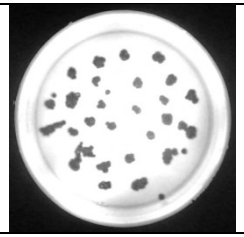
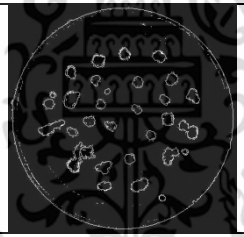
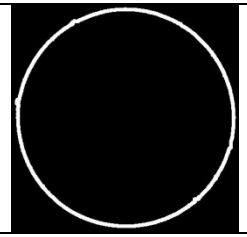
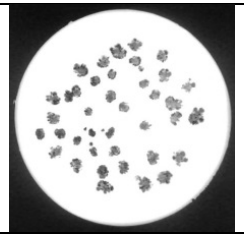
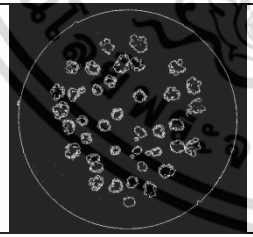
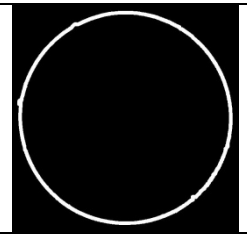
โคโลนีสีครีม

เชื้อโคโลนี	ภาพพื้นหลังสีขาว	องค์ประกอบสีน้ำเงิน	การทำเทรชโฮลด์	มอร์โฟโลยี
				

5.4 ขั้นตอนการหาขอบของจานเพาะเชื้อโดยใช้วิธีการหาขอบภาพ

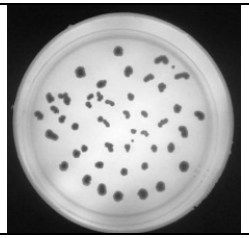
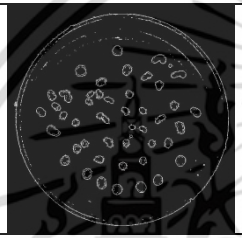
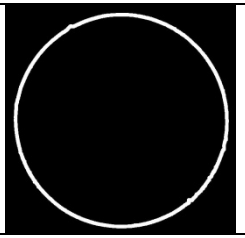
จากภาพถ่ายของโคโลนีสีต่างๆบนจานเพาะเชื้อ จะยังคงมีภาพของขอบจานเพาะเชื้อปรากฏอยู่อย่างชัดเจน จึงใช้วิธีการหาขอบภาพของ Prewitt ในการลบขอบของจานเพาะเชื้อ แสดงดังตารางที่ 5.7

ตารางที่ 5.7 ขั้นตอนการหาขอบภาพของจานเพาะเชื้อ

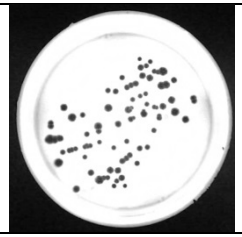
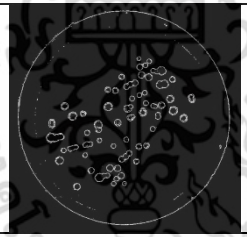
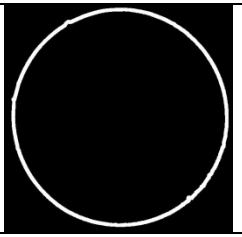
โคโลนีสีขาว			
ภาพองค์ประกอบสี	หาขอบโดยใช้ Prewitt	ลบส่วนที่ไม่ใช่ขอบจาน	การขยาย
			
โคโลนีสีดำ			
ภาพองค์ประกอบสี	หาขอบโดยใช้ Prewitt	ลบส่วนที่ไม่ใช่ขอบจาน	การขยาย
			

ตารางที่ 5.7 (ต่อ)

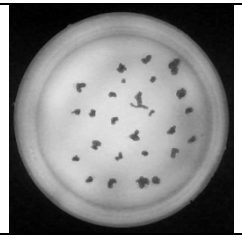
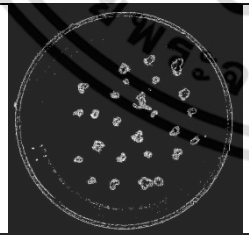
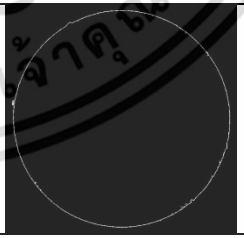
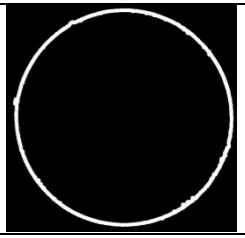
โคโลนีสีชมพู

ภาพองค์ประกอบสี	หาขอบโดยใช้ Prewitt	ลบส่วนที่ไม่ใช่ขอบจาน	การขยาย
			

โคโลนีสีม่วง

ภาพองค์ประกอบสี	หาขอบโดยใช้ Prewitt	ลบส่วนที่ไม่ใช่ขอบจาน	การขยาย
			

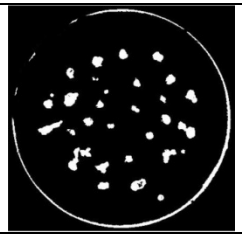
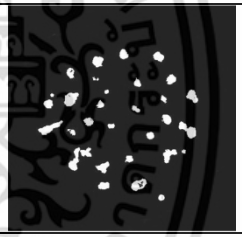
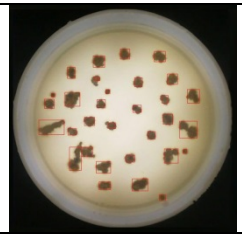
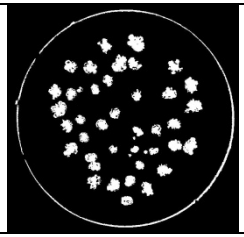
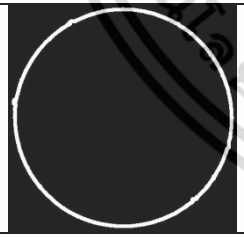
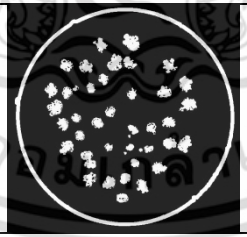
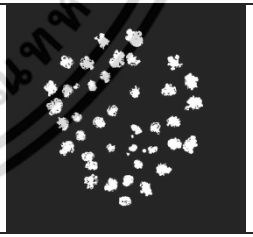
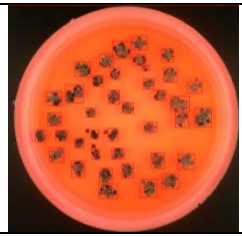
โคโลนีสีครีม

ภาพองค์ประกอบสี	หาขอบโดยใช้ Prewitt	ลบส่วนที่ไม่ใช่ขอบจาน	การขยาย
			

5.5 ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนี

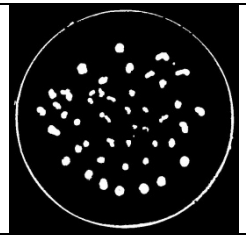
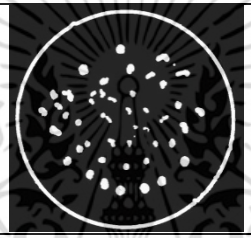
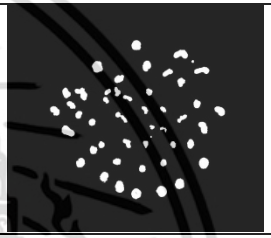
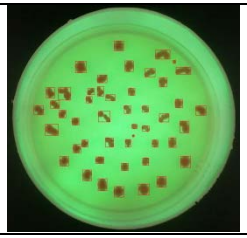
การนำภาพที่ผ่านขั้นตอนการแยกโคโลนีออกจากพื้นหลังโดยใช้การทำเทรชโฮลด์หลายระดับ และภาพที่ผ่านการหาขอบภาพของจานเพาะเชื้อโดยใช้วิธีการของ Prewitt จะทำให้ได้ภาพผลลัพธ์ที่ไม่มีขอบของจานเพาะเชื้อปรากฏอยู่ แสดงดังตารางที่ 5.8

ตารางที่ 5.8 ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนี

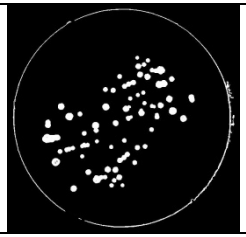
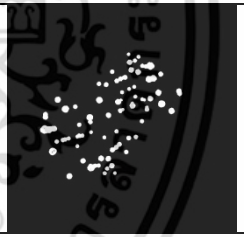
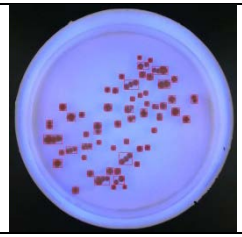
โคโลนีสีขาว				
การทำเทรชโฮลด์	การหาขอบจานเพาะเชื้อ	ขั้นตอนการ OR ภาพ	การลบขอบจานเพาะเชื้อ	ผลลัพธ์ที่ได้
				
โคโลนีสีดำ				
การทำเทรชโฮลด์	การหาขอบจานเพาะเชื้อ	ขั้นตอนการ OR ภาพ	การลบขอบจานเพาะเชื้อ	ผลลัพธ์ที่ได้
				

ตารางที่ 5.8 (ต่อ)

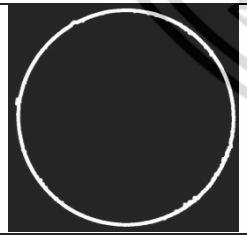
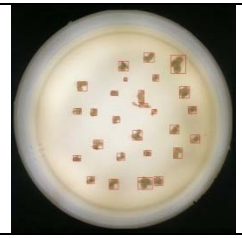
โคโลนีสีชมพู

การทำเทรชโฮลด์	การหาขอบจานเพาะเชื้อ	ขั้นตอนการ OR ภาพ	การลบขอบจานเพาะเชื้อ	ผลลัพธ์ที่ได้
				

โคโลนีสีม่วง

การทำเทรชโฮลด์	การหาขอบจานเพาะเชื้อ	ขั้นตอนการ OR ภาพ	การลบขอบจานเพาะเชื้อ	ผลลัพธ์ที่ได้
				

โคโลนีสีครีม

การทำเทรชโฮลด์	การหาขอบจานเพาะเชื้อ	ขั้นตอนการ OR ภาพ	การลบขอบจานเพาะเชื้อ	ผลลัพธ์ที่ได้
				

5.6 ผลการทดลองของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ

5.6.1 การหาค่าสีพื้น และองค์ประกอบสีที่เหมาะสำหรับโคโลนีแต่ละสี

จากการพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีนี้ ได้ทำการเก็บตัวอย่างของโคโลนีสีต่างๆ มา เพื่อหาค่าสีของพื้นที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี โดยเมื่อนำภาพมาวิเคราะห์ฮิสโตแกรม ได้ผลตามตารางที่ 5.9

ตารางที่ 5.9 สีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี

สีของโคโลนี	สีพื้นที่เหมาะสม	องค์ประกอบสีที่เหมาะสม
โคโลนีสีขาว	ขาว	น้ำเงิน
โคโลนีสีดำ	แดง	แดง
โคโลนีสีชมพู	เขียว	เขียว
โคโลนีสีม่วง	น้ำเงิน	น้ำเงิน
โคโลนีสีครีม	ขาว	น้ำเงิน

5.6.2 ผลการนับจำนวนโคโลนี

โดยที่ค่าของสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมนั้น จะนำมาเป็นค่าเริ่มต้นสำหรับซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ ซึ่งขั้นตอนของการหาค่าความผิดพลาดนั้นสามารถทำได้โดยการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีไว้ก่อนแล้วอย่างถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญ ผลการทดลอง แสดงในตารางที่ 5.10 - ตารางที่ 5.14 และได้นำผลการทดลองมาหาค่าความผิดพลาดของงานวิจัยได้ดังสมการที่ (5.1)

$$\text{ค่าความผิดพลาด (\%)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง - จำนวนโคโลนีที่นับได้}}{\text{จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง}} \times 100 \qquad (5.1)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.10 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีขาว

จานเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความผิดพลาด (%)
	จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง	จำนวนโคโลนีที่นับได้	
จานที่ 1	61	58	4.9
จานที่ 2	72	68	5.6
จานที่ 3	63	58	7.9
จานที่ 4	68	64	5.9
จานที่ 5	98	95	3.1
จานที่ 6	74	69	6.7
จานที่ 7	61	57	6.6
จานที่ 8	59	59	0
จานที่ 9	101	99	2
จานที่ 10	88	85	3.4
จานที่ 11	74	72	2.7
จานที่ 12	65	62	4.6
จานที่ 13	56	54	3.6
จานที่ 14	73	69	5.5
จานที่ 15	69	65	5.8
จานที่ 16	85	84	1.2
จานที่ 17	71	68	4.2
จานที่ 18	85	79	7.1
จานที่ 19	67	63	6
จานที่ 20	94	92	2.1
ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย			4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.11 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีดำ

จานเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความผิดพลาด (%)
	จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง	จำนวนโคโลนีที่นับได้	
จานที่ 1	45	42	6.7
จานที่ 2	49	47	4.1
จานที่ 3	47	43	8.5
จานที่ 4	68	67	1.5
จานที่ 5	54	52	3.8
จานที่ 6	58	54	6.9
จานที่ 7	41	40	2.4
จานที่ 8	78	75	3.8
จานที่ 9	45	48	6.7
จานที่ 10	32	31	3.1
จานที่ 11	160	152	5
จานที่ 12	142	137	3.5
จานที่ 13	150	142	5.3
จานที่ 14	123	120	2.4
จานที่ 15	145	143	1.4
จานที่ 16	103	98	4.9
จานที่ 17	112	107	4.5
จานที่ 18	92	88	4.3
จานที่ 19	189	185	2.1
จานที่ 20	125	121	3.2
ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย			4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.12 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีชมพู

จานเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความผิดพลาด (%)
	จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง	จำนวนโคโลนีที่นับได้	
จานที่ 1	84	81	3.6
จานที่ 2	56	54	3.6
จานที่ 3	78	72	7.7
จานที่ 4	95	91	4.2
จานที่ 5	57	55	3.5
จานที่ 6	53	49	7.5
จานที่ 7	49	48	2
จานที่ 8	68	62	8.8
จานที่ 9	62	59	4.8
จานที่ 10	51	46	9.8
จานที่ 11	76	73	5.3
จานที่ 12	85	82	3.5
จานที่ 13	91	87	4.4
จานที่ 14	49	45	8.2
จานที่ 15	52	50	3.8
จานที่ 16	66	63	4.5
จานที่ 17	72	71	1.4
จานที่ 18	47	43	8.5
จานที่ 19	74	69	6.8
จานที่ 20	42	37	11.9
ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย			5.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.13 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีม่วง

จานเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความผิดพลาด (%)
	จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง	จำนวนโคโลนีที่นับได้	
จานที่ 1	105	99	5.7
จานที่ 2	112	105	6.3
จานที่ 3	108	100	7.4
จานที่ 4	134	124	7.5
จานที่ 5	98	89	9.2
จานที่ 6	120	113	5.8
จานที่ 7	111	107	3.6
จานที่ 8	141	130	7.8
จานที่ 9	137	129	5.8
จานที่ 10	123	120	2.5
จานที่ 11	109	102	6.4
จานที่ 12	123	118	4.2
จานที่ 13	106	101	4.7
จานที่ 14	87	82	5.7
จานที่ 15	93	90	3.2
จานที่ 16	95	88	7.3
จานที่ 17	81	75	7.4
จานที่ 18	125	121	3.2
จานที่ 19	108	101	6.5
จานที่ 20	122	111	9
ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย			6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.14 ผลการนับจำนวนเชื้อโคโลนีสีครีม

จานเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความผิดพลาด (%)
	จำนวนโคโลนีที่ถูกต้อง	จำนวนโคโลนีที่นับได้	
จานที่ 1	84	79	6
จานที่ 2	50	45	10
จานที่ 3	98	95	3.1
จานที่ 4	56	51	8.9
จานที่ 5	102	97	4.9
จานที่ 6	98	93	5.1
จานที่ 7	82	77	6.1
จานที่ 8	76	73	4
จานที่ 9	75	73	2.7
จานที่ 10	77	70	9.1
จานที่ 11	123	118	4.1
จานที่ 12	85	84	1.2
จานที่ 13	69	63	8.7
จานที่ 14	92	90	2.2
จานที่ 15	83	78	6
จานที่ 16	92	90	2.2
จานที่ 17	96	91	5.2
จานที่ 18	81	78	3.7
จานที่ 19	87	81	6.9
จานที่ 20	54	52	3.7
ค่าความผิดพลาดเฉลี่ย			5.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6.3 ผลของการหมุนจานเพาะเชื้อในแนวระนาบ

ในการทดลองนี้ ได้นำจานเพาะเชื้อมาทำการหมุนปรับองศาในแนวระนาบ เพื่อหาว่าการนับจำนวนโคโลนีที่มุมแตกต่างกันนั้นมีค่าผิดพลาดหรือไม่ โดยในการทดลองได้ใช้จานเพาะเชื้อโคโลนีสีละ 5 ตัวอย่าง และหมุนจานเพาะเชื้อครั้งละ 45 องศา แสดงดังตารางที่ 5.15 – ตารางที่ 5.19

ตารางที่ 5.15 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีขาวในแนวระนาบ

จานเพาะเชื้อ	จำนวนโคโลนีที่นับได้								ค่าความผิดพลาด (%)
	0 องศา	45 องศา	90 องศา	135 องศา	180 องศา	225 องศา	270 องศา	315 องศา	
จานที่ 1	58	58	58	58	58	58	58	58	0
จานที่ 2	68	68	68	68	68	68	68	68	0
จานที่ 3	58	58	58	58	58	58	58	58	0
จานที่ 4	64	64	64	64	64	64	64	64	0
จานที่ 5	95	95	95	95	95	95	95	95	0

ตารางที่ 5.16 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีดำในแนวระนาบ

จานเพาะเชื้อ	จำนวนโคโลนีที่นับได้								ค่าความผิดพลาด (%)
	0 องศา	45 องศา	90 องศา	135 องศา	180 องศา	225 องศา	270 องศา	315 องศา	
จานที่ 1	42	42	42	42	42	42	42	42	0
จานที่ 2	47	47	47	47	47	47	47	47	0
จานที่ 3	43	43	43	43	43	43	43	43	0
จานที่ 4	67	67	67	67	67	67	67	67	0
จานที่ 5	54	54	54	54	54	54	54	54	0

ตารางที่ 5.17 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีชมพูในแนวระนาบ

จานเพาะเชื้อ	จำนวนโคโลนีที่นับได้								ค่าความผิดพลาด (%)
	0 องศา	45 องศา	90 องศา	135 องศา	180 องศา	225 องศา	270 องศา	315 องศา	
จานที่ 1	81	81	81	81	81	81	81	81	0
จานที่ 2	54	54	54	54	54	54	54	54	0
จานที่ 3	72	72	72	72	72	72	72	72	0
จานที่ 4	91	91	91	91	91	91	91	91	0
จานที่ 5	55	55	55	55	55	55	55	55	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.18 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีม่วงในแนวระนาบ

จานเพาะเชื้อ	จำนวนโคโลนีที่นับได้								ค่าความผิดพลาด (%)
	0 องศา	45 องศา	90 องศา	135 องศา	180 องศา	225 องศา	270 องศา	315 องศา	
จานที่ 1	99	99	99	99	99	99	99	99	0
จานที่ 2	105	105	105	105	105	105	105	105	0
จานที่ 3	100	100	100	100	100	100	100	100	0
จานที่ 4	124	124	124	124	124	124	124	124	0
จานที่ 5	89	89	89	89	89	89	89	89	0

ตารางที่ 5.19 ค่าความผิดพลาดของการหมุนจานเพาะเชื้อโคโลนีสีครีมในแนวระนาบ

จานเพาะเชื้อ	จำนวนโคโลนีที่นับได้								ค่าความผิดพลาด (%)
	0 องศา	45 องศา	90 องศา	135 องศา	180 องศา	225 องศา	270 องศา	315 องศา	
จานที่ 1	79	79	79	79	79	79	79	79	0
จานที่ 2	45	45	45	45	45	45	45	45	0
จานที่ 3	95	95	95	95	95	95	95	95	0
จานที่ 4	51	51	51	51	51	51	51	51	0
จานที่ 5	97	97	97	97	97	97	97	97	0

5.6.4 การเปรียบเทียบคุณสมบัติ

การเปรียบเทียบลักษณะการทำงานและลักษณะทางกายภาพของการนับทั้ง 2 แบบ แสดงดังตารางที่ 5.20

ตารางที่ 5.20 เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี กับการตรวจนับโดยผู้เชี่ยวชาญ

ตัวแปร	ผู้เชี่ยวชาญ	เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี
ความสะดวกสบาย	ยาก	ง่าย
ค่าใช้จ่าย	แพง	ถูก
ความเร็วในการนับ	ช้ากว่า	เร็วกว่า
การพกพาอุปกรณ์	ยาก	ง่าย
ประสิทธิภาพ	ดีมาก	ดี
ระยะเวลาในการฝึกฝน	เร็วกว่า	ช้ากว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6.5 วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ โดยจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อทั้งหมด 100 ภาพ ซึ่งโคโลนีที่ใช้ในการทดลองนั้นจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตรขึ้นไป โดยที่โคโลนีสีขาว, โคโลนีสีครีมเหมาะสมกับพื้นสีขาว โคโลนีสีดำเหมาะสมกับพื้นสีแดง โคโลนีสีชมพูเหมาะสมกับพื้นสีเขียว และโคโลนีสีม่วงเหมาะสมกับพื้นสีน้ำเงิน ซึ่งพบว่าค่าความผิดพลาดของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีเปรียบเทียบกับการตรวจนับโดยผู้เชี่ยวชาญ แสดงดังตารางที่ 5.21

ตารางที่ 5.21 ค่าความผิดพลาดของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี

สีของโคโลนี	ความผิดพลาดสูงสุด (%)	ความผิดพลาดต่ำสุด (%)	ความผิดพลาดเฉลี่ย (%)
ขาว	7.9	0	4.4
ดำ	8.5	1.4	4.2
ชมพู	11.9	1.4	5.7
ม่วง	9.2	2.5	6
ครีม	10	1.2	5.2
การทดลองนี้มีค่าความผิดพลาดเฉลี่ยคือ			5.1

โดยในขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนีนั้นสามารถนำจานเพาะเชื้อมาวางในรูปแบบใดก็ได้ เนื่องจากกล้องเว็บแคมและจานเพาะเชื้อติดตั้งในมุมที่ตั้งฉากกัน (90 องศา) จึงทำให้การหมุนจานเพาะเชื้อในแนวระนาบไม่มีผลต่อการนับจำนวนโคโลนี และจากผลการทดลองเหตุผลหลักของค่าความผิดพลาดเกิดจากการที่มีโคโลนีเกิดขึ้นบริเวณของขอบจานเพาะเชื้อ เนื่องจากในขั้นตอนของการนับจำนวนโคโลนีนั้น ซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพไม่สามารถแยกภาพของโคโลนีออกจากขอบของจานเพาะเชื้อได้ จึงทำให้มีการลบโคโลนีบริเวณขอบจานเพาะเชื้อนั้นออกไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

เนื้อหาในบทนี้เป็นการสรุปงานวิจัยเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ สรุปผลการนับจำนวนที่ได้จากการใช้การประมวลผลภาพตามการทดลอง และผลการเปรียบเทียบคุณสมบัติที่ได้ระหว่างเครื่องนี้กับผู้เชี่ยวชาญตลอดจนข้อเสนอแนะต่างๆ หลังจากที่ได้สรุปผลแล้วโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

6.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการศึกษาและพัฒนาเครื่องต้นแบบซึ่งเป็นเครื่องมือสำหรับการจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี เพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการฝึกฝนบุคลากร และใช้เวลาในการนับที่น้อยกว่า ซึ่งงานวิจัยที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ได้นำเสนอการนับจำนวนโคโลนีสี ขาว ดำ ชมพู ม่วง และครีม ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตรขึ้นไป โดยมีขั้นตอนการทำงานเริ่มจากการนำภาพของโคโลนีสีต่างๆ มาวิเคราะห์หาค่าสีพื้นและค่าขององค์ประกอบสีที่เหมาะสม หลังจากนั้นกระบวนการประมวลผลภาพจะแบบออกเป็น 2 ขั้นตอน คือการแยกเชื้อโคโลนีออกจากพื้นหลังโดยใช้การวิธีการเทรชโฮล์หลายระดับ และการหาขอบของจานเพาะเชื้อโดยวิธีการหาขอบภาพแบบ Prewitt หลังจากนั้นนำภาพที่ได้จากทั้ง 2 ขั้นตอนมา OR กัน ซึ่งเป็นวิธีการลบขอบของจานเพาะเชื้อออก และจึงทำการนับจำนวนโคโลนีโดยใช้วิธีการกำหนด เลเบลให้กับแต่ละกลุ่มพิกเซล จากผลการทดลองของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีเปรียบเทียบผลของการนับคัดแยกของผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 100 ตัวอย่าง พบว่ามีค่าความผิดพลาดเฉลี่ยคือ 5.1% ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างกันมากนักและสามารถยอมรับได้

6.2 แนวทางการพัฒนาต่อ

1. ในงานวิจัยนี้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของโคโลนีที่บริเวณขอบของจานเพาะเชื้อ ซึ่งอัลกอริทึมของซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพไม่สามารถแยกภาพของโคโลนีออกจากภาพของขอบจานได้ จึงทำให้การนับจำนวนเกิดข้อผิดพลาด ดังนั้นในการพัฒนาต่อจึงควรจะทำการพัฒนาอัลกอริทึมของซอฟต์แวร์ให้สามารถแยกภาพของโคโลนีที่บริเวณขอบจานออกได้ เพื่อความแม่นยำของโปรแกรม โดยใช้วิธีการหาความหนาของขอบภาพ หรือวิธีการหาความเป็นวงกลม

2. ในงานวิจัยนี้สามารถนับจำนวนของโคโลนีได้ทั้งหมด 5 สี ได้แก่ สีขาว สีดำ สีชมพู สีม่วง และสีครีม โดยในตามธรรมชาตินั้นโคโลนีจะมีสีมากมาย ซึ่งสามารถจำแนกสีของโคโลนีเพิ่มเติมโดยอาจจะใช้เทคนิคการเปลี่ยนสีพื้นให้มีสีที่มากขึ้น และใช้การวิเคราะห์ฮิสโตแกรมมาช่วยซึ่งสามารถที่เพิ่มความถูกต้องของการจำแนกสีให้กับซอฟต์แวร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. หน้าจออินเตอร์เฟส อาจต้องมีการปรับปรุงเพื่อให้ง่ายต่อการใช้งานและมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น โดยเพิ่มหน้าจอแสดงผลภาพที่มีรายระเอียดมากขึ้น ซึ่งมีการแสดงผลค่าฮิสโตแกรม และมีปุ่มสำหรับตั้งค่าพารามิเตอร์ที่มากขึ้น โดยสามารถกำหนดค่า T_1 และ T_2 ได้ มีการบันทึกข้อมูลเพื่อดูย้อนหลังได้

4. ปรับปรุงการออกแบบตู้นับเชื้อ ให้มีความแข็งแรงทนทานเพื่อยืดอายุการใช้งาน และออกแบบวงจรและการติดตั้งอุปกรณ์ต่างให้มีการจัดวางที่ลงตัวมากขึ้นเพื่อที่จะสามารถน้ำไปใช้ในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

5. พัฒนาซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ โดยใช้โปรแกรมอื่นที่มีราคาถูกกว่า MATLAB ในการพัฒนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] รัตนภรณ์ ศรีวิบูลย์. **แอคติโนมัยซีท.** สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี. 2556

[2] ประภาวดี ติษยาธิคม. **"โรคอาหารเป็นพิษสาเหตุจากเชื้อ Staphylococcus aureus."** [Online]. Available : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=210. 2556

[3] อภิญญา จันทรวัฒนะ. **"เทคนิคพื้นฐานทางจุลชีววิทยา."** [Online]. Available : http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/521302/1.php. 2557

[4] บงกชวรรณ สุตะพาหะ. **การตรวจพิสูจน์เชื้อราก่อโรคทางห้องปฏิบัติการ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. โครงการตำราคณะ เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์ดาราวรรณการพิมพ์. 2550

[5] จรัส บุณยธรรมา. **"การเปล่งแสงของหลอด LED."** [Online]. Available : http://www.rmutphysics.com/charud/howstuffwork/led/thaiLED2.htm. 2557

[6] ไพโรจน์ คล้ายเพ็ชร์. "วิธีการวัดสีแผ่นพิมพ์ธนบัตรด้วยการประมวลผลภาพดิจิทัลเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจสอบคุณภาพงานพิมพ์สีพื้น" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์คอมพิวเตอร์ ภาควิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2556

[7] X. Liu, S. Wang, L. Sendi, and M. J. Caulfield. "High-throughput imaging of bacterial colonies grown on filter plates with application to serum bactericidal assays." **Journal of Immunological Methods**, 2004, pp. 187 - 193

[8] National Standard of The People's Republic of China [S]. Food hygiene inspection methods (Microbiology section), Beijing, China Standard Press, 1985, pp.194 - 196.

[9] M. Niyazi, I. Niyazi, C. Belka. "Counting colonies of clonogenic assays by using densitometric software." **Radiation Oncology**, vol. 2, 2007

[10] H. Men, Y. Wu, X. Li, Z. Kou, S. Yang. "Counting Method of Heterotrophic Bacteria Based on Image Processing." **IEEE Publication**, 2008, pp. 1238 – 1241.

[11] S. Wei-zheng, W. Ya-chun, Z. Jie, Z. Hui. "Experimental Study for Automatic Colony Counting System Based on Image Processing." **International Conference on Computer Application and System Modeling**, Taiyuan, Chaina, 2010, pp. V6-612 - V6-615

[12] C. Zhang, W. Chen, W. Liu, C. Chen, "An Automated Bacterial Colony Counting System." **International Conference on Sensor Networks, Ubiquitous, and Trustworthy Computing,** Taichung, Taiwan, 2008, pp. 233-240

[13] Ates H., Gerek O.N., "An Image-Processing Based Automated Bacteria Colony Counter." **International Symposium on Digital Object Identifier**, Guzelyurt, Turkey, 2009, pp. 18-23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[14] P. Chongsomchai, N. Maneerat, R. Varakulsiripunth, S. Junyapoon. “Semi - Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing.” **1st International Symposium on Technology for Sustainability**, Bangkok, Thailand, 2011, pp. 64 - 67

[15] Yueh-Ru Yang. “Implementation of a Colorful RGB-LED Light Source with an 8-bit Microcontroller.” **IEEE Conference on Industrial Electronics and Applicationsis**, Taichung, Taiwan, 2010, pp. 1951 - 1956

[16] ภิญโญ แย้มพราย. “การคัดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยอ้างอิงการวิเคราะห์ส่วนประกอบพื้นฐาน.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2550

[17] ปุระชัย จงสมชัย. “ชุดตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยหลักการการประมวลผลภาพ” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมระบบควบคุม บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 2557

[18] รศ.ดร.ชูชาติ ปิณฑวิรุจน์. **การประมวลผลภาพดิจิตอลขั้นสูงด้วย Matlab** พิมพ์ครั้งที่ 1 ภาควิชาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล., กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์วีเจ. 2551

[19] รศ.ดร.ชูชาติ ปิณฑวิรุจน์. **การประมวลผลภาพดิจิตอลด้วย Matlab.** พิมพ์ครั้งที่ 2 ภาควิชาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล., กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์มีนเซอร์วิส ซัพพลาย. 2555

[20] ผศ.ดร.สมเกียรติ อุดมหรรษากุล. **การประมวลผลภาพเบื้องต้น** พิมพ์ครั้งที่ 1 ภาควิชาวิศวกรรมสารสนเทศ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล., กรุงเทพมหานคร. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

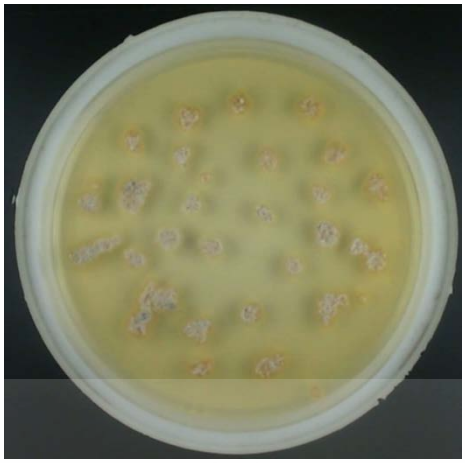
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

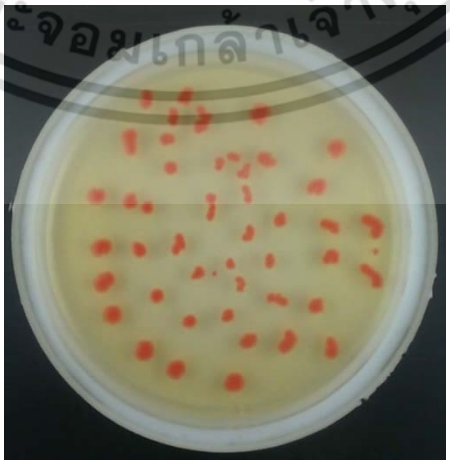
โคโลนีที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



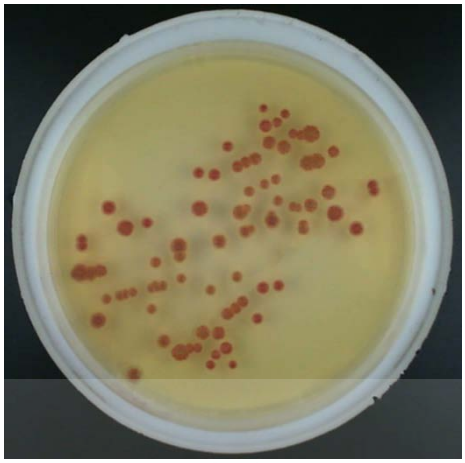
รูปที่ ก-1 โคโลนีสีขาว

รูปที่ ก-2 โคโลนีสีดำ



รูปที่ ก-3 โคโลนีสีชมพู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก-4 โคโลนีสีม่วง

รูปที่ ก-5 โคโลนีสีครีม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

บทความทางวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์

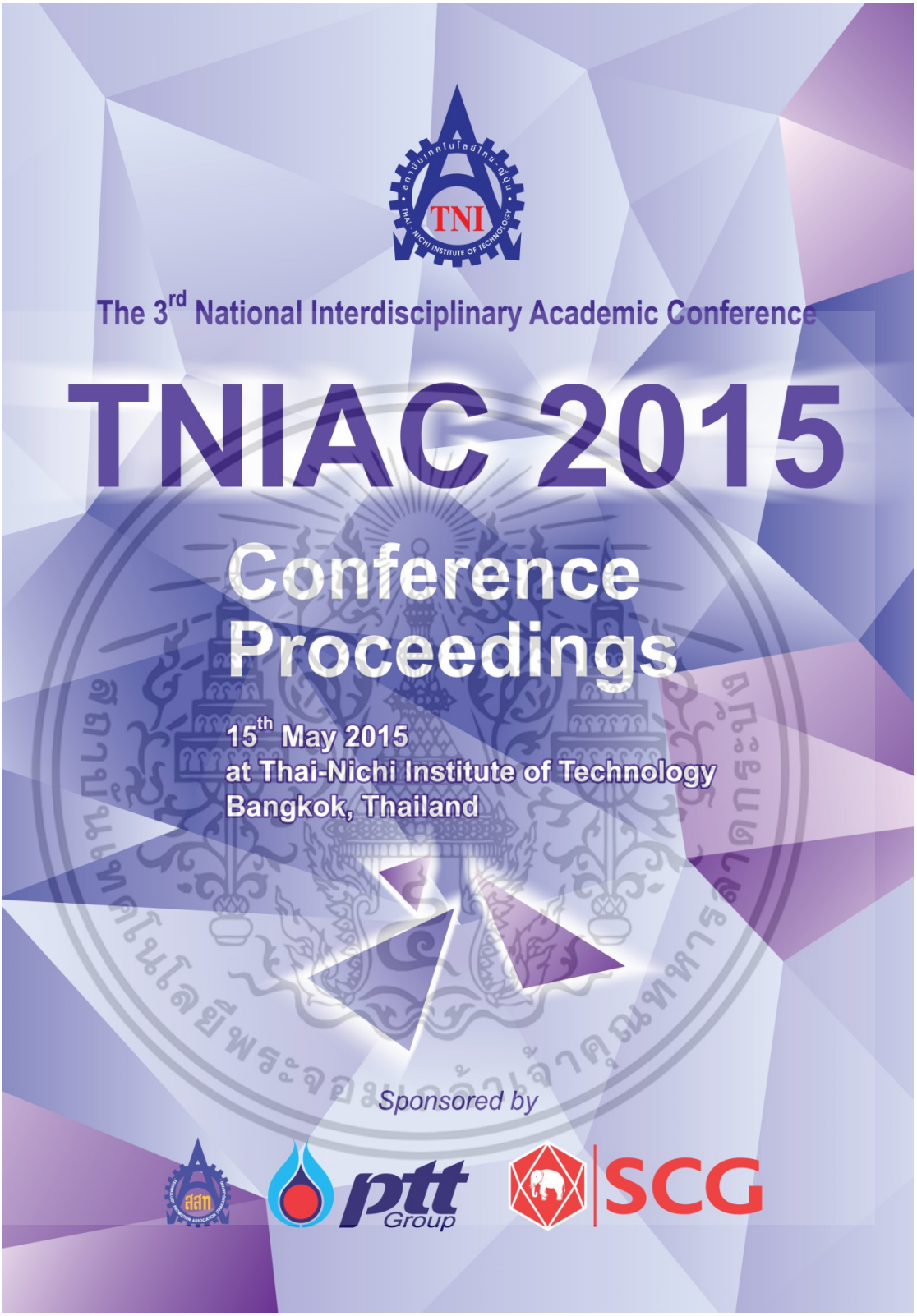
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-1 บทความทางวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์

[1] รัตนพล ยุทธวิริยะ, นพดล มณีรัตน์, รัตติกร วรากูลศิริพันธุ์, “เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ” การประชุมสหวิทยาการศึกษา ครั้งที่ 3 สถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น, 15 พฤษภาคม 2558, กรุงเทพมหานคร, ไทย, หน้า 121-125.

[2] รัตนพล ยุทธวิริยะ, นพดล มณีรัตน์, รัตติกร วรากูลศิริพันธุ์, “เครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทกึ่งอัตโนมัติโดยใช้การประมวลผลภาพ” การประชุมวิชาการ งานวิจัย และพัฒนาเชิงประยุกต์ ครั้งที่ 7, 8-10 กรกฎาคม 2558, ตรัง, ไทย, หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The 3rd National Interdisciplinary Academic Conference (TNIAC 2015)
Thai-Nichi Institute of Technology, May 15, 2015

การประชุมสหวิทยาการศึกษาครั้งที่ 3
สถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น, 15 พฤษภาคม 2558

เครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ

Colony Counting and Color Classification Device based on Image Processing

รัตนพล ยุทธวิริยะ[†1], นพดล มณีรัตน์[†2], รัตติกร วรากูลศิริพันธุ์[♯3]

[†] คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
[1] mixrattanapon@hotmail.com
[2] kmnoppad@kmitl.ac.th
[♯] คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น ถนนพัฒนาการ แขวงสวนหลวง เขตสวนหลวง กรุงเทพฯ 10250
[3] ruttikorn@tni.ac.th

บทคัดย่อ

บทความฉบับนี้ได้นำเสนอการออกแบบและพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี ซึ่งประกอบด้วยสองส่วนหลัก คือ ฮาร์ดแวร์ และซอฟต์แวร์ ส่วนฮาร์ดแวร์คือส่วนของกล่องนับเชื้อ ซึ่งประกอบด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ใช้เป็นส่วนติดต่อกับคอมพิวเตอร์ และควบคุมการแสดงค่าสีของหลอดแอลอีดีชนิด RGB ซึ่งหลอดแอลอีดี จะถูกติดตั้งไว้ที่ส่วนพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ ส่วนซอฟต์แวร์คือส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งาน (User Interface) และส่วนที่ใช้ในการประมวลผลภาพ โดยขั้นตอนหลักของการประมวลผลภาพคือการพิจารณาองค์ประกอบสี การเทรชโฮลด์หลายระดับ และการกำจัดสัญญาณรบกวน โดยการใช้มอร์โฟโลยี การทดลองสามารถจำแนกสีของโคโลนีได้ 5 สี คือ ดำ ขาว ชมพู ม่วง และครีม ผลการทดลองของเครื่องนี้มีค่าความผิดพลาดเฉลี่ย 2.3% เมื่อเทียบกับการตรวจนับโดยผู้เชี่ยวชาญ ใช้เวลาในการประมวลผลที่น้อยกว่า ด้วยขนาดที่เล็กและพกพาสะดวก จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาได้

คำสำคัญ: การนับจำนวนโคโลนี, การประมวลผลภาพ, หลอดแอลอีดีชนิด RGB

Abstract

This paper presents the design and development of color classification and colony counting device. It comprises of two main parts which are hardware and software. The hardware consists of a micro-controller which is used to interface with personal computer and used to control the RGB LED bulbs. The LED bulbs are installed on the plate's surface. The software is the graphic user interface and image processing. The main steps of image processing are determining of color component, multilevel threshold and noise reduction by using morphology. The experiment can identify the color of colonies in 5 colors which are black, white, pink, purple and cream. The result of experiment has average error about 2.3% and it takes the less time to process compared with the experts. The device can be applied to biological laboratory by the small size and portability.

Keywords: Colony Counting, Image Processing, RGB LED

1. บทนำ

ในปัจจุบันความสะอาดนั้นเป็นสิ่งที่สำคัญ โดยเฉพาะในอาหาร เนื่องจากการบริโภคอาหารที่ไม่สะอาดเข้าไป อาจทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้ การนำเข้าและส่งออกอาหารจำเป็นต้องผ่านการตรวจสอบคุณภาพและการรับรองตามกฎหมายของประเทศนั้นๆ ความสะอาดในอุตสาหกรรมอาหารนั้นจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ วิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสะอาดของอาหารคือ การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งจะมีทั้งแบคทีเรียที่มีประโยชน์และให้โทษ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ เพื่อจำแนกชนิดและนับจำนวนโคโลนีจึงเป็นขั้นตอนพื้นฐาน [1] โดยปกติแล้วในการจำแนกชนิด และนับจำนวนโคโลนี จะใช้แรงงานคนเป็นหลัก [2] ซึ่งมีความยุ่งยากในการฝึกฝน ใช้เวลานาน อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการนับไม่คงที่ขึ้นอยู่กับความชำนาญของแต่ละบุคคล

จากความจำเป็นที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีหลายงานวิจัยที่ออกแบบและพัฒนาอุปกรณ์สำหรับตรวจนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพ แต่ยังมีข้อจำกัดด้านขนาดที่ใหญ่ เคลื่อนย้ายลำบาก อีกทั้งมีการออกแบบเฉพาะในส่วนของซอฟต์แวร์ จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของภาพถ่ายได้ [3-4] มีการออกแบบในส่วนของฮาร์ดแวร์ แต่สีของพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อยังมีเพียงสีเดียวจึงเกิดข้อผิดพลาดง่ายเมื่อโคโลนีมีสีที่ใกล้เคียงกับสีพื้นหลัง [5-6] และบางงานวิจัยยังพัฒนาให้มีราคาที่ถูกลง แต่ยังมีปัญหาด้านระบบโฟกัสและยังสามารถตรวจนับโคโลนีได้เพียงชนิดเดียว [7-8]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำเสนอการออกแบบโดยใช้กล่องที่มีขนาดที่เล็ก จึงทำให้มีน้ำหนักเบา มีหลอดแอลอีดีชนิด RGB [9] ติดตั้งที่พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ จึงช่วยลดข้อผิดพลาดเรื่องสีที่ใกล้เคียงกัน ช่วยให้สามารถแยกโคโลนีสีต่างๆ ได้หลากหลายสีมากขึ้น และยังง่ายต่อขั้นตอนการประมวลผลภาพ

2. การออกแบบชุดจำแนกสี และตรวจนับโคโลนี

2.1 การออกแบบกล่องนับเชื้อ

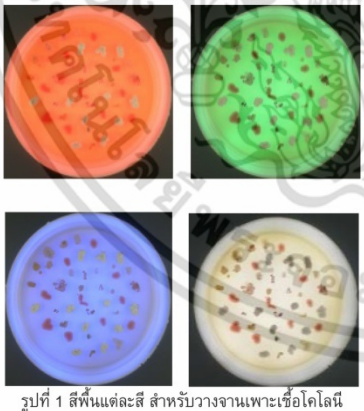
การออกแบบกล่องสำหรับจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีนั้นจะใช้กล่องที่มีขนาดที่เล็กจึงไม่เปลืองพื้นที่ โดยกล่องนับเชื้อจะเป็นกล่องทึบแสง มีฝาปิด เพื่อป้องกันแสงและเงาจากภายนอกสะท้อนที่ฝาปิดจานเพาะเชื้อโคโลนี ซึ่งอาจทำให้เกิดการประมวลผลที่ผิดพลาด ภายในกล่องจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบด้วย กล้องวีดีโอเว็บแคมที่มีความละเอียด 2560 X 1440 พิกเซล ใช้สำหรับถ่ายและส่งภาพไปยังซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ โดยกล้องเว็บแคมจะทำหน้าที่ในการถ่ายภาพโคโลนีโดยอัตโนมัติ พร้อมทั้งแสดงภาพได้ตลอดเวลา (Real-Time) ในส่วนของไมโครคอนโทรลเลอร์ เลือกใช้ตระกูล Arduino (ATmega32U4) เนื่องจากมีขนาดที่เล็ก มีโมดูลสื่อสารกับคอมพิวเตอร์ผ่านทาง USB ติดมากับไมโครคอนโทรลเลอร์ มีขาสำหรับใช้งาน PWM (Pulse Width Modulation) มากเพียงพอสำหรับการควบคุมการทำงานของหลอดแอลอีดีชนิด RGB วงจรสำหรับควบคุมหลอดแอลอีดีชนิด RGB นั้นใช้ทรานซิสเตอร์เบอร์ TIP 122 ทำหน้าที่เป็นสวิทช์ โดยต่อกับขาสัญญาณ PWM (Pulse Width Modulation) เพื่อทำให้มีแรงดันไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้ามากเพียงพอที่จะทำให้หลอดแอลอีดีชนิด RGB ทำงานได้ตามที่กำหนด จากนั้นนำหลอดแอลอีดีชนิด RGB มาติดตั้งใต้พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อ ที่ทำจากแผ่นอะคริลิคสีขาวขุ่น ที่มีความหนา 5 มิลลิเมตร ซึ่งทำให้ได้สีพื้นที่สว่างเท่ากันทั้งแผ่น

2.2 การหาค่าสีพื้นที่เหมาะสมสำหรับแต่ละโคโลนี

สำหรับการหาค่าของสีพื้นที่เหมาะสมนั้น สามารถทำได้โดยการนำจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีสีที่ต้องการวางบนพื้น ที่ติดตั้งหลอดแอลอีดีชนิด RGB โดยขั้นตอนการถ่ายภาพจานเพาะเชื้อนั้นจะใช้พื้นที่มีสีขาว สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงินตามลำดับ หลังจากนั้นจึงนำภาพที่ถ่ายพื้นแต่ละสีมาแยกเป็นองค์ประกอบของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ซึ่งเป็นภาพระดับเทา ขั้นตอนต่อไปคือนำภาพในแต่ละองค์ประกอบสีมาวิเคราะห์ฮิสโตแกรม เพื่อหาว่าพื้นสีใดและองค์ประกอบสีใดที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างระดับความสว่างของพื้นหลัง และระดับความสว่างของโคโลนีสีที่ต้องการมากที่สุด เพื่อให้สามารถเห็นความแตกต่างระหว่างโคโลนีสีที่ต้องการกับส่วนอื่นของภาพอย่างชัดเจน



รูปที่ 1 สีพื้นแต่ละสี สำหรับวางจานเพาะเชื้อโคโลนี

2.3 การออกแบบซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ

ในขั้นตอนการออกแบบนั้น ภาพที่ได้จากกล้องเว็บแคมจะอยู่ในสเปซสี RGB ซึ่งนำไปผ่านกระบวนการทำให้ภาพอยู่ในภาพระดับเทา ที่มีระดับความสว่าง 256 ระดับ โดยการแยกให้อยู่ในองค์ประกอบของสีแดง องค์ประกอบของสีเขียว หรือองค์ประกอบของสีน้ำเงิน ขึ้นอยู่กับสีของโคโลนีที่ต้องการ จากนั้นนำภาพที่ผ่านการทำให้อยู่ในระดับเทามากำหนดค่าเทรชโฮลด์หลายระดับ เพื่อทำเป็นภาพไบนารี ซึ่งเป็นวิธีการแยกโคโลนีสีต้องการออกจากพื้นหลังของภาพ กำหนดให้ $f(x, y)$ คือภาพที่อยู่ในระดับเทา

ถ้า $f(x, y) < T_1$

แล้ว $g(x, y) = 0$

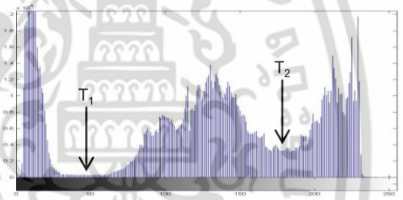
ถ้า $T_1 \leq f(x, y) \leq T_2$

แล้ว $g(x, y) = 255$

ถ้า $f(x, y) > T_2$

แล้ว $g(x, y) = 0$

เมื่อ T_1 และ T_2 คือค่าระดับในการเทรชโฮลด์ และ $g(x, y)$ คือภาพผลลัพธ์ที่จุดพิกัด (x, y) ใดๆ โดยค่า T_1, T_2 ที่เลือกนั้น ได้มาจากค่าระดับความสว่างที่มากที่สุดและน้อยที่สุดของโคโลนีสีที่ต้องการ แสดงดังรูปที่ 2



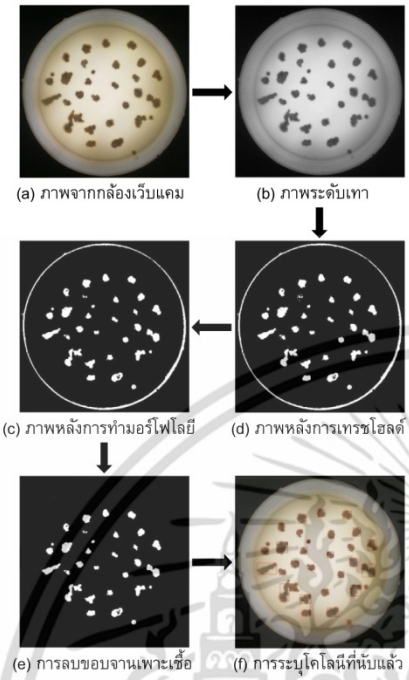
รูปที่ 2 กราฟฮิสโตแกรมและตำแหน่ง T_1, T_2

จากเงื่อนไขที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่าพื้นหลังของภาพจะกลายเป็นสีดำ(ระดับความสว่าง 0) ในขณะที่โคโลนีนั้นจะกลายเป็นสีขาว (ระดับความสว่าง 255) แสดงดังรูปที่ 3(d) ภาพหลังจากที่ผ่านขั้นตอนเทรชโฮลด์มาแล้วนั้น จะยังมีสัญญาณรบกวนปรากฏอยู่ในภาพ ซึ่งจะทำให้ขั้นตอนการนับเกิดข้อผิดพลาดได้ ดังนั้นวิธีการต่อไปคือการใช้มอร์โฟโลยี (Morphology) ในการกำจัดสัญญาณรบกวน โดยใช้ทฤษฎีการเปิด (Opening) กำหนดให้การเปิด (Opening) ของเซต A โดย B แทนด้วย $A \circ B$ และมีคำจำกัดความดังนี้

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \quad (1)$$

เมื่อ A คือภาพต้นฉบับ เนื่องจากโคโลนีมีขนาดที่แตกต่างกัน การเลือกขนาดของ B นั้น จึงต้องใช้ขนาดที่เหมาะสมที่ไม่ทำให้ภาพของโคโลนีถูกลบออกไป แสดงดังรูปที่ 3(c) การกำหนดขนาดของ B นั้นได้มากจากการทดลองซึ่งพบว่าขนาดของสัญญาณรบกวนจะมีขนาดใหญ่ที่สุดไม่เกิน 30 พิกเซล ดังนั้นจึงกำหนดให้ B มีขนาดเท่ากับ 30 พิกเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 ขั้นตอนการประมวลผลภาพ

ภาพที่ผ่านขั้นตอนมอร์โฟโลยี (Morphology) ยังมีภาพของขอบจานเพาะเชื้อที่ชัดเจน จึงมีความจำเป็นที่จะต้องลบออกก่อนขั้นตอนการนับจำนวน จากรูปที่ 3(c) จะเห็นได้ว่าภาพของขอบจานเพาะเชื้อเป็นพื้นสีขาว ที่มีกลุ่มของพิกเซลที่อยู่ติดกันมากที่สุด ดังนั้นจึงใช้ซอฟต์แวร์ในการคำนวณหากลุ่มของพิกเซลนั้น แล้วทำการกำหนดค่าให้กลายเป็นสีดำ (ระดับความสว่าง 0) แสดงดังรูปที่ 3(e) จากนั้นจึงใส่เลเบล (Label) ให้กับแต่ละกลุ่มพิกเซล โดยกำหนดให้กลุ่มของข้อมูลไบนารีแต่ละกลุ่มที่อยู่แยกกัน จะได้เลเบล (Label) ที่ต่างกัน เพื่อการนับจำนวนของเชื้อโคโลนี ขั้นตอนสุดท้ายจึงนำภาพที่ใส่เลเบล (Label) มาซ้อนทับกับภาพต้นฉบับ ทำการตีกรอบรอบโคโลนี เพื่อเป็นการระบุว่าได้นับโคโลนีอันไหนบ้างแล้ว แสดงดังรูปที่ 3(f)

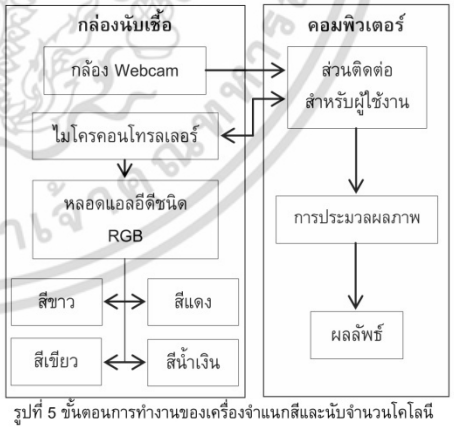
2.4 การทำงานร่วมกันระหว่างกล่องนับเชื้อ และซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ

ขั้นตอนการรับและส่งข้อมูลระหว่างกล่องนับเชื้อและซอฟต์แวร์นั้น ข้อมูลภาพจะถูกส่งผ่าน USB Hub โดยโปรแกรม MATLAB ถูกใช้ในการพัฒนาทั้งซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ และส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งาน ซึ่งในส่วนของขั้นตอนการออกแบบส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งานนั้น จะมีหน้าต่างสำหรับแสดงภาพที่ได้จากขั้นตอนการประมวลผลภาพ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะคือ ภาพต้นฉบับ ภาพที่ผ่านการทำมอร์โฟโลยี และภาพที่ทำการตีกรอบรอบโคโลนีแล้ว นอกจากนี้แล้วภายในหน้าต่างส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งานยังประกอบไปด้วย ปุ่มสำหรับเลือกสีของโคโลนีที่ต้องการนับ ช่องสำหรับเลือกขนาดของโคโลนี และช่องสำหรับเลือกกล้องเว็บแคมในกรณีที่มีกล้องมากกว่าหนึ่งตัว แสดงดังรูปที่ 4 จากนั้นซอฟต์แวร์จะสามารถกำหนดสีของพื้น ที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีสีนั้นๆ ได้โดยอัตโนมัติ แล้วจึงส่งข้อมูลค่าสีไปยังไมโครคอนโทรลเลอร์เพื่อใช้ในการควบคุมหลอดแอลอีดี ในขั้นตอนสุดท้ายซอฟต์แวร์จึงเริ่มขั้นตอนการประมวลภาพ

รูปที่ 4 ซอฟต์แวร์ส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งาน (User interface)

ถ้ามีการเลือกสีของโคโลนีที่ต้องการนับมากกว่าหนึ่งสี ซอฟต์แวร์จะเริ่มการนับจากโคโลนีสีขาว สีดำ สีชมพู สีม่วง และสีครีมตามลำดับ ซึ่งการเปลี่ยนสีพื้นนั้น จะเกิดขึ้นเมื่อขั้นตอนการประมวลภาพของโคโลนีสีแรกเสร็จสมบูรณ์ ซอฟต์แวร์จึงส่งข้อมูลไปยังไมโครคอนโทรลเลอร์เพื่อเปลี่ยนสีหลอดแอลอีดี ที่เหมาะสำหรับโคโลนีสีถัดไป ซึ่งผลที่ได้จะแสดงเป็นจำนวนโคโลนีออกมา ตามช่องของโคโลนีสีนั้นๆ

ขั้นตอนการทำงานของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีนั้นแบ่งออกเป็นสองส่วนหลักคือ ส่วนกล่องนับเชื้อ และส่วนคอมพิวเตอร์ แสดงดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการทดลอง

จากการพัฒนาเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีนี้ ได้ทำการเก็บตัวอย่างของโคโลนีสีต่างๆ มา เพื่อหาค่าสีของพื้นที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี โดยโคโลนีที่ใช้ในการทดลองนี้จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ต่ำกว่า 0.8 มิลลิเมตร และในการทดลองได้ใช้หลอดแอลอีดีชนิด RGB เพื่อช่วยในการสร้างความแตกต่างระหว่างของสีพื้นหลังและสีของโคโลนี เมื่อนำมาวิเคราะห์ฮิสโตแกรมของแต่ละองค์ประกอบสี ได้ผลตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สีพื้น และองค์ประกอบสีที่เหมาะสมของโคโลนีแต่ละสี

สีของโคโลนี	สีพื้นที่เหมาะสม	องค์ประกอบสีที่เหมาะสม
โคโลนีสีขาว	ขาว	แดง
โคโลนีสีดำ	ขาว	น้ำเงิน
โคโลนีสีชมพู	เขียว	เขียว
โคโลนีสีม่วง	น้ำเงิน	น้ำเงิน
โคโลนีสีครีม	ขาว	น้ำเงิน

โดยค่าของสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมนั้น จะนำมาเป็นค่าเริ่มต้นสำหรับซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ ขั้นตอนการหาค่าความผิดพลาดนั้น ทำได้โดยการจำแนกสีและนับจำนวนไว้ก่อนอย่างถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าความผิดพลาดของเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีเปรียบเทียบกับการตรวจนับโดยผู้เชี่ยวชาญ

สีของโคโลนี		การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความผิดพลาด
		ผู้เชี่ยวชาญ	ซอฟต์แวร์	(%)
ขาว	จานเชื้อที่ 1	46	45	2.1
	จานเชื้อที่ 2	48	48	0
ดำ	จานเชื้อที่ 1	213	204	4.2
	จานเชื้อที่ 2	187	180	3.7
ชมพู	จานเชื้อที่ 1	74	73	1.3
	จานเชื้อที่ 2	60	58	3.3
ม่วง	จานเชื้อที่ 1	123	119	3.3
	จานเชื้อที่ 2	156	149	4.5
ครีม	จานเชื้อที่ 1	83	81	2.5
	จานเชื้อที่ 2	79	78	1.3
ความผิดพลาดเฉลี่ย				2.3

จากตารางที่ 2 ชี้ให้เห็นว่าการนับโดยเครื่องจำแนกสีและตรวจนับโคโลนีเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญนั้น มีค่าความผิดพลาดซึ่งยอมรับได้ เหตุผลหลักของค่าความผิดพลาดเกิดจากการเจริญเติบโตของโคโลนีที่บริเวณขอบของจานเพาะเชื้อ จึงทำให้ซอฟต์แวร์ไม่สามารถแยกระหว่างโคโลนีและขอบจานได้ การเปรียบเทียบระหว่างเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีกับผู้เชี่ยวชาญแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีกับการตรวจนับโดยผู้เชี่ยวชาญ

ตัวแปร	ผู้เชี่ยวชาญ	เครื่องจำแนกสี และนับจำนวนโคโลนี
ความสะดวกสบาย	ยาก	ง่าย
ค่าใช้จ่าย	แพง	ถูก
ความเร็วในการนับ	ช้ากว่า	เร็วกว่า
การพกพาอุปกรณ์	ยาก	ง่าย
ประสิทธิภาพ	ดีมาก	ดี
ระยะเวลาในการฝึกฝน	เร็วกว่า	ช้ากว่า

4. สรุป

จากผลการทดลองเครื่องจำแนกสีและนับจำนวนโคโลนีพบว่าสามารถนับจำนวนโคโลนีได้ โดยโคโลนีจะต้องมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.8 มิลลิเมตรขึ้นไป และสามารถจำแนกสีของโคโลนีได้ทั้งหมด 5 สี โดยที่โคโลนีสีขาว, สีดำ, สีครีมเหมาะสมกับพื้นสีขาว โคโลนีสีชมพูเหมาะสมกับพื้นสีเขียว และโคโลนีสีม่วงเหมาะสมกับพื้นสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าความผิดพลาดเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญดังนี้ ค่าความผิดพลาดสูงสุด 4.5% ค่าความผิดพลาดต่ำสุด 0% และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย 2.3% ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างกันมากนักและสามารถยอมรับได้ แต่มีข้อได้เปรียบเรื่องการใช้เวลาในการนับที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับผู้เชี่ยวชาญ มีประสิทธิภาพคงที่และใช้ระยะเวลาในการฝึกฝนบุคลากรที่น้อยกว่า มีขนาดที่เล็ก อีกทั้งยังมีราคาถูก จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการทางชีววิทยาได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศูนย์ห้องปฏิบัติการวิจัยทางการแพทย์และการเกษตรแห่งเอเชีย จำกัด (AMARC) และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านผู้เชี่ยวชาญและตัวอย่างเชื้อโคโลนี

เอกสารอ้างอิง

[1] X. Liu, S. Wang, L. Sendi, and M. J. Caulfield, "High-throughput imaging of bacterial colonies grown on filter plates with application to serum bactericidal assays," Journal of Immunological Methods, 2004, pp. 187 - 193

[2] National Standard of The People's Republic of China [S]. Food hygiene inspection methods (Microbiology section), Beijing, China Standard Press, 1985, pp.194 - 196.

[3] M. Niyazi, I. Niyazi, C. Belka, "Counting colonies of clonogenic assays by using densitometric software," Radiation Oncology, vol. 2, 2007

[4] H. Men, Y. Wu, X. Li, Z. Kou, S. Yang, "Counting Method of Heterotrophic Bacteria Based on Image Processing" IEEE Publication, 2008, pp. 1238 – 1241.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[5] S. Wei-zheng, W. Ya-chun, Z. Jie, Z. Hui, "Experimental Study for Automatic Colony Counting System Based on Image Processing," International Conference on Computer Application and System Modeling, 2010, Taiyuan, China, pp. V6-612 - V6-615

[6] C. Zhang, W. Chen, W. Liu, C. Chen, "An Automated Bacterial Colony Counting System," International Conference on Sensor Networks, Ubiquitous, and Trustworthy Computing, Taichung, Taiwan, 2008, pp. 233-240

[7] Ates H., Gerek O.N., "An Image-Processing Based Automated Bacteria Colony Counter," International Symposium on Digital Object Identifier, Guzelyurt, Turkey, 2009, pp. 18-23

[8] P. Chongsomchai, N. Maneerat, R. Varakulsiripunth, S. Junyapoon, "Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing," 1st International Symposium on Technology for Sustainability, Bangkok, Thailand, 2011, pp. 64 - 67

[9] Yueh-Ru Yang, "Implementation of a Colorful RGB-LED Light Source with an 8-bit Microcontroller," IEEE Conference on Industrial Electronics and Applicationsis, Taichung, Taiwan, 2010, pp. 1951 - 1956

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ECTI Association

ECTI CARD 2015 7th

Abstract Proceedings

Conference on Applications

Research and Development

การประชุมวิชาการ งานวิจัยและพัฒนาเชิงประยุกต์ครั้งที่ 7
"รู้ค่าพลังงานและสิ่งแวดล้อมเพื่อก้าวสู่ศตวรรษที่ 21"

โครงการจัดตั้งคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

8-10 กรกฎาคม 2558
ณ โรงแรมธรรมรินทร์ ธนา
อำเภอเมือง จังหวัดตรัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทความวิจัย

การประชุมวิชาการ งานวิจัยและพัฒนาเชิงประยุกต์ ครั้งที่ 7

7th ECTI-CARD 2015, Trang, Thailand

เครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทกึ่งอัตโนมัติโดยใช้การประมวลผลภาพ

Semi-Automatic Actinomycete Bacteria Counting Device using Image Processing

รัตนพล ยุทธวิริยะ [1] นพดล มณีรัตน์ [1] และ รัตติกร วราทูลศิริพันธุ์ [2]

[1]ภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520 E-mail: mixrattanapon@hotmail.com

[2]คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น ถนนพัฒนาการ แขวงสวนหลวง เขตสวนหลวง กรุงเทพฯ 10250

บทคัดย่อ

บทความฉบับนี้ได้นำเสนอการออกแบบและพัฒนาเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีท ซึ่งประกอบด้วยสองส่วนหลักคือ ฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์ โดยส่วนของฮาร์ดแวร์คือส่วนของตู้นับเชื้อ ซึ่งภายในประกอบด้วยวงจรอิเล็กทรอนิกส์ ไมโครคอนโทรลเลอร์ หลอดแอลอีดีแบบ RGB และกล้องวีดีโอเว็บแคม ส่วนซอฟต์แวร์คือส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งานและส่วนที่ใช้ในการประมวลผลภาพ โดยขั้นตอนหลักของการประมวลผลภาพคือการเลือกสีพื้นและการเลือกองค์ประกอบสีที่เหมาะสม การทำเทรชโฮลด์หลายระดับ การหาขอบภาพโดยใช้วิธี Prewitt และการนับจำนวนโคโลนี จากการทดลองสามารถจำแนกสีของโคโลนีได้ทั้งหมด 4 สี คือ ขาว ดำ ชมพู และม่วง โดยมีค่าความผิดพลาดเฉลี่ยเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญคือ 4.1% ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่มีข้อได้เปรียบเรื่องการใช้เวลาในการนับที่น้อยกว่า

คำสำคัญ: แอคติโนมัยซีท, การนับจำนวนโคโลนี, การประมวลผลภาพ

Abstract :

This paper presents the design and development of Actinomycete bacteria counting device. It comprises of two main parts which are hardware and software. The hardware of the device consists of electronic circuit, microcontroller, RGB LED bulbs and webcam. The software is the graphic user interface and image processing. The main steps of image processing are determining of color component, multilevel threshold, edge detection by using Prewitt and colony counting algorithm. The experiment can identify the color of colonies in 4 colors which are white, black, pink and purple. The result of average error is about 4.1% and it takes the less time to process compared with the experts.

Keywords: Actinomycete, Colony Counting, Image Processing

1. บทนำ

ในปัจจุบันนี้มีการคิดค้นยารักษาโรคขึ้นมามากมายเพื่อใช้สำหรับป้องกันและรักษาโรคภัยไข้เจ็บที่เกิดขึ้น โดยยาแต่ละประเภทนั้นจะมีสารตั้งต้นและวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน ซึ่งสารแอนติไบโอติก (Antibiotic) เป็นหนึ่งในสารที่สำคัญที่ใช้ในการผลิตยา เนื่องจากสารนี้มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด จึงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย รา ไวรัส โปรโตซัว รวมทั้งสามารถต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอกได้ โดยที่ 2 ใน 3 ของสารแอนติไบโอติกทั้งหมดที่มีในปัจจุบัน สามารถพบได้ในแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท ดังนั้นแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีทนี้จึงจัดว่าเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์และทางเกษัชกรรมเป็นอย่างมาก ดังนั้นขั้นตอนการเพาะเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อเพื่อคัดแยกชนิดและนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีทนี้จึงเป็นขั้นตอนพื้นฐาน [1-2] โดยปกติแล้วการคัดแยกชนิดและนับจำนวนโคโลนีจะทำโดยใช้แรงงานคนเป็นหลัก ซึ่งเป็นวิธีที่ขึ่งขาดในการฝึกฝนบุคลากร ใช้เวลาในการคัดแยกและนับจำนวนที่นาน อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพไม่คงที่ขึ้นอยู่กับความชำนาญของแต่ละบุคคล

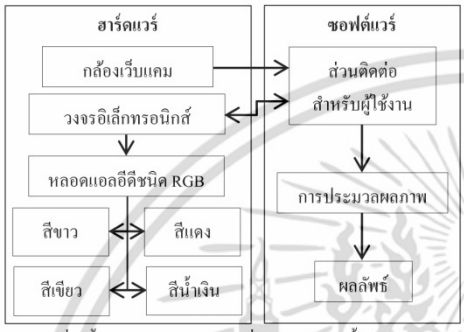
จากความจำเป็นที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีหลายงานวิจัยที่ได้ออกแบบอุปกรณ์สำหรับช่วยในการคัดแยกและนับจำนวนโคโลนีโดยใช้การประมวลผลภาพดิจิตอล โดยมีการออกแบบเฉพาะในส่วนของซอฟต์แวร์ จึงไม่สามารถควบคุมคุณภาพของภาพถ่ายได้ เกิดข้อผิดพลาดง่ายเมื่อโคโลนีมีสีใกล้เคียงกับสีของพื้นหลัง สามารถนับโคโลนีได้เพียงสีเดียว [3-5] และในบางงานวิจัยสามารถนับได้เฉพาะโคโลนีชนิดที่กำหนดเท่านั้น [6-7]

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มีการออกแบบและพัฒนาเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทขึ้นมา ซึ่งในขั้นตอนการคัดแยกชนิดของแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีทนี้สามารถทำได้โดยการดูจากสีของโคโลนี เนื่องจากแบคทีเรียคนละชนิดกันจะมีสีของโคโลนีที่ต่างกัน เพราะฉะนั้นจึงมีการติดตั้งหลอดแอลอีดีแบบ RGB ที่พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อเพื่อช่วยให้สามารถแยกโคโลนีสีต่างๆได้ถูกต้องยิ่งขึ้น และยังช่วยลดข้อผิดพลาดเรื่องสีที่ใกล้เคียงกันระหว่างสีของพื้นหลังกับสีของโคโลนี นอกจากนี้แล้วยังทำให้ขั้นตอนการประมวลผลภาพง่ายขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การออกแบบเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย

ขั้นตอนการออกแบบเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทนี้ ได้มีการออกแบบทั้งในส่วนของฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์ โดยฮาร์ดแวร์คือตู้สำหรับนับเชื้อโคโลนี ซึ่งภายในประกอบไปด้วยกล้องเว็บแคม วงจรอิเล็กทรอนิกส์ ไมโครคอนโทรลเลอร์ และหลอดแอลอีดีแบบ RGB ส่วนซอฟต์แวร์คือส่วนที่ใช้ในการประมวลผลภาพและเป็นส่วนติดต่อสำหรับผู้ใช้งาน



รูปที่ 1 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย

3. การออกแบบส่วนฮาร์ดแวร์

3.1 การออกแบบตู้นับเชื้อ

ตู้นับเชื้อโคโลนีที่ได้ออกแบบ จะเป็นตู้ที่มีขนาดเล็กจึงทำให้มีน้ำหนักเบาและสามารถเคลื่อนย้ายได้ง่าย โดยตู้นี้จะเป็นตู้ทึบแสงที่สามารถป้องกันแสงจากภายนอกเข้ามารบกวนซึ่งจะทำให้ขั้นตอนประมวลผลภาพเกิดข้อผิดพลาดได้ มีกล้องเว็บแคมติดตั้งไว้ที่ด้านบนของตู้นับเชื้อ โดยมีความละเอียด 2560 X 1440 พิกเซล ใช้สำหรับถ่ายและส่งภาพไปยังซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ

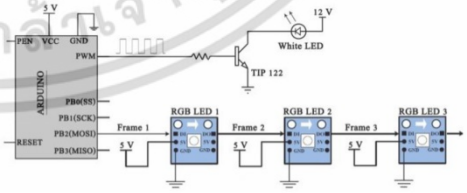
รูปที่ 2 ตู้นับเชื้อที่ออกแบบ

ที่ด้านข้างของตู้นับเชื้อทั้งซ้ายและขวาจะมีการติดตั้งหลอดแอลอีดีสีขาวไว้ เพื่อให้ความสว่างภายในตู้นับเชื้อ และที่พื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อนั้นก็จะมีการติดตั้งหลอดแอลอีดีแบบ RGB ไว้ที่ด้านล่างซึ่งใช้สำหรับการเปลี่ยนสีของพื้นหลัง เพื่อช่วยทำให้สีของโคโลนีและสีของพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อนั้นมีความแตกต่างกันมากที่สุด โดยหลอดแอลอีดีทั้งหมดที่ติดตั้งไว้นั้นจะถูกปิดทับด้วยแผ่นอะคริลิคสีขาวขุ่น ซึ่งมีความหนา 5 มิลลิเมตร จึงทำให้ได้แสงที่นวล มีความสว่างเท่ากันทั้งตู้ และไม่ทำให้เกิดเงาสะท้อนขึ้น แสดงดังรูปที่ 2

3.2 การออกแบบวงจรอิเล็กทรอนิกส์

วงจรที่ออกแบบนี้ใช้สำหรับการติดต่อกับส่วนของซอฟต์แวร์และใช้สำหรับควบคุมการทำงานของหลอดแอลอีดี โดยภายในวงจรประกอบไปด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ตระกูล Arduino (ATmega32U4) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักที่ใช้สำหรับรับและส่งข้อมูลค่าสีของหลอดแอลอีดีแบบ RGB จากซอฟต์แวร์ผ่าน USB และใช้ในการควบคุมหลอดแอลอีดีแบบ RGB ให้แสดงค่าสีตามที่กำหนด ซึ่งหลอดแอลอีดีที่ใช้ในงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือหลอดแอลอีดีสีขาว และหลอดแอลอีดีแบบ RGB ซึ่งหลอดแอลอีดีสีขาวจะทำงานที่แรงดันไฟฟ้า 12 โวลต์ โดยที่แอลอีดีแต่ละหลอดนั้นจะต่อกันอยู่แบบขนาน ดังนั้นในการใช้งานจึงจำเป็นต้องต่อกับทรานซิสเตอร์เบอร์ TIP 122 ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นสวิตช์เพื่อให้มีแรงดันไฟฟ้าและกระแสที่มากเพียงพอสำหรับหลอดแอลอีดี โดยวิธีการควบคุมนั้นจะต่อขาเบส (Base) ของทรานซิสเตอร์เข้ากับขาสัญญาณ PWM (Pulse Width Modulation) ของไมโครคอนโทรลเลอร์

ในส่วนของหลอดแอลอีดีแบบ RGB นั้น เลือกใช้ไอซีแอลอีดีเบอร์ WS2812B ซึ่งได้รวมหลอดแอลอีดีชนิด RGB กับไอซี WS2811 ไว้ด้วยกัน ภายในไอซี WS2812B ประกอบไปด้วย วงจรปรับรูปสัญญาณ, วงจรขับกระแส, วงจรควบคุมพิกเซล RGB, วงจรรีเซต และภายในหลอดแอลอีดีแต่ละดวงก็จะประกอบด้วยแม่สี 3 สี คือ แดง เขียว และน้ำเงิน จากคุณสมบัติที่กล่าวมาจึงทำให้วงจรนี้มีขนาดที่เล็ก ไม่เปลืองพื้นที่ เนื่องจากไม่จำเป็นต้องมีวงจรภายนอก ในส่วนของการควบคุมหลอดแอลอีดีแบบ RGB นี้ จะใช้การอินเตอร์เฟสด้วยสายเพียงเส้นเดียวแบบ NRZ (Non Return to Zero) คือส่งข้อมูลในแบบอนุกรม โดยต่อขาสัญญาณ MOSI (Master-Out Slave-In) ของไมโครคอนโทรลเลอร์ไปยังขา DI ของหลอดแอลอีดีชนิด RGB หลอดที่ 1 การต่อหลอดที่ 2 ทำได้โดยการต่อขา DO ของหลอดที่ 1 เข้ากับขา DI ของหลอดที่ 2 และเป็นอย่างนี้ไปเรื่อยๆ จนถึงหลอดสุดท้าย แสดงดังรูปที่ 3

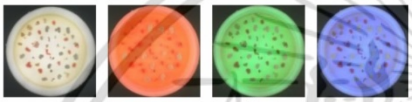


รูปที่ 3 วงจรหลอดแอลอีดีสีขาว และหลอดแอลอีดีแบบ RGB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเลือกสีพื้นที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี

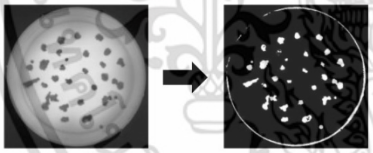
เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีทนี้สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้จากการพิจารณาสีของโคโลนี ดังนั้นขั้นตอนการเลือกสีพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อนี้จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญ ซึ่งวิธีการเลือกสีของพื้นที่เหมาะสมนั้นสามารถทำได้โดยการถ่ายภาพจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีสีที่ต้องการกับพื้นสีขาว สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ตามลำดับ ต่อจากนั้นจึงนำภาพที่ถ่ายกับพื้นหลังแต่ละสีมาแยกออกเป็นองค์ประกอบของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน เพื่อวิเคราะห์ฮิสโตแกรมหาว่าพื้นสีใดและองค์ประกอบสีใดที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างระดับความสว่างของพื้นหลัง และระดับความสว่างของโคโลนีสีที่ต้องการมีค่ามากที่สุด เพื่อให้สามารถแยกโคโลนีสีที่ต้องการออกจากส่วนอื่นๆ ของภาพได้อย่างถูกต้องและชัดเจนที่สุด



รูปที่ 4 สีพื้นสำหรับวางจานเพาะเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

5. การประมวลผลภาพ

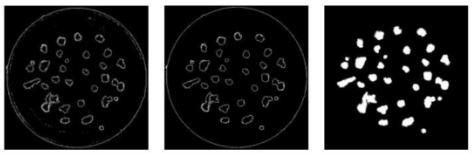
ในขั้นตอนการประมวลผลภาพนั้น จะนำภาพที่ได้จากขั้นตอนการเลือกสีพื้นที่เหมาะสำหรับโคโลนีแต่ละสีมาวิเคราะห์ต่อ โดยภาพที่ได้หลังจากขั้นตอนการแยกองค์ประกอบสีมาแล้วนั้นจะเป็นภาพระดับเทาที่มีความสว่าง 256 ระดับ จึงนำภาพระดับเทานี้มากำหนดค่าเทรชโฮลด์หลายระดับเพื่อทำเป็นภาพไบนารี ซึ่งเป็นวิธีการแยกโคโลนีสีที่ต้องการออกจากพื้นหลัง



(a) ภาพระดับเทา (b) ภาพหลังการทำเทรชโฮลด์

รูปที่ 5 การทำเทรชโฮลด์หลายระดับ

ภาพที่ผ่านขั้นตอนการทำเทรชโฮลด์หลายระดับมาแล้วนั้นจะสามารถลบโคโลนีสีที่ไม่ต้องการออกไปได้ แต่ในภาพจะยังมีสัญญาณรบกวนปรากฏอยู่เป็นจำนวนมาก แสดงดังรูปที่ 5(b) ซึ่งจะทำให้ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนีเกิดข้อผิดพลาดได้ ดังนั้นวิธีการแก้ไขคือนำภาพระดับเทาภาพเดิมที่ได้หลังจากการแยกองค์ประกอบสี มาทำการหาขอบภาพ (Edge Detection) โดยใช้วิธีการ Prewitt ซึ่งจะได้ภาพของขอบภาพที่มีสีขาว (ระดับความสว่าง 255) นั่นก็คือขอบภาพของโคโลนีและจานเพาะเชื้อ แสดงดังรูปที่ 6(a)



(a) การหาขอบภาพ (b) การทำมอร์โฟโลยี (c) การเติมวงปิด

รูปที่ 6 ขั้นตอนการแยกโคโลนีออกจากพื้นหลังโดยใช้วิธีการหาขอบภาพ

จากรูปที่ 6(a) จะเห็นว่ายังคงมีสัญญาณรบกวนปรากฏอยู่ในภาพ จึงลบสัญญาณรบกวนด้วยวิธีการมอร์โฟโลยี โดยใช้ทฤษฎีการเปิด (Opening) แสดงดังรูปที่ 6(b) จากนั้นจึงลบบริเวณของขอบจานเพาะเชื้อ ซึ่งเห็นได้ว่าขอบจานจะเป็นสีขาวที่มีกลุ่มของพิกเซลที่อยู่ติดกันมากที่สุด ดังนั้นจึงใช้ซอฟต์แวร์ในการคำนวณหากลุ่มของพิกเซลนั้นและทำการลบออกโดยกำหนดให้กลายเป็นสีดำ ขั้นตอนต่อไปคือการเติมบริเวณภายในวงปิดให้กลายเป็นสีขาว แสดงดังรูปที่ 6(c) โดยภาพที่ได้หลังจากผ่านขั้นตอนการเติมบริเวณภายในวงปิดมาแล้วนั้น จะปรากฏเฉพาะภาพของโคโลนีเพียงอย่างเดียว แต่จะไม่สามารถแยกสีของโคโลนีได้

นำภาพที่ผ่านขั้นตอนการเทรชโฮลด์หลายระดับ (รูปที่ 5(b)) มา AND กับภาพที่ผ่านขั้นตอนการหาขอบภาพ (รูปที่ 6(c)) ซึ่งทั้ง 2 ภาพนี้จะมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน เมื่อนำมา AND กันจึงได้ภาพที่ปรากฏเฉพาะโคโลนีสีที่ต้องการเท่านั้น แสดงดังรูปที่ 7(a)

(a) ภาพหลังการ AND (b) การกำหนดเลเบล (c) ตีกรอบรอบโคโลนี

รูปที่ 7 ขั้นตอนการนับจำนวนโคโลนี

ขั้นตอนต่อไปคือการใส่เลเบล (Label) ให้กับแต่ละกลุ่มพิกเซล โดยที่กลุ่มของพิกเซลแต่ละกลุ่มที่อยู่แยกกันนั้นจะได้เลเบล (Label) ที่ต่างกัน ซึ่งเป็นวิธีการนับจำนวนโคโลนี แสดงดังรูปที่ 7(b) ในขั้นตอนสุดท้ายคือการตีกรอบรอบโคโลนีและทำการซ้อนทับภาพที่ตีกรอบแล้วกับภาพต้นฉบับ เพื่อเป็นการระบุว่าได้นับโคโลนีอันไหนบ้างแล้ว แสดงดังรูปที่ 7(c)

6. ผลการทดลอง

จากการทดลองเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทได้เก็บตัวอย่างของโคโลนีสีต่างๆ มาเพื่อหาค่าสีพื้นและค่าองค์ประกอบสีที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี โดยเมื่อนำภาพมาวิเคราะห์ฮิสโตแกรม ได้ผลตามตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 สีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมสำหรับโคโลนีแต่ละสี

สีของโคโลนี	สีพื้นที่เหมาะสม	องค์ประกอบสีที่เหมาะสม
โคโลนีสีขาว	ขาว	แดง
โคโลนีสีดำ	ขาว	น้ำเงิน
โคโลนีสีชมพู	เขียว	เขียว
โคโลนีสีม่วง	น้ำเงิน	น้ำเงิน

ตารางที่ 2 ค่าความผิดพลาดของเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทเปรียบเทียบกับการตรวจนับโดยผู้เชี่ยวชาญ

สีของโคโลนี		การนับจำนวนโคโลนี		ค่าความ
		ผู้เชี่ยวชาญ	ซอฟต์แวร์	ผิดพลาด (%)
ขาว	จานเชื้อที่ 1	46	44	4.3
	จานเชื้อที่ 2	48	48	0
ดำ	จานเชื้อที่ 1	213	201	5.6
	จานเชื้อที่ 2	187	182	2.7
ชมพู	จานเชื้อที่ 1	74	70	5.4
	จานเชื้อที่ 2	60	58	3.4
ม่วง	จานเชื้อที่ 1	123	117	4.9
	จานเชื้อที่ 2	156	146	6.4
ความผิดพลาดเฉลี่ย				4.1

โดยที่ค่าของสีพื้นและองค์ประกอบสีที่เหมาะสมนั้น จะนำมาเป็นค่าเริ่มต้นสำหรับซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ ซึ่งขั้นตอนของการหาค่าความผิดพลาดนั้นทำได้โดยการคัดแยกสีและนับจำนวนไว้ก่อนอย่างถูกต้องโดยผู้เชี่ยวชาญ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 โดยเหตุผลหลักของค่าความผิดพลาดนั้น เกิดจากการเจริญเติบโตของโคโลนีบริเวณขอบของจานเพาะเชื้อ จึงทำให้ซอฟต์แวร์ไม่สามารถแยกระหว่างโคโลนีและขอบจานได้

7. สรุป

จากผลการทดลองของเครื่องนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทนี้ พบว่าสามารถคัดแยกและนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยซีทได้ทั้งหมด 4 สี โดยที่โคโลนีสีขาว, สีดำเหมาะสมกับพื้นสีขาว โคโลนีสีชมพูเหมาะสมกับพื้นสีเขียว และโคโลนีสีม่วงเหมาะสมกับพื้นสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าความผิดพลาดเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญดังนี้ ค่าความผิดพลาดสูงสุด 6.4% ค่าความผิดพลาดต่ำสุด 0% และค่าความผิดพลาดเฉลี่ย 4.1% ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างกันมากนักและสามารถยอมรับได้ แต่มีข้อได้เปรียบในด้านราคาที่ถูกกว่า มีประสิทธิภาพสูงที่ อีกทั้งยังใช้เวลาในการคัดแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียและนับจำนวนโคโลนีที่น้อยกว่า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านผู้เชี่ยวชาญและตัวอย่างเชื้อโคโลนี

เอกสารอ้างอิง

[1] รัตนภรณ์ ศรีวิบูลย์, “เอคติโนมัยซีท,” สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี, ไทย, 2013

[2] X. Liu, S. Wang, L. Sendi, and M. J. Caulfield, “High-throughput imaging of bacterial colonies grown on filter plates with application to serum bactericidal assays,” Journal of Immunological Methods, 2004, pp. 187 - 193

[3] M. Niyazi, I. Niyazi, C. Belka, “Counting colonies of clonogenic assays by using densitometric software,” Radiation Oncology, vol. 2, 2007

[4] Ates H., Gerek O.N., “An Image-Processing Based Automated Bacteria Colony Counter,” International Symposium on Digital Object Identifier, Guzelyurt, Turkey, 2009, pp. 18-23

[5] S. Wei-zheng, W. Ya-chun, Z. Jie, Z. Hui, “Experimental Study for Automatic Colony Counting System Based on Image Processing,” International Conference on Computer Application and System Modeling, 2010, Taiyuan, China, pp. V6-612 - V6-615

[6] H. Men, Y. Wu, X. Li, Z. Kou, S. Yang, “Counting Method of Heterotrophic Bacteria Based on Image Processing” IEEE Publication, 2008, pp. 1238 – 1241.

[7] P. Chongsomchai, N. Maneerat, R. Varakulsiripunth, S. Junyapoon, “Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing,” 1st International Symposium on Technology for Sustainability, Bangkok, Thailand, 2011, pp. 64 - 67

รัตนพล ยุทธวิริยะ กำลังศึกษาหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาระบบควบคุม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง งานวิจัยที่สนใจ Digital Image Processing

ผศ.ดร.นพคล มณีรัตน์ อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง งานวิจัยที่สนใจ Digital Image Processing, Expert System

รศ.ดร.รัตติกร วรากูลศิริพันธุ์ คณบดีคณะเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น งานวิจัยที่สนใจ Expert System, Communication

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายรัตนพล ยุทธวิริยะ
วัน เดือน ปีเกิด	22 พฤศจิกายน 2532
ที่อยู่	191/5 หมู่ 1 หมู่บ้านประวีณ ตำบลบางกระบือ อำเภอเมือง จังหวัดสิงห์บุรี 16000
E-mail	mixrattanapon@hotmail.com
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2554 หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมระบบควบคุม ภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้