เครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ

AIRBORNE BACTERIA ANALYZER BASED ON IMAGE PROCESSING

ปุระชัย จงสมชัย
PURACHAI CHONGSOMCHAI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมระบบควบคุม
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2557
KMITL-2014-EN-M-080-173

เครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ

AIRBORNE BACTERIA ANALYZER BASED ON IMAGE PROCESSING

ปุระชัย จงสมชัย

PURACHAI CHONGSOMCHAI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมระบบควบคุม

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2557

KMITL-2014-EN-M-080-173

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AIRBORNE BACTERIA ANALYZER BASED ON IMAGE PROCESSING

PURACHAI CHONGSOMCHAI

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
2014

KMITL-2014-EN-M-080-173

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2014
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ เครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ
Thesis Title Airborne Bacteria Analyzer Based on Image Processing
นักศึกษา นายปุระชัย จงสมชัย
รหัสประจำตัว 53610904
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา วิศวกรรมระบบควบคุม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.นพดล มณีรัตน์
หมายเลขวิทยานิพนธ์ KMITL-2014-EN-M-080-173

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ดร.ดอน	อิศรากร	
ผศ.ดร.นนทวัฒน์	จุลเดชะ	
ผศ.ดร.พูลศักดิ์	โกษียาภรณ์	
ผศ.ดร.นพดล	มณีรัตน์	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ วันจันทร์ที่ 28 กรกฎาคม พ.ศ. 2557 เวลา 10.00-12.00 น.
สถานที่สอบ ณ อาคาร A ชั้น 5 ห้องประชุม 3

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิศวกรรมศาสตร์ รับรองแล้ว

(ศาสตราจารย์ ดร.สุชัชวีร์ สุวรรณสวัสดิ์)
คณบดี คณะวิศวกรรมศาสตร์
วันที่ 28 กรกฎาคม พ.ศ. 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดย อาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ
นักศึกษา	นายปุระชัย จงสมชัย
รหัสประจำตัว	53610904
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมระบบควบคุม
พ.ศ.	2557
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.นพดล มณีรัตน์

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้นำเสนอวิธีการนับโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยเพาะเชื้อบนจานเพาะเชื้อ ซึ่งในปัจจุบันมีการใช้ผู้เชี่ยวชาญสำหรับการนับจำนวนโคโลนีซึ่งเป็นเรื่องยากที่จะได้รับผลได้อย่างรวดเร็วและถูกต้องเมื่อกลุ่มตัวอย่างมีจำนวนมาก ถึงแม้ว่าการตรวจนับโคโลนีแบบอัตโนมัติได้รับการพัฒนาขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ยังคงมีราคาแพงและจำเป็นที่จะต้องติดตั้งในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเท่านั้น งานวิจัยฉบับนี้จึงได้นำเสนอเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ ซึ่งประกอบไปด้วยตู้บ่มเชื้อขนาดเล็กที่ควบคุมอุณหภูมิโดยใช้การควบคุมแบบ ON-OFF control, เว็บแคมที่ติดตั้งในตู้บ่มและซอฟต์แวร์ตรวจสอบแบบอัตโนมัติโดยใช้เทคโนโลยีการประมวลผลภาพ ซึ่งสามารถนับจำนวนโคโลนีและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียออกมาในหน่วยของ CFU/m^3 (Colony Forming Units per Cubic Meter) โดยผลการทดลองการนับจากเครื่องตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียในอากาศมีผลใกล้เคียงกับผลของการนับจากผู้เชี่ยวชาญ และชุดตรวจสอบนี้ยังมีขนาดเล็ก พกพาได้สะดวกและราคาถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Airborne Bacteria Analyzer Based on Image Processing
Student	Mr.Purachai Chongsomchai
Student ID.	53610904
Degree	Master of Engineering
Program	Control Engineering
Year	2014
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr.Noppadol Maneerat

ABSTRACT

Nowadays the conventional colony counting method has to use an expert for manual counting which is difficult to get the results quickly and accurately when there are a lot of experimental samples. Although the automatic quantity colonies detector has been developed, it is still expensive and necessary to install and use in the microbiological laboratory. This thesis presents a developed Airborne Bacteria Analyzer consisting of a small incubator, temperature controller using ON-OFF control, a webcam installed in incubator and automatic quantity colonies detection software using Image Processing technology. The developed semi-continuous airborne bacteria analyzer based on image processing can count the number of colonies and calculate the colonies quantity in CFU/m^3 (Colony Forming Units per Cubic Meter) unit. The experimental colonies counting results are similar to the ones of the expert. The semi-continuous airborne bacteria analyzer based on Image Processing is small, portable and low cost.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ประสบผลสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากการที่ข้าพเจ้าได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.นพดล มณีรัตน์ ที่ให้คำปรึกษาชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้ประสบการณ์และความคิดริเริ่มในการศึกษาและทำวิจัยที่ดีแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุวรรณี จรรยาพูน ที่ได้ให้คำความรู้และคำปรึกษาในการเพาะเชื้อจุลินทรีย์และชี้แนะแนวทางการออกแบบและทดลองจนประสบผลสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ดร.ดอน อิศรากร ที่ได้ให้คำแนะนำและขัดเกลาเนื้อหาในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณนายศานติกร อำนวยผล และน้องๆ พี่ๆ ในห้องปฏิบัติการทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จและผ่านไปได้

ขอขอบพระคุณ คณะวิยาศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทดลองการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียและความรู้ในการเพาะเชื้อจุลินทรีย์

ขอขอบพระคุณ บริษัท ส.ขอนแก่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าไปศึกษาดูงานในด้านการเก็บเชื้อจุลินทรีย์และการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียในอากาศ

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดาซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และบัณฑิตศึกษาคณะวิศวกรรมศาสตร์ที่อำนวยความสะดวกในการให้ข่าวสารและการจัดการด้านเอกสารต่างๆ ณ โอกาสนี้ด้วย

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์นี้ ผู้เขียนขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ปุระชัย จงสมชัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II
กิตติกรรมประกาศ.....III
สารบัญ.....IV
สารบัญรูป.....VI
สารบัญตาราง.....VII

บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....1
1.3 สมมุติฐานของการศึกษา.....1
1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย.....2
1.5 ขอบเขตการวิจัย.....2
1.6 ขั้นตอนของการศึกษา.....2

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....3
2.1 บทนำ.....3
2.2 การควบคุมแบบเปิด-ปิด (On-Off Control.....3
2.3 การเก็บตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ.....3
2.3.1 หลักการเก็บตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ.....4
2.3.2 การดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง(Impactor method).....4
2.3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือเก็บตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ.....4
2.3.4 ระยะเวลาในการเก็บและจำนวนตัวอย่าง.....5
2.3.5 สิ่งที่ต้องคำนึงในการเก็บตัวอย่างจุลชีพ.....6
2.3.6 Manual Counting Method for airborne microorganisms.....7
2.4 การประมวลผลภาพ.....7
2.4.1 Feature Extraction.....8
2.4.2 Image Filtering.....8
2.4.3 การกรองโดยการเฉลี่ยจากหลายภาพ.....9
2.4.4 Image Segmentation.....9
2.4.5 Edge Detection.....10
2.4.6 Thresholding.....10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.7 Blob Detection Algorithm.....11

สารบัญ(ต่อ)

2.5 บทสรุป.....12

บทที่ 3 การออกแแบบเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ.....13
3.1 บทนำ.....13
3.2 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ.....13
3.3 การออกแบบตู้บ่มเชื้อ.....14
3.4 การออกแบบซอฟต์แวร์.....15
3.4.1 การออกแบบหน้าจออินเตอร์เฟสสำหรับเชื่อมต่อและสั่งกระบวนการ
3.4.2 การออกแบบกระบวนการการประมวลผลภาพภายในซอฟต์แวร์.....16
3.4.2.1 Edge Detection.....16
3.4.2.2 Blob Detection.....17
3.4.3 การออกแบบการคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียทางจุลชีววิทยา.....17
3.5 บทสรุป.....17

บทที่ 4 การทดสอบและผลการทดสอบ.....18
4.1 บทนำ.....18
4.2 ผลการทดสอบ.....21
4.3 บทสรุป.....22

บทที่ 5 การวิเคราะห์ผลการทดลองและสรุปผล.....23
5.1 บทนำ.....23
5.2 การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....23
5.3 สรุปผล.....23
5.4 ข้อเสนอแนะ.....24

เอกสารอ้างอิง.....25
ภาคผนวก.....27
ภาคผนวก ก ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์.....28
ภาคผนวก ข ผลการทดลองเพิ่มเติม.....30
ภาคผนวก ค โปรแกรมควบคุมภาษาวิชวลเบสิค 6.0.....34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า
2.1 Blob detection algorithm....12
4.1 ประสิทธิภาพของชุดตรวจนับเชื้อในอากาศเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญ....21
4.2 ผลลัพธ์ที่ได้จากการใช้ชุดตรวจนับเชื้อในอากาศ....22
4.3 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของการนับด้วยผู้เชี่ยวชาญและเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ....22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 On/Off Control with Dead-Band....3
2.2 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโดยการดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง....5
2.3 การกรองข้อมูลภาพ....8
2.4 ภาพที่ได้จากวิธี edge detection....10
2.5 หลักการของ Threshold....11
2.6 หลักการของ Blob Detection....11
3.1 แผนภาพการทำงานของชุดตรวจนับเชื้อแบคทีเรียที่ออกแบบ....13
3.2 ลักษณะของตู้บ่มเชื้อ....14
3.3 ขนาดของตู้บ่มเชื้อ....14
3.4 หน้าจออินเตอร์เฟส....15
3.5 ความหมายของการปรับแต่งการใช้งาน....16
3.6 ขั้นตอนการทำงานของ Edge Detection....16
3.7 ความหมายของผลลัพท์....17
4.1 จานอาหาเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย....18
4.2 การเก็บตัวอย่างอากาศโดยใช้ Single-Stage Impactor....18
4.3 ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส....19
4.4 ซอฟต์แวร์ที่ได้พัฒนาขึ้น....19
4.5 RGB to inverse RGB....20
4.6 inverse RGB to Gray Scale....20
4.7 Gray Scale to B/W....20
4.8 Blob detection....21
ภาคผนวก ข รูปที่ 1 ผลการทดลองที่ค่า threshold 195....41
ภาคผนวก ข รูปที่ 2 ผลการทดลองที่ค่า threshold 196....41
ภาคผนวก ข รูปที่ 3 ผลการทดลองที่ค่า threshold 197....42
ภาคผนวก ข รูปที่ 4 ผลการทดลองที่ค่า threshold 198....42
ภาคผนวก ข รูปที่ 5 ผลการทดลองที่ค่า threshold 199....43
ภาคผนวก ข รูปที่ 6 ผลการทดลองที่ค่า threshold 200....43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมด้านอุปโภคบริโภคเจริญเติบโตเป็นอย่างมาก จึงมีการแข่งขันเพื่อส่งออกผลิตภัณฑ์ไปยังต่างประเทศ สิ่งหนึ่งที่สำคัญเป็นอย่างมากในการส่งออกผลิตภัณฑ์คือความสะอาด ซึ่งการควบคุมคุณภาพของอากาศนั้นเป็นส่วนหนึ่งของการรักษาความสะอาด รวมทั้งคุณภาพของอากาศนี้ยังเป็นตัวบ่งชี้สุขภาพของพนักงานได้อีกด้วย ดังนั้นการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียในอากาศจึงเข้ามามีส่วนในการวัดคุณภาพของอากาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มุ่งเน้นการพัฒนาเครื่องมือเพื่อเพิ่มศักยภาพในการวิเคราะห์และตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศให้ดีขึ้น กล่าวคือการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียนั้น โดยปกติแล้วการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศจำต้องมีตู้บ่มเชื้อเพื่อบ่มเชื้อให้อยู่ในอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ซึ่งตู้บ่มเชื้อที่อยู่ในห้องวิจัยทางชีววิทยามีขนาดใหญ่จึงทำให้เคลื่อนย้ายลำบาก แต่ด้วยเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศนี้จะช่วยให้การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียนอกพื้นที่ทำได้ง่ายมากขึ้น

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

ในการทำวิทยานิพนธ์นี้เป็นการศึกษา และพัฒนาเครื่องมือ เพื่อเพิ่มศักยภาพในการวิเคราะห์และตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศบนจานเพาะเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้หลักการการประมวลผลภาพ โดยหลักการที่นำเสนอในวิทยานิพนธ์นี้ มีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. เพื่อนำคุณสมบัติที่ดีของการประมวลผลภาพมาประยุกต์ใช้งานทดแทนการนับเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อด้วยตาเปล่าแบบเดิม
2. เพื่อปรับปรุงให้การตรวจนับให้มีประสิทธิภาพ และสะดวกสบายในการนับได้ง่ายยิ่งขึ้น
3. เพื่อออกแบบอุปกรณ์ให้มีราคาถูกและเคลื่อนย้ายให้ใช้งานนอกเหนือจากห้องวิจัยได้

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

จากการนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศหากมีเชื้อแบคทีเรียในปริมาณมาก การนับเชื้อแบคทีเรียด้วยตาจะมีความยากลำบากมาก เนื่องจากต้องใช้เวลานับนาน ดังนั้นการออกแบบเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยหลักการการประมวลผลภาพนี้ จะช่วยให้การนับเชื้อแบคทีเรียได้ง่ายและรวดเร็วขึ้น รวมทั้งเครื่องตรวจนับเชื้อนี้ราคาถูกซึ่งช่วยในการลดต้นทุนในการซื้ออุปกรณ์ที่มีราคาแพง และยังสามารถตัดปัญหาในด้านการเคลื่อนย้ายอุปกรณ์ในการทดลอง ซึ่งปกติไม่สามารถเคลื่อนย้ายได้สะดวก

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

เพื่อให้การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยวิธีการเพาะเชื้อบนจานเพาะมีความง่าย สะดวกในกาวิเคราะห์ และเพื่อทดแทนการนับเชื้อแบคทีเรียแบบเดิม จึงเลือกใช้วิธีการการประมวลผลภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งได้ใช้โปรแกรมวิชวลเบสิก 6.0 ในการพัฒนาโปรแกรมควบคุมหน้าจออินเตอร์เฟสเพื่อนับและคำนวนปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศ

1.5 ขอบเขตการวิจัย

ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นการพัฒนาอุปกรณ์ในการบ่มเชื้อ ซอฟต์แวร์ในการนับและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศ เพื่อให้การนับและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศมีความง่ายและสะดวกขึ้น โดยผ่านซอฟต์แวร์ที่ใช้หลักการการประมวลผลภาพ ซึ่งได้พัฒนาขึ้นด้วยโปรแกรมภาษาวิชวลเบสิก 6.0 และออกแบบตู้บ่มเชื้อให้มีขนาดเล็ก เพื่อให้สะดวกในการพกพาไปใช้นอกเหนือจากห้องวิจัยได้ โดยใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งได้ใช้หลักการ ON-OFF control เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา

เนื่องจากปัจจุบันกระบวนการในการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศนั้น ยังคงใช้วิธีการเพาะเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะ ซึ่งเป็นกระบวนการที่ยุ่งยากในการปฏิบัติ ซึ่งเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศนี้ จะช่วยให้การปฏิบัติมีความสะดวกและรวดเร็วมากขึ้น

โดยในบทที่ 2 กล่าวถึงหลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ ซึ่งได้กล่าวถึงการพัฒนาอุปกรณ์และซอฟต์แวร์ในการนับและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศแบบอัตโนมัติโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ ซึ่งได้พัฒนาขึ้นด้วยโปรแกรมภาษาวิชวลเบสิก 6.0 รวมไปถึง หลักการการเก็บและนับตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ หลักการ Edge Detection และ หลักการ Blob detection รวมไปถึงการออกแบบตู้บ่มเชื้อให้มีขนาดเล็ก เพื่อให้สะดวกในการพกพาไปใช้นอกห้องวิจัยได้ โดยใช้ตัวควบคุมอุณหภูมิซึ่งได้เลือกใช้การควบคุมแบบ On-Off

บทที่ 3 กล่าวถึงซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการนับและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรีย เพื่อให้มีความง่ายต่อการทดลองนอกสถานที่และการนับที่รวดเร็ว โดยได้นำเอาระบบควบคุมอุณหภูมิมาใช้ในการควบคุมอุณหภูมิภายในตู้บ่มเชื้อให้มีอุณภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิดังกล่าวเหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และได้นำเทคนิคการประมวลผลภาพมาใช้วิเคราะห์และนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียเพื่อทดแทนการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียด้วยตาเปล่าที่ใช้เวลานานให้เร็วขึ้น ทั้งยังคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียให้อยู่ในหน่วย CFU/m^3 ได้อัตโนมัติ

บทที่ 4 กล่าวถึงการทดสอบและผลการทดสอบ จากการที่ได้พัฒนาซอฟต์แวร์ที่ช่วยในการนับเชื้อแบคทีเรียแล้วได้ทำการทดลองโดยการสุ่มตัวอย่างอากาศในสถานที่เดียวกันและแตกต่างที่จำนวนอากาศที่สุ่มตรวจ ซึ่งได้ทำการทดสอบเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศและเปรียบเทียบระหว่างการนับแบบดั้งเดิมคือใช้ผู้เชี่ยวชาญนับด้วยตาเปล่าและการนับด้วยเครื่องตรวจสอบ รวมถึงซอฟต์แวร์ยังได้คำนวณจำนวนโคโลนีออกมาเป็นหน่วย CFU/m^3 (ที่ 25 องศาเซลเซียส , 1 บรรยากาศ) และคุณภาพของอากาศ อ้างอิงจาก : Singapore Indoor Air Standard ได้ผลลัพธ์ออกมาซึ่งแสดงในบทที่ 4 นี้

บทที่ 5 กล่าวถึงการวิเคราะห์ผลการทดลองและบทสรุปงานวิจัย

ภาคผนวก ก แสดงรายละเอียดของโปรแกรมควบคุมภาษาวิชวลเบสิก 6.0

ภาคผนวก ข แสดงผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

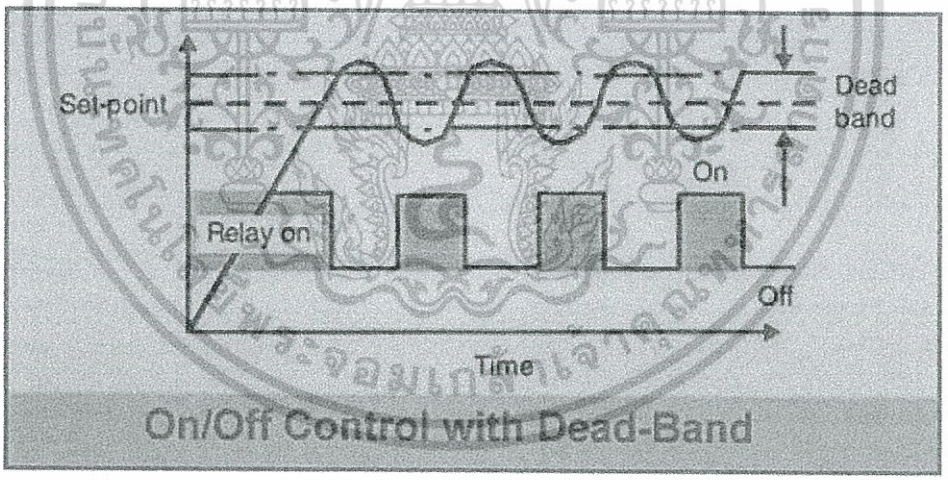
บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ในการพัฒนาอุปกรณ์และซอฟต์แวร์ในการนับและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศแบบอัตโนมัติโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ ซึ่งได้พัฒนาขึ้นด้วยโปรแกรมภาษาวิชวลเบสิก 6.0 ซึ่งจะกล่าวถึง หลักการการเก็บและนับตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศซึ่งในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เรียกว่าการนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศแบบดั้งเดิม หลักการ Edge Detection หลักการ Threshold และ หลักการ Blob detection รวมไปถึง ออกแบบตู้บ่มเชื้อให้มีขนาดเล็ก เพื่อให้สะดวกในการพกพาไปใช้นอกห้องวิจัยได้ โดยใช้ตัวควบคุมอุณหภูมิซึ่งได้ใช้การควบคุมแบบ On-Off

2.2 การควบคุมแบบเปิด-ปิด (On-Off Control)

ระบบควบคุมแบบเปิดปิด (On-Off Control) เป็นระบบที่ส่วนของ Correction element ทำงานในลักษณะ 2 สถานะ คือ เปิด และ ปิด ดังนั้นสัญญาณเอาท์พุทของการควบคุม จะมีเพียง 2 สถานะเท่านั้น ถ้ามองในรูปของสัญญาณดิจิตอลจะเป็นลักษณะของไบนารี 0 หรือ 1 โดยค่าความผิดพลาดของกระบวนการคือส่วนต่างของ set point



ภาพที่ 2.1 On/Off Control with Dead-Band

2.3 การเก็บตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ

อันตรายในสิ่งแวดล้อมการทำงานทางชีวภาพ หมายถึง อันตรายที่มีสาเหตุมาจากปัจจัยทางชีวภาพ โดยทั่วไปหมายถึงสารหรือสิ่งซึ่งมาจากสิ่งมีชีวิต เช่น พืช หรือสัตว์ หรือจุลชีพทั้งหลายอนุภาคของหรือจากสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ที่แขวนลอยหรือตกสะสมบนพื้นผิวถูกเรียกรวมๆว่าฝุ่นอินทรีย์ หรือในบางครั้งใช้คำว่า อนุภาคแขวนลอยชีวภาพ (Bioaerosols) ซึ่งรวมถึงจุลชีพและสารพิษ (Toxins) หรือสารที่ทำให้เกิดภูมิไวรัส (Allergens) ของพืชหรือสัตว์ชั้นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในบทนี้ กล่าวถึงการเก็บตัวอย่างอากาศเพื่อวิเคราะห์จุลชีพซึ่งอาจแขวนลอยในอากาศทั่วไปและตัวกลางอื่นทั้งในและนอกอาคาร โดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อมในอาคารที่สะอาดถูกสุขอนามัยมีจุลชีพน้อยกว่าในสิ่งแวดล้อมนอกอาคาร การเก็บตัวอย่างเพื่อประเมินการสัมผัสจุลชีพในสิ่งแวดล้อมการทำงานในอาคารเป็นส่วนหนึ่งของการประเมินคุณภาพอากาศภายในอาคารของนักสุขศาสตร์อุตสาหกรรม ซึ่งโดยทั่วไปเน้นที่การเก็บตัวอย่างในตัวกลางต่างๆ เช่น อากาศ น้ำ และพื้นผิว เพื่อวิเคราะห์แบคทีเรียและเชื้อรา

2.3.1 หลักการเก็บตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ

การประเมินการสัมผัสจุลชีพแตกต่างไปจากสารเคมีหรือสารอนินทรีย์ต่างๆ เนื่องจากความหลากหลายและแตกต่างกันของจุลชีพแขวนลอยเหล่านี้ กล่าวคือจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคอาจเป็นอันตรายอย่างยิ่งแม้สัมผัสในปริมาณเพียงเล็กน้อย ขณะที่จุลชีพบางชนิดเป็นอันตรายต่อสุขภาพต่อเมื่อสัมผัสที่ความเข้มข้นสูงๆ เท่านั้น จุลชีพบางชนิดทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เช่น สปอร์ของราส่วนใหญ่ บางชนิดตายหรือเปลี่ยนแปลงสภาพไปอย่างง่ายดายในสิ่งแวดล้อมที่แปรปรวน ซึ่งรวมถึงสภาวะของกระบวนการเก็บตัวอย่างด้วย

อุปกรณ์เก็บตัวอย่างจุลชีพอาศัยหลักการเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างอนุภาค กล่าวคือ แยกอนุภาคจุลชีพออกจากกระแสอากาศและดักเก็บไว้บนหรือในตัวกลางที่เป็นของเหลว ของแข็ง กระดาษกรอง หรืออาหารเลี้ยงเชื้อ และเทคนิคที่ใช้ทั่วไปคือ การดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง (Impaction) การกรอง (Filtration) และการดักด้วยของเหลวในอิมพิงเจอร์ (Impingement) จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของจุลชีพต่อไป ซึ่งเทคนิคที่ใช้เก็บตัวอย่างจุลชีพในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะกล่าวถึง การดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง

2.3.2 การดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง (Impactor method)

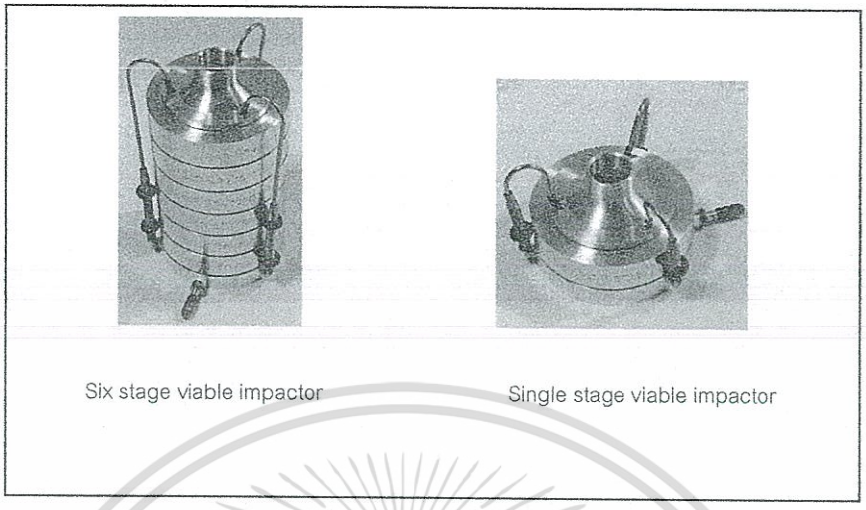
การดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่างนี้จุลชีพ ซึ่งแขวนลอยในอากาศถูกดูดผ่านช่องเล็กๆ และชนเข้ากับอาหารเพาะเชื้อซึ่งบรรจุอยู่ในจานเพาะเชื้อซึ่งจุลชีพนั้นสามารถเจริญเติบโต เพิ่มจำนวนและสร้างโคโลนี หรือบนแผ่นกระจกหรือเทปกาวและนำไปเพาะเชื้อ หรือส่องกล้องนับและสังเกตลักษณะสปอร์ ความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์อาจเกิดขึ้นได้หากจุลชีพอยู่ชิดกันบนอาหารเพาะเชื้อ และสร้างโคโลนีขึ้นมาติดกันนับได้เป็นหนึ่งโคโลนี ความคลาดเคลื่อนมีมากขึ้นตามความหนาแน่นของโคโลนีบนอาหารเพาะเชื้อ ดังนั้นผู้ผลิตอุปกรณ์ชนิดนี้จึงต้องจัดหาตารางการปรับค่าให้แก่ผู้ซื้ออุปกรณ์ด้วย โดยทั่วไปค่าปรับความถูกต้องนี้เรียกว่า “Positive hole correction factor”

2.3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือเก็บตัวอย่างจุลชีพแขวนลอยในอากาศ

อุปกรณ์สำหรับการดักเก็บตัวอย่างด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง (Impactor Method) ถูกออกแบบมาเพื่อให้สามารถคัดแยกขนาดอนุภาคและนับจำนวนจุลชีพที่มีชีวิตในเวลาเดียวกันได้ มีหลายชนิด ได้แก่ อุปกรณ์ชนิดหกชั้น (Six Stage Impactor) อุปกรณ์ชนิดสองชั้น (Two Stage Impactor) อุปกรณ์ชนิดชั้นเดียว (Single Stage Impactor) (ภาพที่ 2.2) ข้อดีของอุปกรณ์ชนิดนี้คือสามารถดักเก็บจุลชีพบนอาหารเพาะเชื้อได้โดยตรง ไม่ต้องเจือจางหรือล้างอุปกรณ์เก็บเพื่อนำไปเพาะเชื้อต่อ ขณะที่ปัญหาหลักคือสามารถเก็บเฉพาะจุลชีพที่มีชีวิตเท่านั้น ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างอากาศจุลชีพที่ไม่มีชีวิตหรือไม่สามารถเพาะเชื้อขึ้นซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากหายใจเข้าไป และจุดอ่อนอีกประการหนึ่ง คือ หากมีจุลชีพจำนวนมากในอากาศอาจมีจุลชีพมากกว่าหนึ่งตกลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อในจุดเดียวกัน ซึ่งส่งผลให้การวิเคราะห์ต่ำกว่าความเป็นจริง



ภาพที่ 2.2 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโดยการดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่าง

2.3.4 ระยะเวลาในการเก็บและจำนวนตัวอย่าง

โดยทั่วไประยะเวลาในการเก็บตัวอย่างอากาศเพื่อประเมินการสัมผัสเฉลี่ยกับสารใด ๆ นั้น ควรสะท้อนระยะเวลาการทำงานที่สัมผัสสารนั้นๆ อย่างไรก็ตาม สำหรับการเก็บตัวอย่างจุลชีพนั้น เป็นสิ่งที่ทำได้ยากและสิ้นเปลือง เนื่องจากระยะเวลาที่คนส่วนใหญ่อาศัยหรือทำงานอยู่ในอาคารมักมีระยะเวลายาวนาน ในขณะที่การเก็บตัวอย่างจุลชีพที่มีชีวิตแขวนลอยในอากาศและนำมาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเฉพาะการเก็บโดยการดักเก็บด้วยจานอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น แต่ละตัวอย่างอาจต้องใช้เวลาสั้นๆ เพียงไม่กี่วินาที เนื่องจากจุลชีพอาจตกลงที่จุดเดียวกันหรือจุดที่ใกล้กันมากกว่าหนึ่งอนุภาค เมื่อเพาะบ่มเชื้อโคโลนีของจุลชีพเหล่านี้เจริญเติบโตซ้อนกันหรือรวมเป็นโคโลนีเดียว การนับจุลชีพจึงคลาดเคลื่อนได้ และการเก็บตัวอย่างเป็นเวลานานอาจส่งผลให้จุลชีพบางชนิดตายเพราะไม่สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมบนตัวอย่างได้ โดยเฉพาะตัวอย่างที่เก็บด้วยกระดาษกรอง ดังนั้น การเก็บตัวอย่างโดยการดักเก็บด้วยเพลทเก็บตัวอย่างหรือจานอาหารเลี้ยงเชื้อจึงใช้เวลาประมาณ 1 – 5 นาที หรืออาจสั้นเพียง 15 – 90 วินาที ขณะที่การเก็บตัวอย่างอากาศด้วยกระดาษกรองและอิมพิงเจอร์อาจเก็บนานถึง 30 นาที ถึงหลายชั่วโมง ทั้งนี้ระยะเวลาเก็บตัวอย่างอากาศสำหรับอุปกรณ์แต่ละชนิดขึ้นกับอัตราการไหลของอากาศและความเข้มข้นของจุลชีพที่คาดว่าจะมีในอากาศ กล่าวคือ หากคาดว่าความเข้มข้นของจุลชีพในอากาศสูงควรเก็บตัวอย่างอากาศในปริมาตรที่ต่ำกว่า โดยอาจกำหนดให้ระยะเวลาเก็บตัวอย่างสั้นกว่า หรืออัตราการไหลอากาศต่ำกว่าเป็นต้น

นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาแล้ว การแปรผันของปัจจัยแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ฤดูกาล และภูมิอากาศมีอิทธิพลต่อปริมาณและชนิดจุลชีพในอากาศ รวมทั้งกิจกรรมที่อาจทำให้เกิดการฟุ้งกระจายและการสร้างสปอร์ของจุลชีพ การเก็บตัวอย่างอากาศในเวลาสั้น ๆหลาย ๆตัวอย่างจึงสะท้อนปัจจัยดังกล่าวและปริมาณเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทำงานหรือการสัมผัสได้ดีกว่า และหากเนื่องจากการระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างอากาศสั้นด้วยเหตุผลที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ การประเมินการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมผัสที่นักสุขศาสตร์อุตสาหกรรมมั่นใจว่าถูกต้องใกล้เคียงความเป็นจริงจึงอาจต้องการตัวอย่างจำนวนมาก ทั้งนี้ขึ้นกับความแปรปรวนของปัจจัยแวดล้อมเป็นสำคัญ นั่นคือ หากสภาพแวดล้อมมีการแปรผันหรือแตกต่างกันมากในช่วงเวลาหนึ่งๆ อาจต้องการตัวอย่างจำนวนมากกว่าสภาพแวดล้อมที่มีความแตกต่างหรือแปรผันน้อยกว่า

2.3.5 สิ่งที่ต้องคำนึงในการเก็บตัวอย่างจุลชีพ

1. อุณหภูมิสูงและความชื้นต่ำ จะมีผลทำให้การเจริญเติบโตของจุลชีพชะงักได้ แบคทีเรียบางชนิดมีอัตราการรอดในที่ความชื้นสัมพัทธ์ 80% สูงกว่าในที่ความชื้นสัมพัทธ์ 30% ถึง 35 - 65 เท่า ขณะที่อุณหภูมิอาจทำให้รูปร่างของจุลชีพเปลี่ยน (Morphological Change) ได้ เช่น Histoplasma capsulatum เป็นจุลชีพที่ทำให้เกิดโรคชนิดหนึ่งซึ่งในที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส จะอยู่ในรูปของไมซีเลียหรือสปอร์ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะกระตุ้นให้ Histoplasma capsulatum เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของยีสต์ ดังนั้น ในการเก็บตัวอย่างจุลชีพจึงต้องจดบันทึกอุณหภูมิและความชื้นด้วยเสมอ

2. ความปลอดภัย เนื่องจากจุลชีพมีอยู่ทั่วไปทุกหนทุกแห่งรวมทั้งบนร่างกายของคนเราด้วย เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของตัวอย่างในขณะจัดการเก็บตัวอย่างอากาศ อุปกรณ์ทุกชนิดจึงต้องผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อ และผู้ทำหน้าที่เก็บตัวอย่างต้องล้างมือให้สะอาดและระมัดระวังไม่สัมผัสกับตัวอย่างหรืออาหารเลี้ยงเชื้อโดยตรง ขณะเดียวกันจุลชีพในสิ่งแวดล้อมที่ต้องการประเมินนั้นอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของนักสุขศาสตร์อุตสาหกรรมที่ทำหน้าที่ได้ด้วย ดังนั้น การป้องกันตนเองโดยการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลที่เหมาะสมและขั้นตอนการปฏิบัติงานที่ดีจึงเป็นสิ่งจำเป็นและต้องคำนึงถึงเสมอ

3. การควบคุมคุณภาพ การเก็บตัวอย่างอากาศเพื่อวิเคราะห์จุลชีพแขวนลอยในอากาศจำเป็นต้องความคุมคุณภาพเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างอากาศอื่นๆ และดังที่กล่าวมาแล้วการปนเปื้อนของตัวอย่างอาจเกิดขึ้นได้ค่อนข้างง่ายและในทุกขั้นตอน ดังนั้น แบลงค์ (คือ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างซึ่งนักสุขศาสตร์อุตสาหกรรมเตรียมขึ้นเพื่อใช้ในการเก็บตัวอย่างอากาศ และได้รับการปฏิบัติเช่นเดียวกับตัวอย่างทุกประการ ยกเว้นไม่ดูดอากาศผ่าน) จึงถูกใช้สำหรับการควบคุมคุณภาพในขั้นตอนต่างๆ ของการเตรียม การเก็บและการวิเคราะห์ตัวอย่าง นั่นคือ แบลงค์ในขณะเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Laboratory Media Blank) และแบลงค์ในขณะเก็บตัวอย่างและขนส่งกลับมายังห้องปฏิบัติการเพื่อวิเคราะห์ (Field Blank)

- แบลงค์ในขณะเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาใช้ควรมั่นใจว่าอาหารนั้นไม่ถูกปนเปื้อนมาก่อนโดยการเตรียมตัวอย่างอย่างน้อยสามตัวอย่างและบ่มเพาะเชื้อตามขั้นตอนที่ต้องปฏิบัติสำหรับตัวอย่าง หากไม่มีการปนเปื้อน (ไม่มีจุลชีพเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ) จึงเตรียมอาหารสำหรับเก็บตัวอย่าง สุ่มเก็บอาหารที่เตรียมไว้นี้อย่างน้อยห้าตัวอย่าง (หรือตามที่ห้องปฏิบัติการกำหนด) เพื่อเป็นแบลงค์ซึ่งต้องนำเข้าบ่มเพาะเชื้อพร้อมกับตัวอย่างที่เก็บมา

- แบลงค์ในขณะเก็บตัวอย่าง (Field Blank) คืออาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บตัวอย่างที่นำไปยังพื้นที่ที่ต้องการเก็บตัวอย่างด้วย และปฏิบัติกับแบลงค์เหล่านี้เช่นเดียวกับตัวอย่างทุกประการยกเว้นไม่ใช้ในการเก็บตัวอย่างอากาศ กล่าวคือ นำมาวางบนอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เปิดฝาและปิดฝาทันที และเก็บบรรจุขนส่งเพื่อนำกลับมาบ่มเพาะเชื้อรวมกับตัวอย่าง อย่างน้อยควรสุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บแบลงค์สองตัวอย่างสำหรับตัวอย่างอากาศสิบตัวอย่าง แต่ไม่เกินสิบแบลงค์สำหรับการเก็บตัวอย่างอากาศหนึ่งเซ็ต

2.3.6 Manual Counting Method for airborne microorganisms

หลักการการนับโคโลนีเป็นวิธีการพื้นฐานในการหาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ วิธีการทั่วไปที่ปฏิบัติคือการนับจำนวนของแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ [11, 12] ซึ่งขั้นตอนต่อไปนี้

1. เก็บตัวอย่างอากาศบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
2. หลังจากที่ได้ระยะเวลาการบ่มที่เหมาะสมตรวจสอบจานเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีเกิดขึ้น
3. โคโลนีที่เกิดขึ้นด้านบนของอาหารเลี้ยงเชื้อรวมทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดจะต้องนับ
4. เลือกจานที่โคโลนีปรากฏขึ้นระหว่าง 30-300 โคโลนี ซึ่งจะเป็นตัวอย่างที่ดีที่สุด
5. ใช้ light box หรือ colonies counter แล้วใช้ปากกาเน้นโคโลนีที่นับแล้ว โดยปกติแล้วจะนับโคโลนีที่อยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี เพื่อจะเป็นเรื่องง่ายในการปฏิบัติต่อไป
6. เขียนตัวเลขที่ของโคโลนีในสมุดบันทึก
7. สมมติฐาน : มี 2 สมมติฐานที่ใช้ :
   7.1 ทุกเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียเป็นโคโลนี
   7.2 โคโลนีที่นับแต่ละครั้งจะถูกสร้างขึ้นจากเซลล์หนึ่งเซลล์
8. สมมติฐานที่กล่าวข้างต้นจะไม่มีการใช้งานของ bacteria/m^3 Unit จะใช้ Units/m^3 หรือ CFU/m^3 Unit จะถูกนำมาใช้แทน

2.4 การประมวลผลภาพ

รูปภาพที่เห็นกันอยู่ไม่ว่าจะเป็นภาพที่ถ่ายโดยใช้กล้องธรรมดาหรือแบบดิจิตอล ถ้ามองกันในแบบของคอมพิวเตอร์ มันก็คือ จุดสีหลายๆ จุดที่นำมาเรียงต่อๆ กันจนสามารถบอกได้ว่าเรียงกันเป็นรูปอะไร เนื้อหาของรูปภาพเป็นอย่างไร การมองเพื่อทำความเข้าใจรูปภาพหนึ่งๆ ไม่ว่าจะเป็นภาพถ่าย หรือภาพที่เป็นแบบดิจิตอลในคอมพิวเตอร์ก็ตาม ในมุมมองของมนุษย์กับรูปภาพ หรือมุมมองของคอมพิวเตอร์กับรูปภาพเป็นคนละมุมกันและแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง มนุษย์สามารถเข้าใจถึงเนื้อหาของภาพได้ว่าภาพที่ปรากฏนั้นให้ความพึงพอใจ ความน่าสนใจมากน้อยแค่ไหน และภาพนี้บอกอะไร สามารถสื่อถึงความรู้สึกอะไรบางอย่างได้หรือไม่ และอีกหลายๆ ความรู้สึกที่ได้จากการมองภาพ

แต่เมื่อรูปภาพถูกนำมาทำเป็นภาพในคอมพิวเตอร์ คอมพิวเตอร์จะรู้และเข้าใจภาพเป็นเพียงแค่เป็นจุดสีหลาย ๆ จุดที่เรียงต่อกันในความสัมพันธ์ระหว่างจุดภาพที่เหมาะสม ภาพดิจิตอลถึงแม้จะเก็บอยู่ในรูปของไฟล์ในดิสก์ของคอมพิวเตอร์เองหรือแม้แต่จะนำเอาภาพสวยๆ มาเป็นวอลเปเปอร์พื้นหลังของ Desktop ใน Windows ก็ตาม มันก็ไม่อาจจะรู้และเข้าใจถึงเนื้อหาของภาพที่ปรากฏนั้นได้ ยกเว้นมนุษย์ที่เป็นผู้ใช้คอมพิวเตอร์นั้นๆ จะเป็นผู้เห็นภาพๆนั้นจึงจะบอกได้ว่านี่คือภาพที่สวยหรือไม่สวย เมื่อทำงานเกี่ยวกับการออกแบบด้วยคอมพิวเตอร์มักจะเจอคำว่า RGB ซึ่ง RGB มีแนวคิดมาจากการผสมแสงสีหลัก 3 สีเข้าด้วยกันคือแดง (RED) เขียว (GREEN) และน้ำเงิน (BLUE) ซึ่งเมื่อผสมกันจะทำให้เกิดสีจำนวนมากและเมื่อนำมารวมกันที่ความเข้มสูงสุดจะได้สีขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

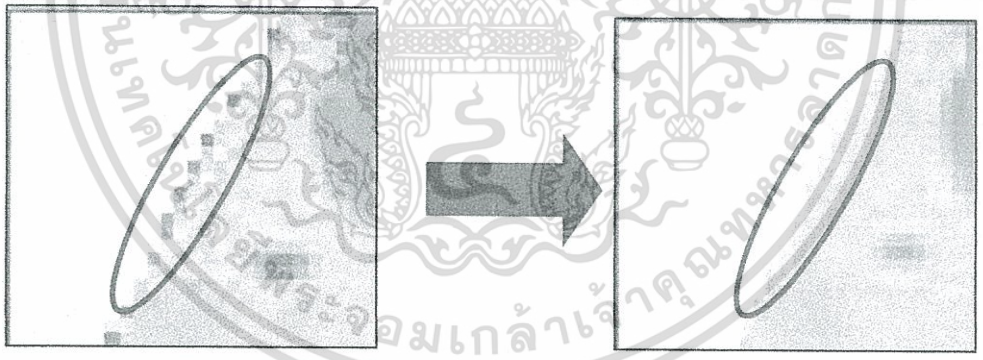
2.4.1 Feature Extraction

เป็นการดึงเอาลักษณะเฉพาะของแต่ละรูปภาพออกมา เป็นเวกเตอร์เพื่อนำไปใช้ในการฝึกฝนระบบและทดสอบระบบ บางครั้งการใช้สีเพื่อทำการแยกแยะวัตถุนั้น มักไม่มีความทนทานเพียงพอต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่นความเปลี่ยนแปลงของสภาพแสง มุมมองของภาพ และการบดบังจากวัตถุอื่นๆ ก็สามารถทำให้การแยกแยะวัตถุโดยใช้สีผิดพลาดได้ การดึงจุดเด่นในภาพออกมา และทำการ Matching กับจุดเด่นของภาพใน Database ที่ได้กำหนดไว้ จุดเด่นของภาพนั้นสามารถกำหนดได้จากหลายวิธีด้วยกัน เช่น การหาขอบภาพ หามุมในภาพจากความต่างของค่าสีในพิกเซลที่พิจารณาและพิกเซลรอบข้าง เมื่อทำการแปลงภาพให้แสดงค่าจุดเด่นของภาพ เช่น edge value, corner value แล้ว ค่าจุดเด่นนั้นจะนำมาเทียบกับค่าจุดเด่นของภาพตัวอย่างที่เก็บไว้ใน database เพื่อหาค่าความเหมือนซึ่งจะได้นำไปใช้ในการแยกแยะต่อไป

2.4.2 Image Filtering

การกรองข้อมูลภาพ (Image Filtering) คือการนำภาพไปผ่านตัวกรองสัญญาณเพื่อให้ได้ภาพผลลัพธ์ออกมา ภาพผลลัพธ์ที่ได้จะมีคุณสมบัติแตกต่างจากภาพเริ่มต้น วัตถุประสงค์หลักของการกรองข้อมูลภาพคือการเน้น (Enhance) หรือลดทอน (Attenuate) คุณสมบัติบางประการของภาพเพื่อให้ได้ภาพที่มีคุณสมบัติตามต้องการ

การกรองข้อมูลภาพคือการประมวลผลภาพอย่างหนึ่งที่จำเป็นมาก เนื่องจากในการใช้งานจริง ภาพที่ได้มามักมีสัญญาณรบกวน หรือสัญญาณไม่พึงประสงค์อื่นๆ ปะปนอยู่ด้วย การกรองข้อมูลภาพสามารถปรับปรุงให้ภาพมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น เหมาะแก่การประมวลผลในขั้นต่อไป



ภาพต้นฉบับ ภาพผลลัพธ์

รูปที่ 2.3 การกรองข้อมูลภาพ

องค์ประกอบสำคัญของการกรองข้อมูลภาพคือตัวกรอง หากเปรียบภาพเป็นสัญญาณไฟฟ้าที่มีความถี่ต่างๆ ผสมกันอยู่ ตัวกรองก็คือวงจรไฟฟ้าที่ทำหน้าที่เลือกหรือกรองให้สัญญาณไฟฟ้าที่มีความถี่ในช่วงที่ต้องการผ่านออกไปได้ คุณสมบัติของตัวกรองคือตัวกำหนดคุณสมบัติของภาพผลลัพธ์

เราอาจมองข้อมูลของภาพๆ หนึ่งให้เป็นสัญญาณๆ หนึ่งได้ ด้วยการกำหนดให้ระดับความเข้มแสงของแต่ละจุดคือขนาด (Amplitude) ของสัญญาณ ณ ตำแหน่งนั้นๆ ข้อแตกต่างระหว่างสัญญาณไฟฟ้ากับภาพคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ขนาดของสัญญาณไฟฟ้าคือค่าแรงดันหรือกระแส แต่ขนาดของข้อมูลภาพคือระดับความเข้มแสงของจุดภาพ

2. การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณไฟฟ้าเป็นการเปลี่ยนแปลงเทียบกับเวลา ความถี่ของสัญญาณไฟฟ้าถูกกำหนดโดยอัตราการเปลี่ยนแปลงของขนาดของสัญญาณในหนึ่งช่วงเวลา แต่การเปลี่ยนแปลงของข้อมูลภาพเป็นการเปลี่ยนแปลงเทียบกับตำแหน่งของจุดภาพ ความถี่ของการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับอัตราการเปลี่ยนระดับความเข้มแสงของจุดที่อยู่ถัดกันไป

3. สัญญาณไฟฟ้าเป็นสัญญาณมิติเดียว (Amplitude vs Time) แต่ภาพเป็นสัญญาณ 2 มิติ (Intensity vs X & Y)

ตัวกรองคือระบบ ๆ หนึ่งซึ่งรับสัญญาณเข้า (Input) ประมวลผลสัญญาณ และส่งสัญญาณออก (Output) โดยทั่วไปตัวกรองจะถูกสร้างให้เป็นระบบเชิงเส้น (Linear System) เนื่องจากออกแบบได้ง่าย และมีประสิทธิภาพดี ปัจจุบันมีทฤษฎีและเทคนิคมากมายเกี่ยวกับการออกแบบตัวกรองสัญญาณแบบเชิงเส้น

ในการกรองข้อมูลภาพ เรามักพิจารณาว่าภาพคือสัญญาณ 2 มิติที่ประกอบขึ้นจากสัญญาณความถี่ต่างๆ ผสมกันอยู่ในสัดส่วนที่ต่างกัน การออกแบบตัวกรองจึงเป็นการกำหนดว่าเราต้องการกำจัดสัญญาณความถี่ใดออกไป (หรือต้องการเลือกสัญญาณความถี่ใดบ้าง) หากผู้อ่านมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการกรองสัญญาณไฟฟ้า ก็จะสามารถทำความเข้าใจเกี่ยวกับการกรองข้อมูลภาพได้ไม่ยาก เพราะการกรองข้อมูลภาพคือส่วนขยายของความรู้เดิมให้รองรับการประมวลผลสัญญาณ 2 มิติ

2.4.3 การกรองโดยการเฉลี่ยจากหลายภาพ

หากเรามีเครื่องของภาพคุณภาพต่ำหลาย ๆ ภาพซึ่งถ่ายจากมุมกล้องเดียวกัน เราสามารถสร้างภาพใหม่ที่มีคุณภาพสูงกว่าจากเครื่องภาพนั้นได้ หากสัญญาณรบกวนเกิดขึ้นแบบสุ่ม ภาพที่เก็บแต่ละครั้งย่อมมีลักษณะแตกต่างกัน หากความเข้มแสงของจุดในภาพหนึ่งถูกรบกวน เราสามารถนำข้อมูลความเข้มแสงของจุด จากภาพอื่น ณ ตำแหน่งเดียวกันมาแทน แต่ละจุดในภาพผลลัพธ์ที่ได้จะเกิดจากการเฉลี่ยหรือเลือกจากจุดที่ตรงกันของภาพต่าง ๆ ในเครื่องภาพ

1. การกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่าเฉลี่ยแบบคณิตศาสตร์ (Average Filtering) วิธีการนี้จะใช้ค่าเฉลี่ยแบบคณิตศาสตร์ของจุดทั้งหมด หากมีภาพขนาด NxM ทั้งหมด K ภาพ วิธีนี้เป็นการลดทอนสัญญาณรบกวน ภาพที่ได้จะมีสัญญาณรบกวนลดลง

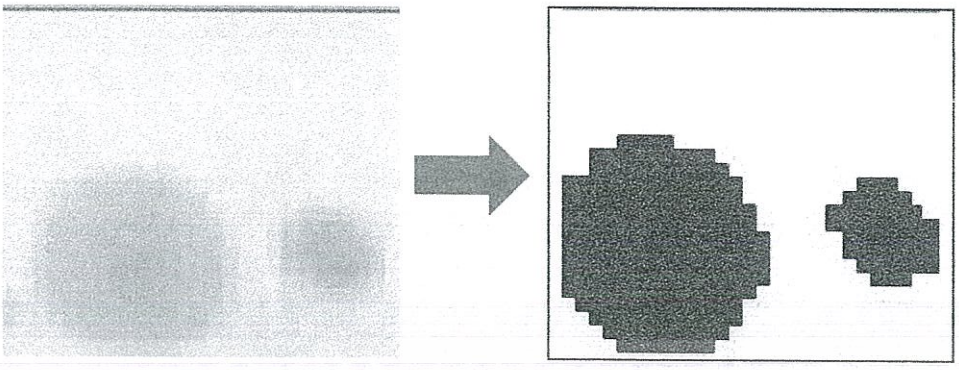
2. การกรองข้อมูลภาพโดยใช้ค่ามัธยฐาน (Median Filtering) วิธีการนี้จะนำเอาความเข้มแสงของจุดที่ตรงกันในภาพต่างๆ มาเรียงลำดับ (Sort) จากน้อยไปหามาก จากนั้นจะเลือกค่าที่อยู่ตรงกลางไปใช้ หากจำนวนภาพทั้งหมดเป็นจำนวนคู่ ค่าทั้งสองที่อยู่ตรงกลางจะนำมาหาค่าเฉลี่ย วิธีการนี้จะต้องใช้การเรียงลำดับซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้เวลาในการคำนวณสูง แต่ข้อดีคือไม่สูญเสียความคมชัด

2.4.4 Image Segmentation

เป็นกระบวนการแยกภาพออกเป็นส่วนย่อยๆ จะทำให้สามารถแยกภาพส่วนที่ต้องการออกจากส่วนอื่นๆ โดยการตัดแยกวัตถุนั้นสามารถทำได้หลายวิธี แต่ในวิทยาพนธ์เล่มนี้จะนำเสนอในส่วนของการแยกวัตถุออกจาพื้นหลังที่เรียกว่า Edge Detection

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 Edge Detection



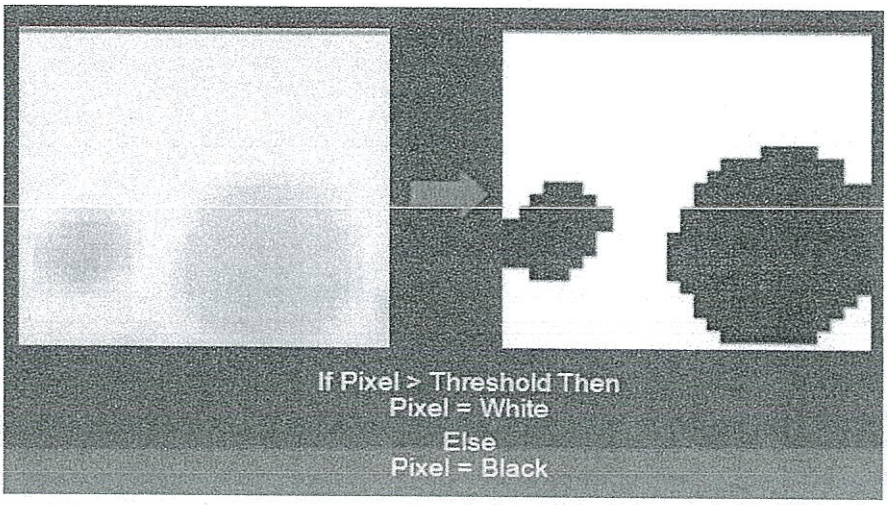
รูปที่ 2.4 ภาพที่ได้จากวิธี edge detection

จากรูปที่ 2.11 การหาขอบภาพ (Edge Detection) คือ การตรวจสอบว่าเส้นขอบลากผ่านหรือใกล้เคียงกับจุดใด โดยวัดจากการเปลี่ยนแปลงของความเข้มในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับจุดดังกล่าว หรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นการหาเส้นรอบวัตถุที่อยู่ในภาพ เมื่อทราบเส้นรอบวัตถุ ซึ่งจะสามารถคำนวณหาพื้นที่(ขนาด) หรือรู้จำชนิดของวัตถุนั้นได้ อย่างไรก็ตามการหาขอบภาพที่ถูกต้องสมบูรณ์ไม่ใช่เป็นเรื่องง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหาขอบของภาพที่มีคุณภาพต่ำ มีความแตกต่างระหว่างพื้นหน้ากับพื้นหลังน้อย หรือมีความสว่างไม่สม่ำเสมอทั่วภาพ ขอบภาพเกิดจากความแตกต่างของความเข้มแสงจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง หากความต่างนี้มีค่ามาก ขอบภาพก็จะเห็นได้ชัด ถ้าความแตกต่างมีค่าน้อย ขอบภาพก็จะไม่ชัดเจน ซึ่งวิธีการหาขอบนั้นมีหลายวิธี สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลักคือ Gradient method และ Laplacian method สำหรับGradient method จะหาขอบโดยการหาจุดต่ำสุดและจุดสูงสุดในรูปของอนุพันธ์อันดับหนึ่งของภาพ เช่น Sobel, Roberts, Prewitt, Canny เป็นต้น ส่วน Laplacian method จะหาขอบโดยใช้อนุพันธ์อับดับ 2 โดยใช้จุดที่ค่า y เป็น 0 (Zerocrossing) ในภาพ เช่น Laplacian of Gussian และMarrs-Hildreth เป็นต้น

2.4.6 Thresholding

แม้ว่าภาพจะผ่านการ smoothing ในขั้นตอนแรกแล้วก็ตาม ภาพที่ได้อาจยังมีเส้นขอบที่ไม่ใช่ขอบที่แท้จริงปรากฏอยู่ อันเนื่องมาจากสัญญาณรบกวนหรือลักษณะของวัตถุในภาพเป็นพื้นผิวที่มีลวดลายหรือมีรายละเอียดภายในมาก ดังนั้นเพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการกำหนดค่า threshold ขึ้นมา 2 ค่า คือ high threshold (T1) และ low threshold (T2) โดยพิกเซลที่มีค่ามากกว่า T1 จะถูกปรับเป็น 1 (เป็นพิกเซลที่เป็นขอบ) แต่ถ้าน้อยกว่า T2 จะถูกปรับเป็น 0 ส่วนค่าที่อยู่ระหว่างค่า threshold ทั้งสอง การปรับเป็นค่า 0 หรือ 1 นั้นขึ้นอยู่กับพิกเซลที่อยู่รอบข้าง หากพบว่าพิกเซลที่อยู่รอบข้างของพิกเซลที่เป็นขอบ (ค่า >T1) มีค่ามากกว่า T2 แล้ว จะปรับค่าพิกเซลดังกล่าวให้มีค่าเป็น 1 และถือเป็นสมาชิกหนึ่งในภาพขอบด้วยเช่นกัน

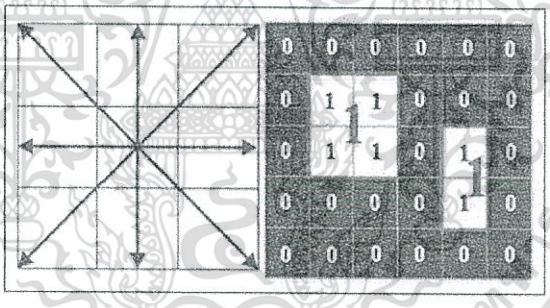
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 หลักการของ Threshold

2.4.7 Blob Detection Algorithm

Blob Detection Algorithm มีใช้กันอย่างแพร่หลาย Blob มีคุณสมบัติที่สามารถคำนวณพื้นที่และรูปร่างของพื้นที่ อัลกอริทึมนี้ได้รับความสำเร็จเป็นอย่างมากเพื่อที่ใช้ในการตรวจจับโดยอัตโนมัติ



รูปที่ 2.6 หลักการของ Blob Detection

ในรูปที่ 2.6 แสดงการกำหนดพิกเซลสัมผัสที่เป็นพิกเซลที่อยู่ติดกันในแนวตั้งหรือแนวนอนและรวมถึงพิกเซลที่อยู่ติดกันในแนวทแยงมุมเพื่อใช้ในการตรวจสอบพิกเซลสีเดียวกันและซึ่งจะช่วยในการวิเคราะห์จำนวนโคโลนี ซึ่งขั้นตอนของ Blob Detection จะแสดงในตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 Blob detection algorithm

สัญญาณขาเข้าคือภาพขาวดำ
สัญญาณขาออกคือพื้นที่และจำนวนของพื้นที่
การนับพื้นที่ พื้นที่แรกไม่จำเป็นต้องเป็นพื้นที่ที่ใหญ่ที่สุด และการนับครั้งต่อๆไปจะไม่ไปนับพื้นที่ซ้ำเดิมที่นับแล้ว
Blob Detection จะทำในรูปแบบของภาพไบนารี ที่มีพิกเซลของ 'วัตถุ' เป็น (1) หรือ 'พื้นหลัง' เป็น (0) (ในทางทฤษฎีการวิเคราะที่ยากอาจจะเกิดจากภาพสีเทา แต่กระบวนการ threshold จะทำให้ระบุพิกเซลเป็นวัตถุหรือพื้นหลังได้) สำหรับจุดประสงค์ของอัลกอริทึมนี้เราจะพูดคุยในแง่ของภาพไบนารีเป็นภาพ'ต้นฉบับ' สำหรับการป้อนข้อมูลลงในวิธีการ Blob Detection

2.5 บทสรุป

ในบทนี้เป็นการกล่าวถึงทฤษฎีและหลักการเบื้องต้นของ PID โปรแกรมวิชวลเบสิก 6.0 Image Processing และหลักการทำงานเบื้องต้นของเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียซึ่งจะได้นำไปใช้ในการออกแบบโปรแกรมหน้าจออินเตอร์เฟสเพื่อควบคุมการทำงานของ Webcam สำหรับการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

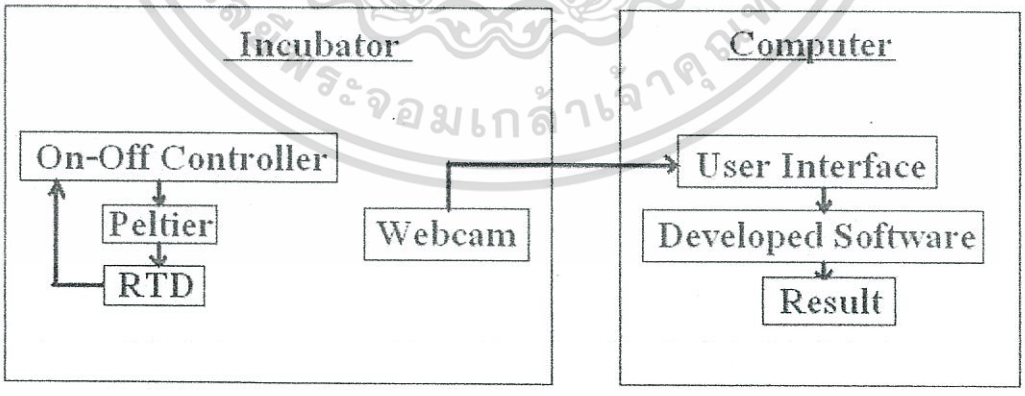
บทที่ 3
การออกแบบเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ

3.1 บทนำ

ในขั้นตอนการบ่มเชื้อแบคทีเรีย และนับเชื้อแบคทีเรีย เพื่อให้มีความง่ายต่อการทดลองนอกสถานที่และการนับที่รวดเร็ว จึงได้นำเอาระบบควบคุมอุณหภูมิมาใช้ในการควบคุมอุณหภูมิภายในตู้บ่มเชื้อให้มีอุณภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิดังกล่าวเหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และได้นำเทคนิคการประมวลผลภาพมาใช้วิเคราะห์และนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียเพื่อทดแทนการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียด้วยตาเปล่าที่ใช้เวลานานให้เร็วขึ้น ทั้งยังคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียให้อยู่ในหน่วย CFU/m^3 ได้อัตโนมัติ

3.2 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ

ในชุดตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศที่ออกแบบประกอบไปด้วย คอมพิวเตอร์, ระบบควบคุมอุณหภูมิ, Thermo couple (RTD) และ webcam ดังแสดงในรูปที่ 3.1 ซอฟต์แวร์ที่ออกแบบได้ใช้โปรแกรมวิชวลเบสิก 6.0 ในการพัฒนาหน้าจออินเตอร์เฟสบนคอมพิวเตอร์เพื่อควบคุมการทำงานของ webcam โดยสั่งการทำงานของเว็บแคมผ่านทางพอร์ต USB ของคอมพิวเตอร์ โดยกล้องเว็บแคมจะทำหน้าที่ในการ capture ภาพของเชื้อแบคทีเรียอัตโนมัติพร้อมแสดงภาพแบบ real-time เมื่อเว็บแคมทำงานตามขั้นตอนที่ได้ออกแบบไว้ ซอฟต์แวร์ที่ออกแบบด้วยโปรแกรมวิชวลเบสิก 6.0 จะทำการประมวลผลภาพที่ webcam ถ่ายได้เพื่อนำไปตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียและคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียให้อยู่ในหน่วยของ CFU/m^3 (Colony Forming Unit/ cubic meter)

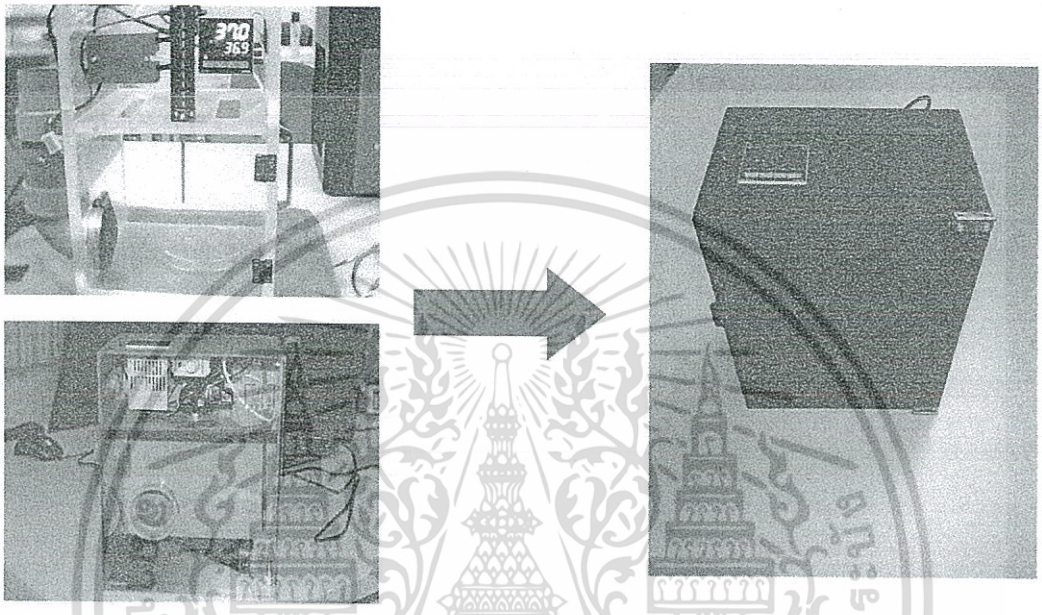


รูปที่ 3.1 แผนภาพการทำงานของชุดตรวจนับเชื้อแบคทีเรียที่ออกแบบ

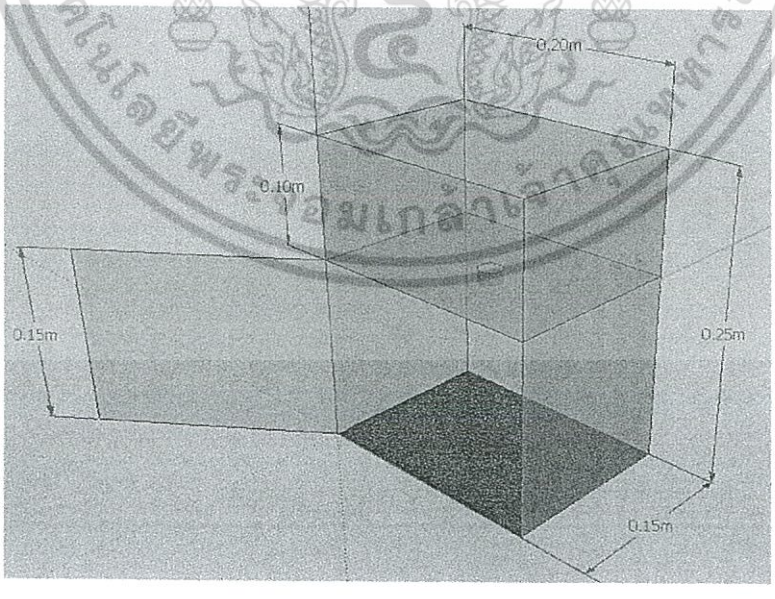
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การออกแบบตู้บ่มเชื้อ

ในการออกแบบตู้บ่มเชื้อได้มีการออกแบบขนาดของตู้โดยใช้วัสดุเป็นพลาสติกอคริลิกและระบบควบคุมอุณหภูมิโดยใช้ Temperature controller และ Peltier เพื่อควบคุมอุณหภูมิให้มีค่า 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากการบ่มเชื้อแบคทีเรียนั้น เชื้อแบคทีเรียจะมีอัตราการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และได้มีการติดตั้งกล้องเว็บแคมให้อยู่ภายในตู้บ่มเชื้อเพื่อติดต่อกับซอฟต์แวร์ที่ได้พัฒนาขึ้น ซึ่งลักษณะของตู้บ่มแสดงในรูปที่ 3.2 และ ขนาดของตู้บ่มเชื้อแสดงในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.2 ลักษณะของตู้บ่มเชื้อ



รูปที่ 3.3 ขนาดของตู้บ่มเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การออกแบบซอฟต์แวร์

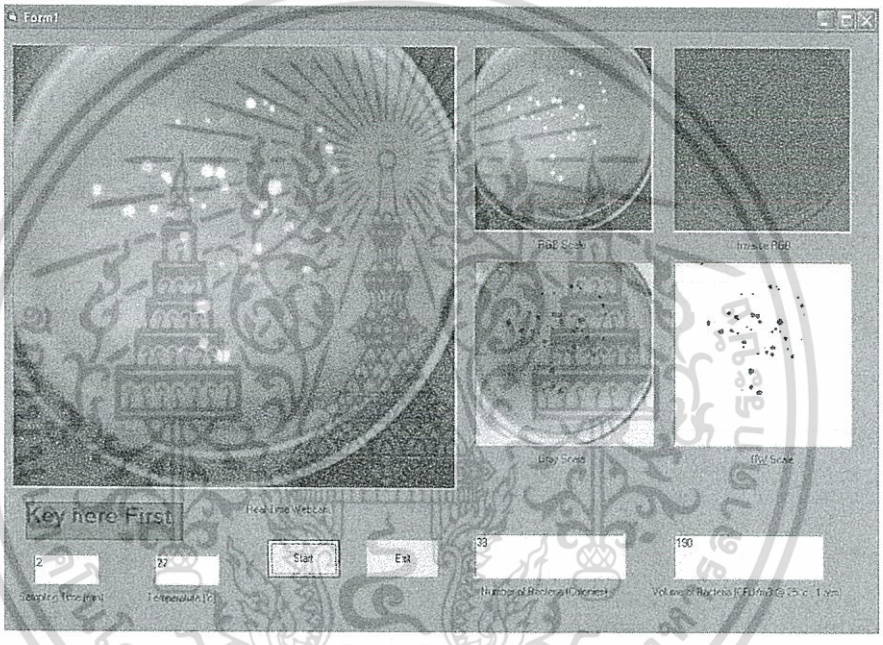
ในการสร้างซอฟต์แวร์ได้มีการศึกษาใน 2 ส่วน คือ

1. การเขียนโปรแกรมโดยใช้วิชวลเบสิก 6.0 เพื่อสร้างหน้าจออินเตอร์เฟสให้มีการใช้งานที่สะดวกและแสดงหลักการการทำงานของการประมวลผลภาพอย่างชัดเจน เข้าใจง่าย

2. หลักการการประมวลผลภาพ เพื่อสร้างซอฟต์แวร์ที่ช่วยในการนับและคำนวณเชื้อแบคทีเรียที่เขียนด้วยโปรแกรมวิชวลเบสิก ได้อย่างรวดเร็วและถูกต้องตามหลักการของการประมวลผลภาพ

3.4.1 การออกแบบหน้าจออินเตอร์เฟสสำหรับเชื่อมต่อและสั่งกระบวนการ

สำหรับหน้าจออินเตอร์เฟสได้พัฒนาขึ้นจากโปรแกรมวิชวลเบสิก 6.0 ดังแสดงในรูปที่ 3.4 และโปรแกรมคำสั่งต่างๆ สามารถศึกษาได้จากภาคผนวก ก โปรแกรมควบคุม

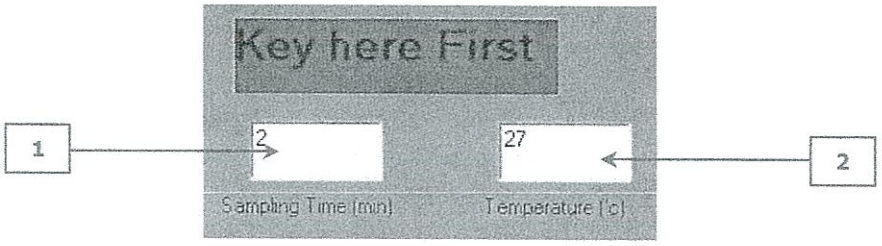


รูปที่ 3.4 หน้าจออินเตอร์เฟส

ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบโปรแกรมหน้าจออินเตอร์เฟสให้มีคุณสมบัติดังนี้

1. มีความหลากหลายในการใช้งาน
   - สามารถปรับเวลาและอุณหภูมิให้สอดคล้องกับแต่ละจานเพาะเชื้อที่ทำการทดลอง
2. ใช้งานและเข้าใจง่าย
   - ควบคุมผ่านคอมพิวเตอร์
   - มีรูปแสดงแสดงสถานะการทำงานของแต่ละขั้นตอน
   - ลดขั้นตอนการทำงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.5 ความหมายของการปรับแต่งการใช้งาน

จากรูปที่ 3.5 สามารถอธิบายความหมายได้ดังนี้

หมายเลข 1 เป็นการกำหนดระยะเวลาของการ sampling อากาศของแต่ละจานเพาะเชื้อ

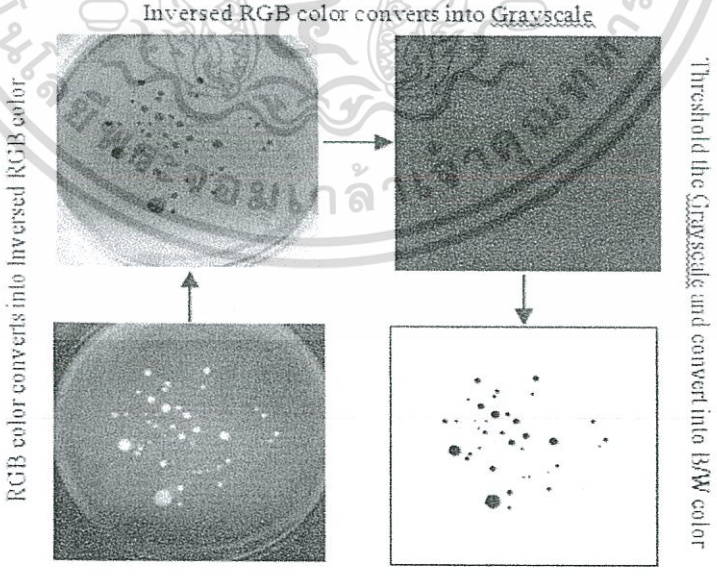
หมายเลข 2 เป็นการกำหนดอุณหภูมิขณะ sampling อากาศของแต่ละจานเพาะเชื้อ

3.4.2 การออกแบบกระบวนการการประมวลผลภาพภายในซอฟต์แวร์

ในการออกแบบซอฟต์แวร์นั้นได้ทำการออกแบบให้ซอฟต์แวร์มีการเชื่อมต่อกับเว็บแคมแบบ real-time เพื่อทำการถ่ายภาพแล้วนำมาประมวลผลโดยใช้กระบวนการการประมวลผลภาพ ซึ่งหลักการที่ใช้มี 2 หลักการหลักๆ คือ

3.4.2.1 Edge Detection

การหาขอบภาพ (Edge Detection) คือ การตรวจสอบว่าเส้นขอบลากผ่านหรือใกล้เคียงกับจุดใด โดยวัดจากการเปลี่ยนแปลงของความเข้มในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับจุดดังกล่าว หรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นการหาเส้นรอบวัตถุที่อยู่ในภาพ เมื่อทราบเส้นรอบวัตถุแล้ว ก็จะสามารถคำนวณหาพื้นที่ (ขนาด) หรือรู้จำชนิดของวัตถุนั้นได้ ซึ่งกระบวนการการหาขอบภาพแสดงในรูปที่ 3.6

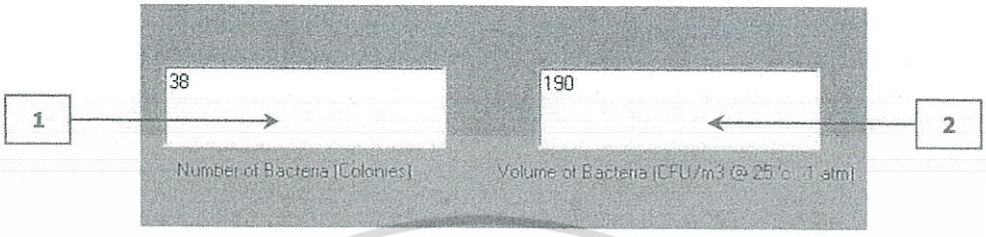


รูปที่ 3.6 ขั้นตอนการทำงานของ Edge Detection

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 Blob Detection

เป็นกระบวนการในการหาจำนวนพื้นที่ ในที่นี้หมายถึงจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ โดยภาพต้นฉบับจะทำในรูปแบบของภาพไบนารี ที่มีพิกเซลของ 'วัตถุ' เป็น (1) หรือ 'พื้นหลัง' เป็น (0) ภาพต้นฉบับนั้นได้นำเข้ามาจากกระบวนการ Edge Detection ซึ่งสามารถดูโปรแกรมได้ในภาคผนวก ก จากกระบวนการ Blob Detection จะได้ผลลัพธ์ของกระบวนการดังหมายเลข 1 ในรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 ความหมายของผลลัพท์

จากรูปที่ 3.7 สามารถอธิบายความหมายได้ดังนี้

- Number of Bacteria คือ จำนวนของเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ
- Volume of Bacteria คือ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในปริมาณอากาศ 1 ลูกบาศก์เมตร

3.4.3 การออกแบบการคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียทางจุลชีววิทยา

จากหมายเลย 2 ที่แสดงอยู่ในรูปที่ 3.7 เป็นผลลัพธ์ในการคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอากาศ ซึ่งหน่วยของผลลัพธ์ดังกล่าวยังคงถูกใช้ในปัจจุบันโดยการนำจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่นับได้มาคำนวณด้วยมือ แต่ซอฟต์แวร์ของชุดตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศนี้สามารถคำนวณได้อัตโนมัติ ทำให้ประหยัดเวลาได้มาก ซึ่งสามารถคำนวนจากสมการที่ 3.1

$$(P_1V_1) / T_1 = (P_2V_2) / T_2 \qquad (3.1)$$

3.5 บทสรุป

ในบทนี้ได้กล่าวถึงรายละเอียดของระบบที่ออกแบบ ทั้งในส่วนของฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอนการทำงานของระบบที่ออกแบบของเว็บแคมและขั้นตอนการออกแบบโปรแกรมควบคุมผ่านหน้าจออินเตอร์เฟส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

การทดสอบและผลการทดสอบ

4.1 บทนำ

เครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ ได้นำมาทดลองในการควบคุมอุณหภูมิและนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

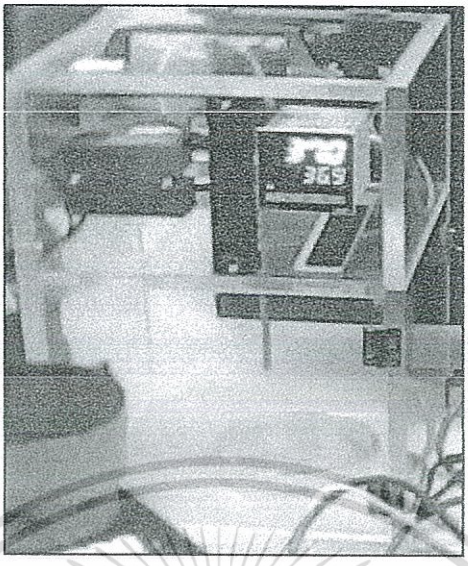
รูปที่ 4.1 จานอาหาเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

2. เก็บตัวอย่างอากาศโดยใช้ Single-Stage Impactor [14] โดยอัตราการไหลที่ใช้คือ 100l/min

รูปที่ 4.2 การเก็บตัวอย่างอากาศโดยใช้ Single-Stage Impactor

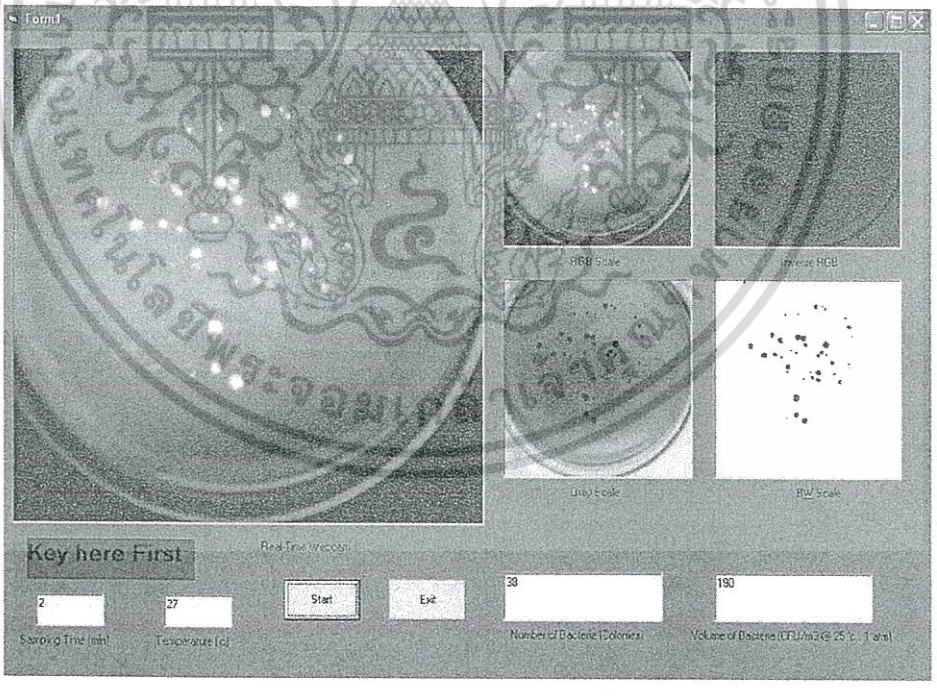
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแล้วนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.3 ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

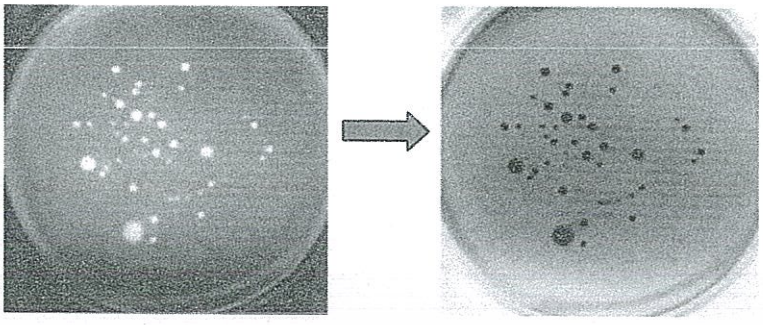
4. เปิดซอฟต์แวร์ที่ได้พัฒนาขึ้น ทำการกรอกข้อมูลที่จำเป็นสำหรับจานเพาะเชื้อนั้นๆ เพื่อให้ซอฟต์แวร์ทำการคำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรียได้อย่างถูกต้อง



รูปที่ 4.4 ซอฟต์แวร์ที่ได้พัฒนาขึ้น

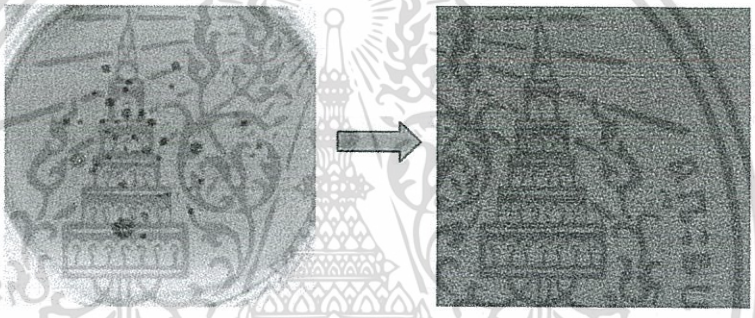
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ขั้นตอนแรกของซอฟต์แวร์ การวิเคราะห์ภาพซึ่งเป็น RGB ซอฟแวร์จะทำการเปลี่ยนค่า RGB เป็น inverse RGB เพื่อเปลี่ยนสีให้ง่ายต่อการวิเคราะห์



รูปที่ 4.5 RGB to inverse RGB

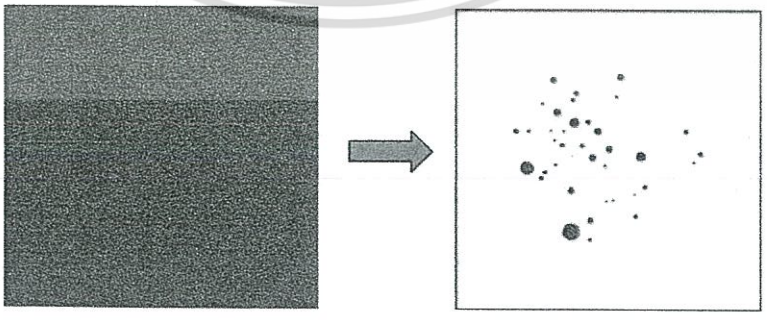
6. ซอฟแวร์จะทำการเปลี่ยนแปลงค่า RGB เป็นสีเทาเพื่อให้อยู่ในพื้นฐานของสีเดียวกัน



รูปที่ 4.6 inverse RGB to Gray Scale

7. หลังจากนั้นทำการ threshold เพื่อหาค่าเฉลี่ยของพิกเซลที่สัมผัสกัน

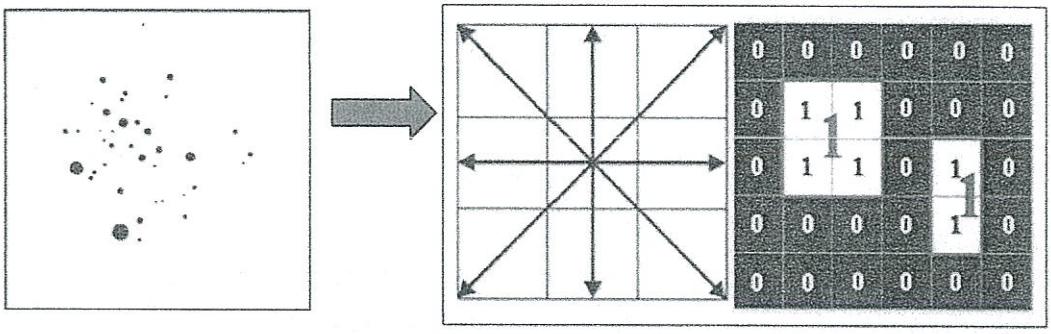
8. ซอฟต์แวร์จะทำการการเปลี่ยนแปลงของระดับสีเทาเป็นภาพขาวดำ(B/W)



รูปที่ 4.7 Gray Scale to B/W

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ซอฟต์แวร์จะทำการนับจำนวนโคโลนีโดยการทำ Blob detection



รูปที่ 4.8 Blob detection

10. ขั้นตอนสุดท้ายซอฟต์แวร์จะนำจำนวนโคโลนีได้นับได้มาทำการคำนวณในรูปของ CFU/m^3 Unit (ที่ 25 องศาเซลเซียส , 1 บรรยากาศ)

4.2 ผลการทดสอบ

จากการที่ได้พัฒนาซอฟต์แวร์ที่ช่วยในการนับเชื้อแบคทีเรียแล้วได้ทำการทดลองโดยการสุ่มตัวอย่างอากาศในสถานที่เดียวกันและแตกต่างที่จำนวนอากาศที่สุ่มตรวจ ซึ่งได้ทำการทดสอบเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศและเปรียบเทียบระหว่างการนับแบบดั้งเดิมคือใช้ผู้เชี่ยวชาญนับด้วยตาเปล่าและการนับด้วยเครื่องตรวจสอบ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ประสิทธิภาพของเครื่องตรวจนับเชื้อในอากาศเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญ

Sample	Manual colonies counting by the experts (colony)	Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer (colony)	Error (%)
Sample 1st (1 minute)	27	25	7.4%
Sample 2nd (2 minutes)	39	38	2.5%
Sample 3rd (3 minutes)	39	37	5.1%
Sample 4th (5 minutes)	47	44	6.3%
Result of average error			5.3%

ซอฟต์แวร์ยังได้คำนวณจำนวนโคโลนีออกมาเป็นหน่วย CFU/m^3 (ที่ 25 องศาเซลเซียส , 1 บรรยากาศ) และคุณภาพของอากาศ อ้างอิงจาก : Singapore Indoor Air Standard (Excellence class เป็น <500 CFU / M^3 และ Good class คือ <1000 CFU/m^3) [15] ดังแสดงในตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลลัพธ์ของเครื่องตรวจนับเชื้อในอากาศ

Sample	(colony)	(CFU/m^3 at 25^oc, 1 atm.)	Singapore Indoor Air Standard
Sample 1^{st} (1 minute)	25	250	Excellence class
Sample 2^{nd} (2 minutes)	38	190	Excellence class
Sample 3^{rd} (3 minutes)	37	111	Excellence class
Sample 4^{th} (5 minutes)	44	88	Excellence class

จากการทดลองจะเห็นว่าผลลัพธ์ที่ได้จากการนับแบบดั้งเดิมโดยผู้เชี่ยวชาญเมื่อเปรียบเทียบผลจากการนับจากเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศมีผลที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเราได้เปรียบเทียบลักษณะการทำงานและลักษณะทางกายภาพของการนับทั้ง 2 แบบไว้ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของการนับด้วยผู้เชี่ยวชาญและเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ

Variable	Manual colonies counting by the experts	Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer
Portable	Difficulty	Easily
Price	High	Low
Convenience	Difficulty	Easily
Materials quality	Good	Fair
Bacteria searching	experts	calculation software
Efficiency	Very good	Good

4.3 บทสรุป

จากผลการทดลองและความแตกต่างของการนับด้วยเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียอากาศเมื่อเปรียบเทียบกับการนับโดยผู้เชี่ยวชาญที่มีความคล้ายคลึงกัน ซึ่งมี Error เพียง 5.3% และเครื่องตรวจนับยังสามารถนับจำนวนโคโลนีและคำนวณออกมาในหน่วยของ CFU/m^3 และยังสามารถพกพาเคลื่อนย้ายไปทดสอบต่างพื้นที่ได้ง่ายและราคาถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
การวิเคราะห์ผลการทดลองและสรุปผล

5.1 บทนำ

ในการวิจัยฉบับนี้เป็นการพัฒนาการนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศ โดยการเพาะเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ เพื่อตรวจหาจำนวนและปริมาณเชื้อแบคทีเรียต่อปริมาณอากาศ โดยได้ออกแบบตู้บ่มเชื้อให้มีขนาดที่สามารถพกพาได้ และได้นำหลักการการประมวลผลภาพมาประยุกต์ใช้ในการนับและคำนวณ ซึ่งได้ทำการทดสอบเพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพและความเที่ยงตรงแม่นยำของเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติ

5.2 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ผลที่ได้จากเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยหลักการการประมวลผลภาพที่ได้พัฒนาขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการนับจำนวนด้วยผู้เชี่ยวชาญ จะเห็นว่ามีค่าความเที่ยงตรงใกล้เคียงกันมาก ดังที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 4 แต่จะเห็นได้ว่าเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศที่พัฒนาขึ้นนี้มีความสะดวกในการใช้มากกว่าการนับด้วยตาเปล่า เนื่องจากโดยปกติแล้วหน่วยที่ใช้วัดปริมาณจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอากาศต่อปริมาตรนั้นจะอยู่ในรูปแบบของ CFU/m^3 ซึ่งเครื่องตรวจนับเชื้อนี้สามารถคำนวณได้อัตโนมัติ ในการถ่ายภาพเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถทำได้ในสภาวะที่ค่อนข้างต้องควบคุมแสง เนื่องจาก webcam นั้นโดยปกติแล้วรูรับแสงจะเปิดกว้างและไม่สามารถปรับได้ ดังนั้นหากไม่ได้ควบคุมแสงอาจจะเกิดได้หลายกรณี อาทิเช่นเมื่อมีแสงมากภาพที่ได้จะสว่างเกินไปไม่สามารถแยกแยะสีที่อยู่ใกล้กันได้ หรือเมื่อมีแสงน้อยเกินไปจะมีกรณีที่ภาพไม่ชัดได้ และในส่วนของการออกแบบตู้บ่มเชื้อ ซึ่งได้ใช้หลักการ PID ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิให้ได้ 37 องศาเซลเซียสได้เป็นอย่างดี สามารถเคลื่อนย้ายไปทำการทดลองต่างสถานที่ได้และราคาถูก

5.3 สรุปผล

จากผลการทดลองและความแตกต่างของการนับด้วยเครื่องตรวจนับเชื้อแบคทีเรียนอากาศเมื่อเปรียบเทียบกับการนับโดยผู้เชี่ยวชาญที่มีค่าความเที่ยงตรงใกล้เคียงกันมากซึ่งมี error เพียง 5.3% และเครื่องตรวจนับยังสามารถนับจำนวนโคโลนีและคำนวณออกมาในหน่วยของ CFU/m^3 และยังสามารถพกพาเคลื่อนย้ายไปทดสอบต่างพื้นที่ได้ง่ายและราคาถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 ข้อเสนอแนะ

จากผลการใช้งานเห็นว่าการพัฒนาในอนาคตนั้นสามารถทำได้หลายส่วนเพื่อนำไปพัฒนาในเชิงพานิช เนื่องวิทยานิพนธ์ฉบับนี้นำเสนอในส่วนของเครื่องต้นแบบของเครื่องนับเชื้อแบคทีเรียในอากาศโดยอาศัยเทคนิคการประมวลผลภาพ

1. ปัจจุบันมีอาหารเพาะเชื้อสำเร็จรูป ทำให้สามารถลดขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความยุ่งยากได้
2. เนื่องจากการใช้งานของกล้องซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับแสง ดังนั้นการควบคุมสภาวะแสงที่คงที่จึงจำเป็นอย่างมากในการทดลอง
3. การทดลองกับเชื้อแบคทีเรียเป็นอันตรายอย่างมาก ดังนั้นผู้ทดลองควรจะทดลองด้วยความระมัดระวัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] National Standard of The People's Republic of China [S]. Food hygiene inspection methods (Microbiology section). Beijing: China Standard Press , 1985.194-196.

[2] SHEN Wei-zheng, WU Ya-chun, ZHAO lie, ZHENG Hui, "Experimental Study for Automatic Colony Counting System Based on Im age Processing" 2010 International Conference on Computer Application and System Modeling (ICCASM 2010).

[3] Mukherjee DP, Pal A, Sarma SE, et al. Bacterial colony counting using distance transform[J]. Int J Biomed Comput. 1995,38(2): 131.

[4] Garcia-Armesto MR, Prieto M. Modern microbiological methods for foods:colony count and dirtect count methods[J]. A review Microbiologia, 1993,9(1): 1.

[5] Pickett DA, Welch OF. Evaluation of the automated Bactalert system for pediatric blood culturing[J]. Am J Clin Pathol, 1995,103(3) 320.

[6] Spadinger I, Palcic B. Cell survival measurements at low doses using an automated image cytometry device[J]. Int J Radiat, 1993, 63(2):183.

[7] Ates, H.; Gerek, O.N. "An Image-Processing Based Automated Bacteria Colony Counter" Computer and Information Sciences, 2009. ISCIS 2009. 24th International Symposium on Digital Object Identifier: 10.1109/ISCIS.2009.5291926 Publication Year: 2009 , Page(s): 18 – 23

[8] Hong Men, Yujie Wu, Xiaoying Li, Zhen Kou, Shanrang Yang, "Counting Method of Heterotrophic Bacteria Based on Image Processing" IEEE Publication Year: 2008 , Page(s): 1238 – 1241.

[9] Xin Chen, Houjin "The Edge Detection Algorithm in RGB space" IEEE conference

[10] Jiamin Liu, Jacob M. White, Ronald M. Summers"AUTOMATED DETECTION OF BLOB STRUCTURES BY HESSIAN ANALYSIS AND OBJECT SCALE" Proceedings of 2010 IEEE 17th International Conference on Image Processing, September 26-29, 2010, Hong Kong

[11] ScottSutton,Ph.D, "Colonies counting " http://www.linkedin.com/

[12] SOP," Counting Bacterial Colonies - Pour Plate Method", http://toolboxes.flexiblelearning.net.au/demosites/series4/412/laboratory/methodsman/mmsopCountBacterialColonies.htm

[13] V.G. Ryckaert, J.E. Claes, J.F. Van Impe "Model-based temperature control in ovens"Journal of Food Engineering, Volume 39, Issue 1, January 1999, Pages 47-58

[14] Chuleewan Thunyasirinon, Pipat Sribenjalux, Paradee Chuaybamroong "Comparison of Six-Satage and Single-Stage Viable Anderson Impactor (N6) for Airborne Microbe sampling" KKU Res J 13 (1) : Jan. - Feb. 2008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[15] www.alsglobal.com/upload/environment/downloads/Asia/Technical_Updates/ALS%20Thailand%20%20Enviromail%20010%20-%20Indoor%20Air%20Quality.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1 ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ลงในการประชุมสัมมนา

[1] Purachai Chongsomchai, Noppadol Maneerat, Ruttikorn Varakulsiripunth, Suwannee Junyapoon

"Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing"

1st International Symposium on Technology for Sustainability of ISTS 2011.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing

Purachai Chongsomchai[1], Noppadol Maneerat[1], Ruttikorn Varakulsiripunth[2], Suwannee Junyapoon[3]

[1]Department of Instrumentation and Control Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok, Thailand 10520

[2]Department of Electronics Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok, Thailand 10520

[3]Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok, Thailand 10520

Email : purachai@live.com

***Abstract*— Nowadays the Conventional colonies counting method has to use an experts for manual counting which is difficult to get the results quickly and accurately when there are a lot of experimental samples. Although the automatic quantity colonies detector has been developed, it is still expensive and necessary to install and use in microbiological laboratory. This paper presents a developed Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer that consists of a small incubator, a temperature controller using PID (Proportional Integral Derivative), a webcam installed in incubator and automatic quantity colonies detection software using Image Processing technology. The developed Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing can count the number of colonies and calculate the colonies quantity in CFU/m^3 (Colony Forming Units per cubic meter) unit. The experimental colonies counting results are similar to the results of the experts. The Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer based on Image Processing is small, portable and cheap.**

***Index Terms*— colonies counting method, image processing, PID, manual counting, incubator**

I. Introduction

At present cleanness is important in many industries such as food, medicine, cosmetic and so on. The air quality control is a part of the cleanliness. Air quality is also a health indicator of employees in industries. Therefore, the colonies counting in the air takes part in the air quality measurement.

The manual counting method known as an ordinary nutrient agar pour method is commonly used to count inoculation colony number [1]. This method is complex, time-consuming, and low efficiency. Therefore, there were many researchers study on the use of computer image processing technology to develop a set of detection system and find an approach of colony identification and rapid counting [2-8].

In this study, the software of automatically colonies counting equipment is developed with Visual Basic 6.0 and use two main algorithms: Edge Detection [9] and Blob Detection algorithms [10] to calculate and count the volume of bacteria in a CFU/m^3 (colony forming unit) unit including a small incubator and a webcam connected with developed image processing software. This method can be applied in field work without taking sampling plates back to the microbiological laboratory.

This paper is structured as follows: section 2 presents the related works. The system structure is presented in section 3. Section 4 describes the experimental results, while section 5 presents conclusion.

II. Related Works

A. Manual Counting Method for airborne microorganisms

Colonies counting method is a basic method to quantify the amount of microorganisms. The conventional method is counting the number of bacteria on agar plates [11, 12] as following steps.

1. Sampling air onto the agar plate.
2. After an appropriate incubation period, examine the plates for colonial growth.
3. Colonies will form on the top of agar as well as in the agar. Those on the top of agar will be larger but all colonies must be counted.
4. Select plates that appear to have between 30 - 300 colonies in and on agar which is the best statistical representation of the number of bacteria in the undiluted sample.
5. Using a light box or a colony counter (if one is available) and marker pen (put a dot above each colony as you count it), count the number of colonies which is having 30 - 300 colonies. This will become easier with practice.
6. Write the numbers of colonies in a note.
7. Assumptions: There are two assumptions that are used:
   - 6.1 All viable cells form colonies.
   - 6.2 Each colony counted is formed from one bacterial cell.
8. The above assumptions do not allow the use of term bacteria/m^3 as a unit. Instead the unit Colony Forming Units/m^3 or CFU/m^3 is used.

B. Image Processing

1b. Edge Detection Algorithm

Edge detection is an algorithm used in most image processing applications to obtain information from the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

frames as a precursor step to feature extraction and object segmentation. This process detects outlines of an object and boundaries between objects and the background in the image.

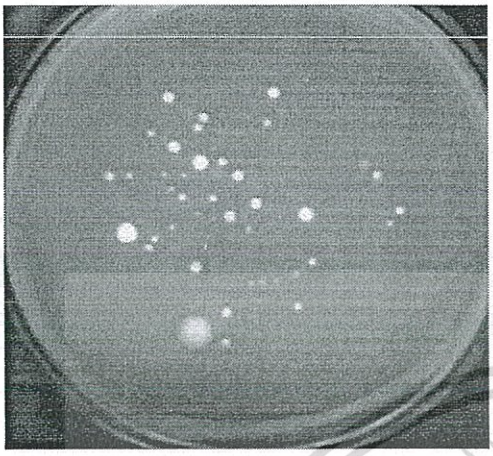


Figure. 1 Colony image

In Fig.1, the format of image captured by webcam is the real color bitmap. In order to describe the characteristics of each pixel in the image, we should use three values of it: R, G, B. However, it is relatively a time consuming task. While grey level image is a data matrix, which represents the intensity value within a certain range. Therefore, RGB color was converted into a Grayscale first and then changed Grayscale into B/W image. The working steps are shown in Fig.2.

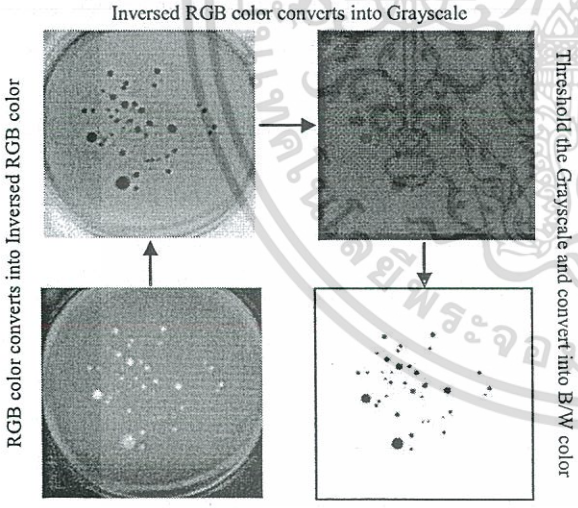


Figure. 2 Steps working of Edge Detection

2b. Blob Detection Algorithm

In typical applications, Blob analysis is widely used. The Blob features usually calculated area and perimeter, Blob shape, and location. This algorithm has been successful used in automated detector.

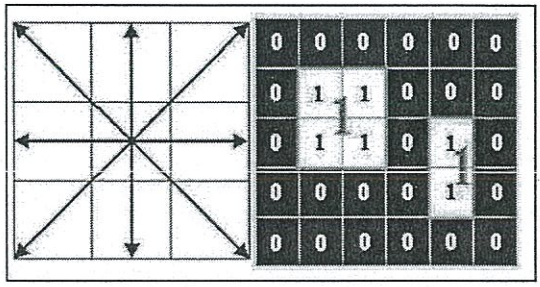


Figure. 3 Blob Detection Method

In Fig. 3, we define touching pixels as adjacent pixels along the vertical or horizontal axis as touching and include diagonally adjacent pixels to detect the same pixels color and analyze a number of colonies. The procedure is concluded in Table. 1.

Table 1. Blob detection algorithm

The input is a binary image (B/W color).
The output is a Blob image and the number of Blob.
The Blob labels (the integer values in the Blob array) are given in the Blob list as the index value. The index value for the first Blob (not necessarily the largest, just the first one encountered in scan order) is 2. All reject Blobs have a label of 1.
Blob Detection is done on a binary image, where pixels are either 'object' (1), or 'background', (0). Theoretically, intensity thresholds may be used with a gray scale image (or some other more complex scheme with a color image or with a group of registered images) to identify pixels as either object or background. For purposes of this Algorithm, we will talk in terms of a binary image as the 'original' image for input into the Blob detection algorithm.

C. Temperature Control

PID controller is a part in the development of Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer to control the temperature at 37°c while incubating an agar plate because bacteria grow well at this temperature. Ryckaert and his assistants proposed the temperature control of an oven cavity is found to be successful. The application also illustrated the use of advanced measurement and control hardware [13]. Block diagram of the PID controller is shown as Fig. 4.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

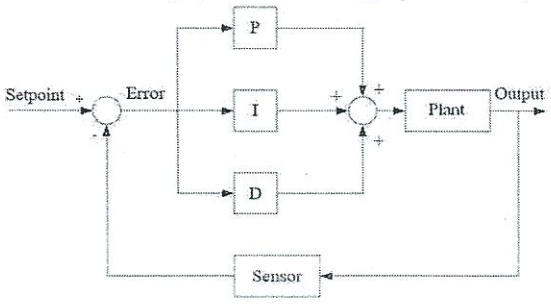


Figure. 4 Block diagram of the PID controller

The PID controller consists of 3 actions:

1c. Proportional Control Action (P-Action)

The output of P-Action is proportional to the error or a change of data. The output and error can be obtained by (1) and (2).

$$\text{Output} = (\text{Error} \times 100) / (\text{Time Delay}) \quad (1)$$

$$\text{Error} = (\text{Set Point}) - (\text{Measured Value}) \quad (2)$$

2c. Integral Control Action (I-Action)

The I-Action is used to eliminate an offset value so that the temperature goes to the Set Point. The output depends on the initial integral time. If the integral time is set to a low value, the system will reach to the Set Point rapidly with high overshoot. If the integral time is set to a high value, the system will reach to the Set Point slowly with low overshoot.

3c. Derivative Control Action (D-Action)

When the system has a disturbance, D-Action causes the system reach to the Set Point rapidly.

III. System Structure of Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer

Fig. 5 explains the principle of work and overview of the system. The system is divided into two main sections of the incubator and the computer.

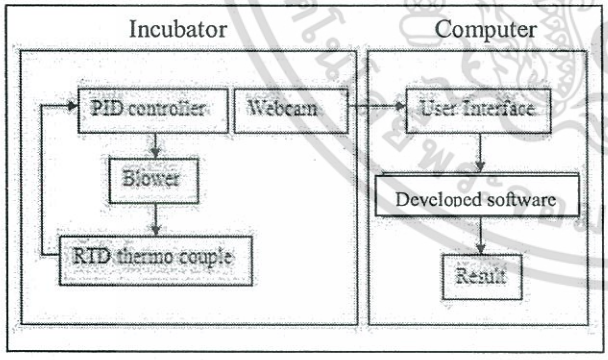


Figure. 5 Overview of the Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer system

Fig. 6 shows the incubator section, due the PID controller was used to control a Temperature to its stability. Data feedback was sent to input of PID controller by RTD (Resistor Temperature Detector).

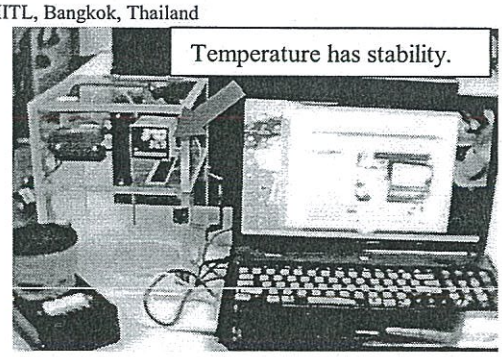


Figure. 6 Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer

The process of Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer has procedure as follows:

1. Prepare the agar plate.
2. Sampling air onto the agar plate using Single-Stage Impactor [14] for required time at air flow rate 100l/min.
3. Close plate and put it in the developed incubator for incubation at 37°c.
4. Open the developed software and click start. The webcam will capture every 60 minutes.
5. First step the software analyses the captured which is RGB color with Edge Detection. The software changes RGB color into Inverse RGB color for obviousness.
6. The software changes Inverse RGB color into Grayscale for the same fundamental color.
7. The software is thresholding Grayscale to average color of touching pixels.
8. The software changes threshold of Grayscale into B/W color.
9. The software uses Blob detection for colonies counting.
10. The last step the software uses the number of colonies to calculate the CFU/m^3 unit (at 25°C, 1 atm.) as shown in Fig.7.

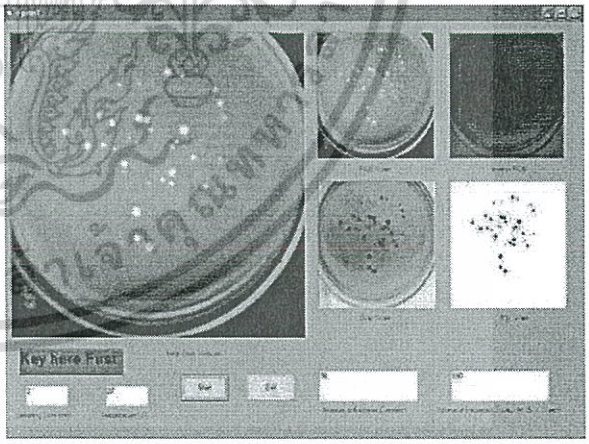


Figure. 7 The user interface of developed software

When the process is proceeding, the bacteria is on the agar plate is incubated. So the colonies counting using the analyzer is easier than the manual counting method because the manual counting has to take the plate outside the incubator for colonies counting but the analyzer is needless to take the plate out.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IV. RESULTS

We developed software to help colonies counting of bacteria then sampling the air in the same location and difference time samples. Therefore, we tested the Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer and compared the manual counting by the experts to measure the efficiency of error. The experimental results are shown in Table 2.

Table 2. Efficiency of Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer compare with The Experts

Sample	Manual colonies counting by the experts (colony)	Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer (colony)	Error (%)
Sample 1st (1 minute)	27	25	7.4%
Sample 2nd (2 minutes)	39	38	2.5%
Sample 3rd (3 minutes)	39	37	5.1%
Sample 4th (5 minutes)	47	44	6.3%
Result of average error			5.3%

The software of Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer also calculated the number of colonies into Indoor Air Quality refer: Singapore Indoor Air Standard (Excellence class is <500 CFU/ m^3 and Good class is < 1000 CFU/m^3)[15] as shown in Table 3.

Table 3. Results of the Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer

Sample	(colony)	(CFU/m^3 at 25°c, 1 atm.)	Singapore Indoor Air Standard
Sample 1st (1 minute)	25	250	Excellence class
Sample 2nd (2 minutes)	38	190	Excellence class
Sample 3rd (3 minutes)	37	111	Excellence class
Sample 4th (5 minutes)	44	88	Excellence class

From the experiment indicated the results of manual counting by the experts were consistent with those of Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer with no different significance. Comparison between colonies counting by the experts and Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzers is shown in Table 4.

Table 4. Comparison between colonies counting by the experts and Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer

Variable	Manual colonies counting by the experts	Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer
Portable	Difficulty	Easily
Price	High	Low
Convenience	Difficulty	Easily
Materials quality	Good	Fair
Bacteria searching	experts	calculation software
Efficiency	Very good	Good

V. CONCLUSIONS

From the results and the differences of the bacteria counted, the Semi-Continuous Airborne Bacteria Analyzer can use for colonies counting. An efficiency of this equipment compared with the manual counting by the experts were similar with average error of 5.3%. And the analyzer can count the number of colonies and calculate the Colony Forming Units/m^3. The analyzer is portable and cheap.

VI. REFERENCES

[1] National Standard of The People's Republic of China [S]. Food hygiene inspection methods (Microbiology section). Beijing: China Standard Press , 1985.194-196.

[2] SHEN Wei-zheng, WU Ya-chun, ZHAO lie, ZHENG Hui, "Experimental Study for Automatic Colony Counting System Based on Im age Processing" 2010 International Conference on Computer Application and System Modeling (ICCASM 2010).

[3] Mukherjee DP, Pal A, Sarma SE, et al. Bacterial colony counting using distance transform[J]. Int J Biomed Comput. 1995,38(2): 131.

[4] Garcia-Armesto MR, Prieto M. Modern microbiological methods for foods:colony count and dirtect count methods[J]. A review Microbiologia, 1993,9(1): 1.

[5] Pickett DA, Welch OF. Evaluation of the automated Bactalert system for pediatric blood culturing[J]. Am J Clin Pathol, 1995,103(3) 320.

[6] Spadinger I, Palcic B. Cell survival measurements at low doses using an automated image cytometry device[J]. Int J Radiat, 1993, 63(2): 183.

[7] Ates, H.; Gerek, O.N. "An Image-Processing Based Automated Bacteria Colony Counter" Computer and Information Sciences, 2009. ISCIS 2009. 24th International Symposium on Digital Object Identifier: 10.1109/ISCIS.2009.5291926 Publication Year: 2009 , Page(s): 18 – 23

[8] Hong Men, Yujie Wu, Xiaoying Li, Zhen Kou, Shanrang Yang, "Counting Method of Heterotrophic Bacteria Based on Image Processing" IEEE Publication Year: 2008 , Page(s): 1238 – 1241.

[9] Xin Chen, Houjin "The Edge Detection Algorithm in RGB space" IEEE conference

[10] Jiamin Liu, Jacob M. White, Ronald M. Summers"AUTOMATED DETECTION OF BLOB STRUCTURES BY HESSIAN ANALYSIS AND OBJECT SCALE" Proceedings of 2010 IEEE 17th International Conference on Image Processing, September 26-29, 2010, Hong Kong

[11] ScottSutton,Ph.D, "Colonies counting " http://www.linkedin.com/

[12] SOP," Counting Bacterial Colonies - Pour Plate Method", http://toolboxes.flexiblelearning.net.au/demosites/series4/412/laboratory/methodsman/mmsopCountBacterialColonies.htm

[13] V.G. Ryckaert, J.E. Claes, J.F. Van Impe "Model-based temperature control in ovens"Journal of Food Engineering, Volume 39, Issue 1, January 1999, Pages 47-58

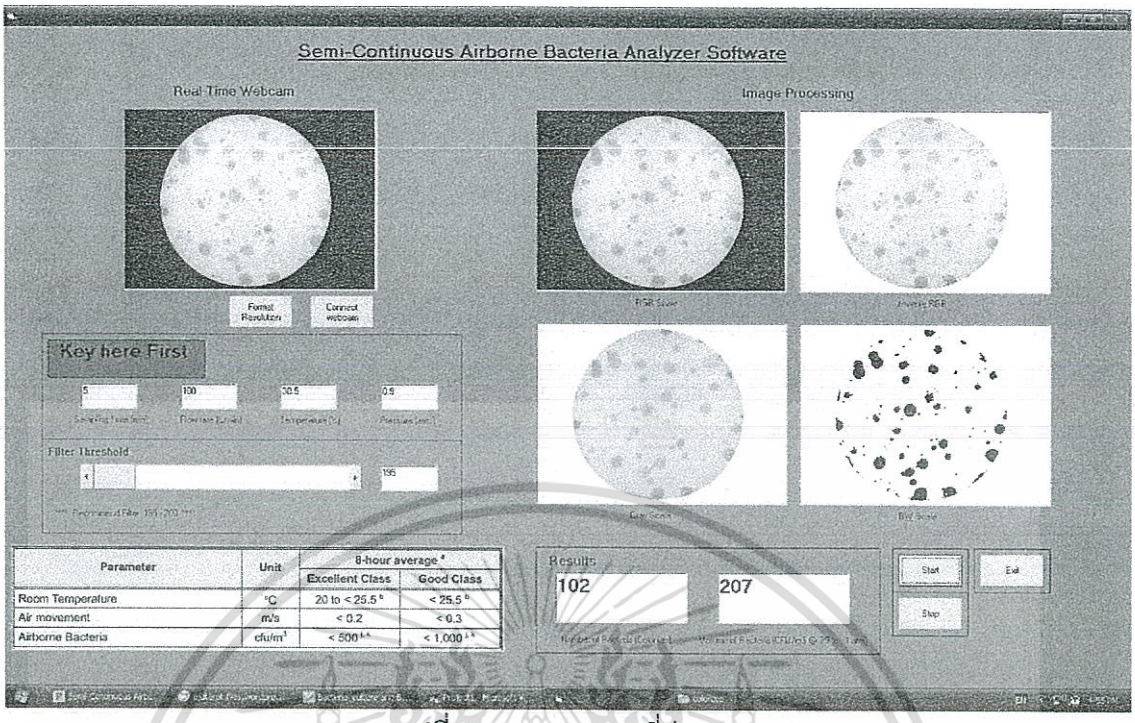
[14] Chuleewan Thunyasirinon, Pipat Sribenjalux, Paradee Chuaybamroong "Comparison of Six-Satage and Single-Stage Viable Anderson Impactor (N6) for Airborne Microbe sampling" KKU Res J 13 (1) : Jan. - Feb. 2008

[15] www.alsglobal.com/upload/environment/downloads/Asia/Technical_Updates/ALS%20Thailand%20%20Enviromail%20010%20-%20Indoor%20Air%20Quality.pdf

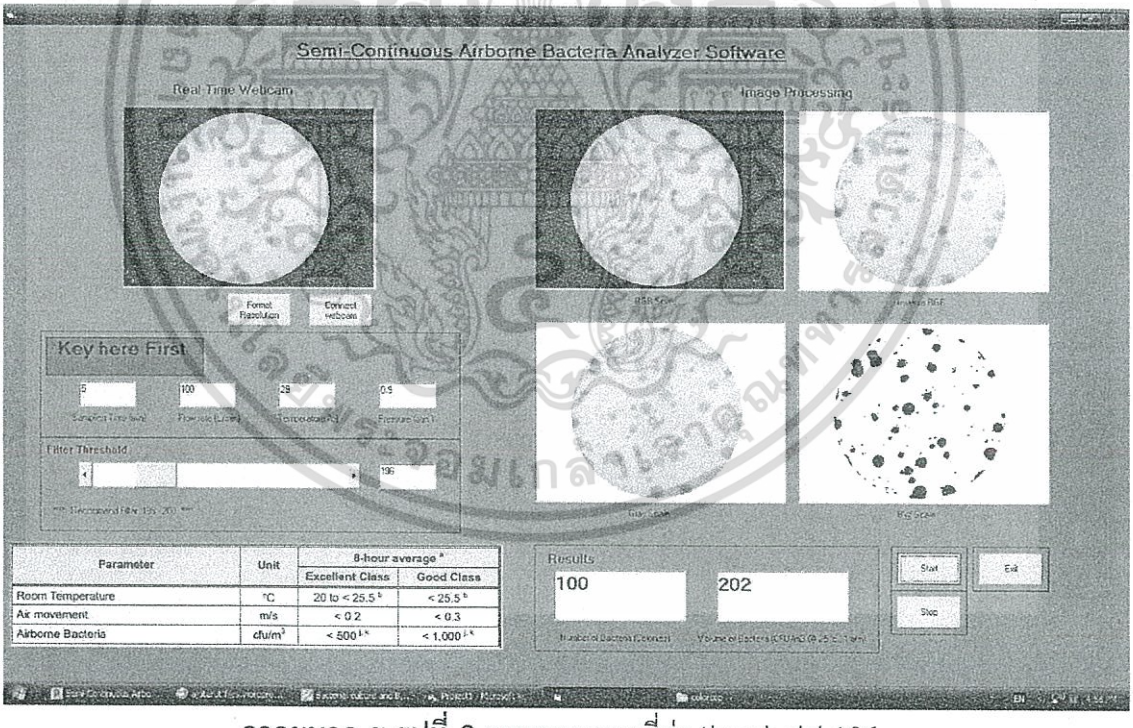
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ผลการทดลองเพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

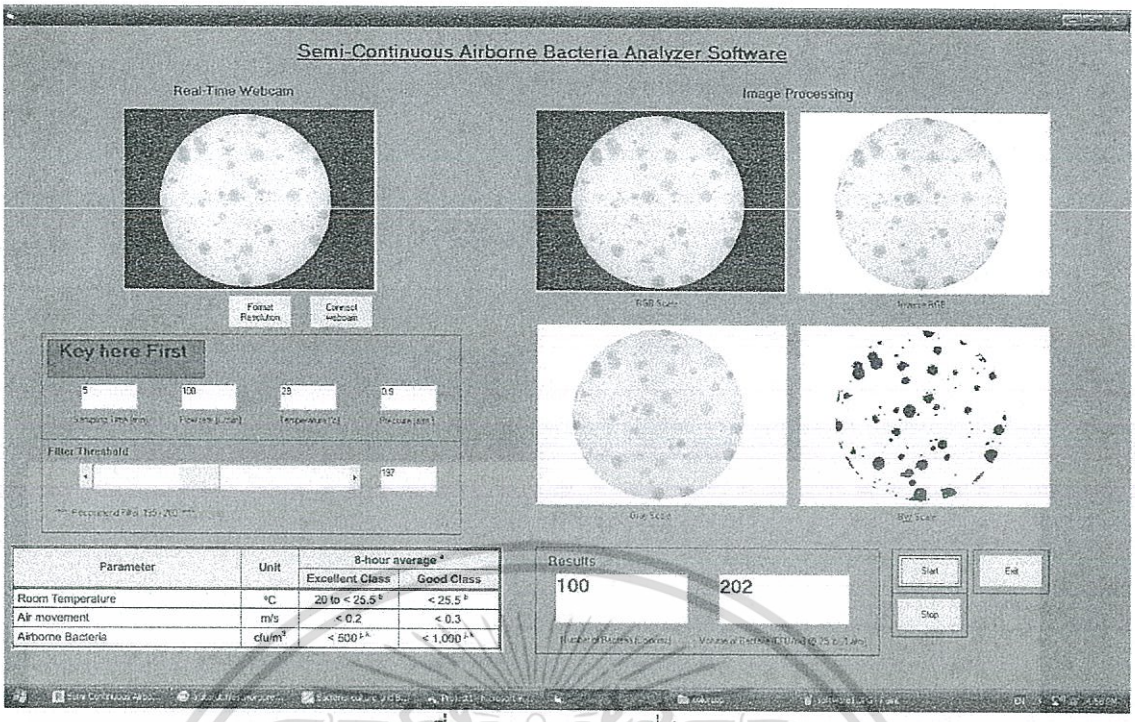


ภาคผนวก ข รูปที่ 1 ผลการทดลองที่ค่า threshold 195

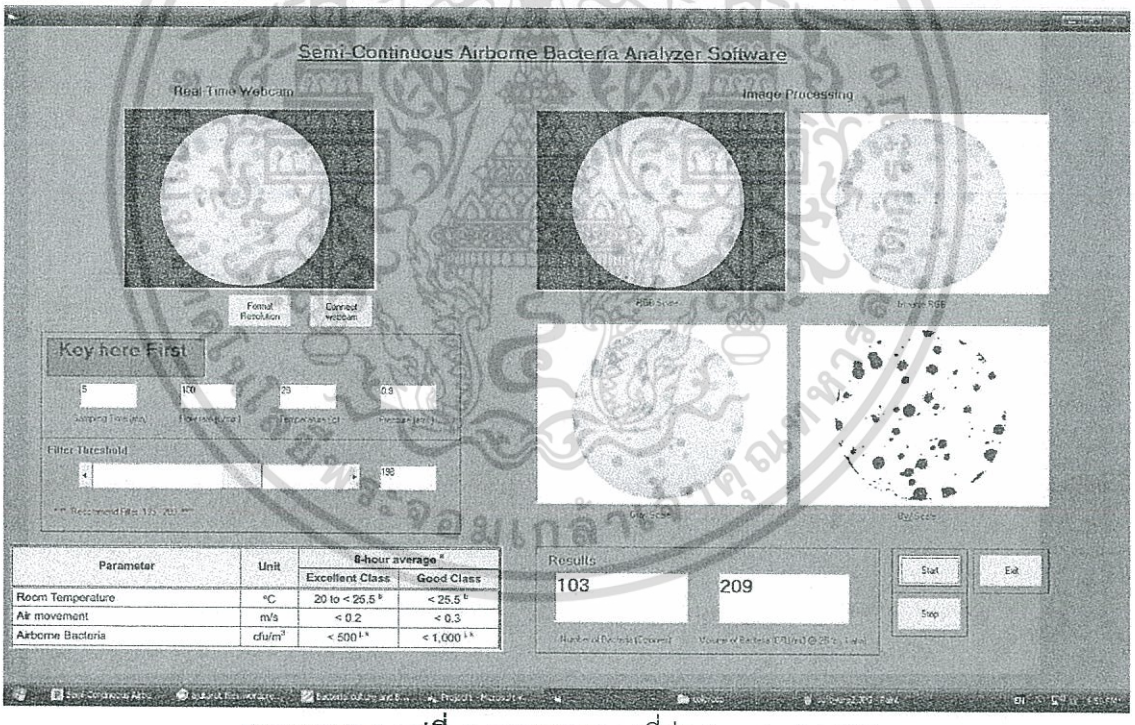


ภาคผนวก ข รูปที่ 2 ผลการทดลองที่ค่า threshold 196

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

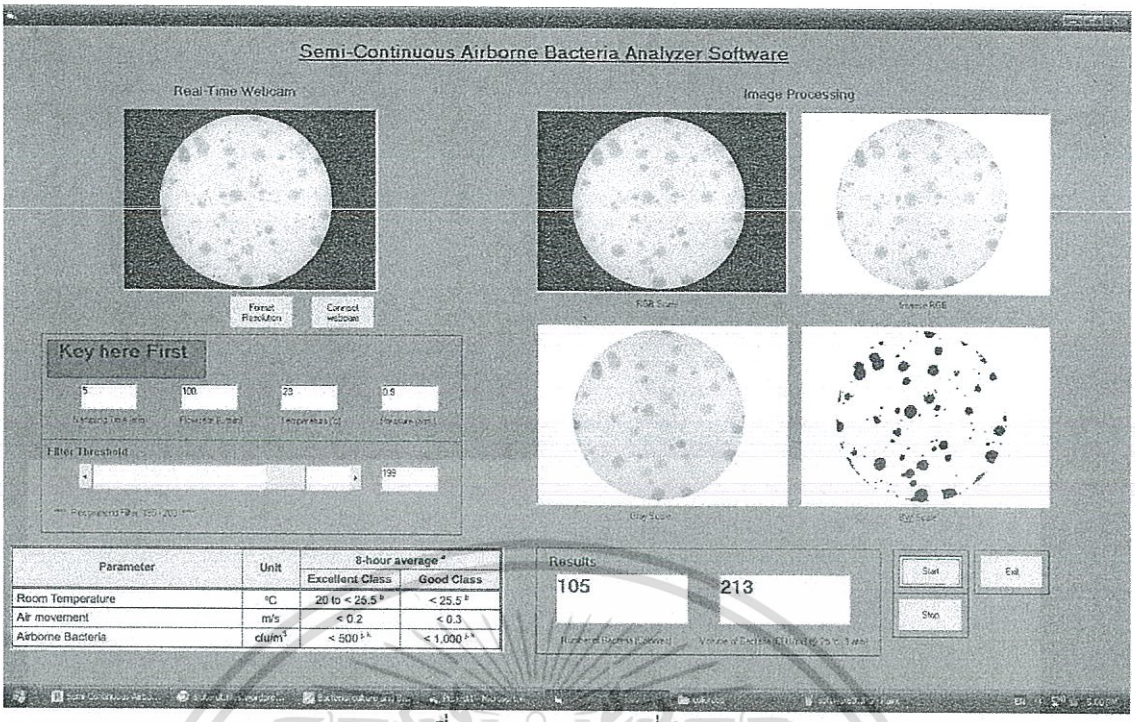


ภาคผนวก ข รูปที่ 3 ผลการทดลองที่ค่า threshold 197

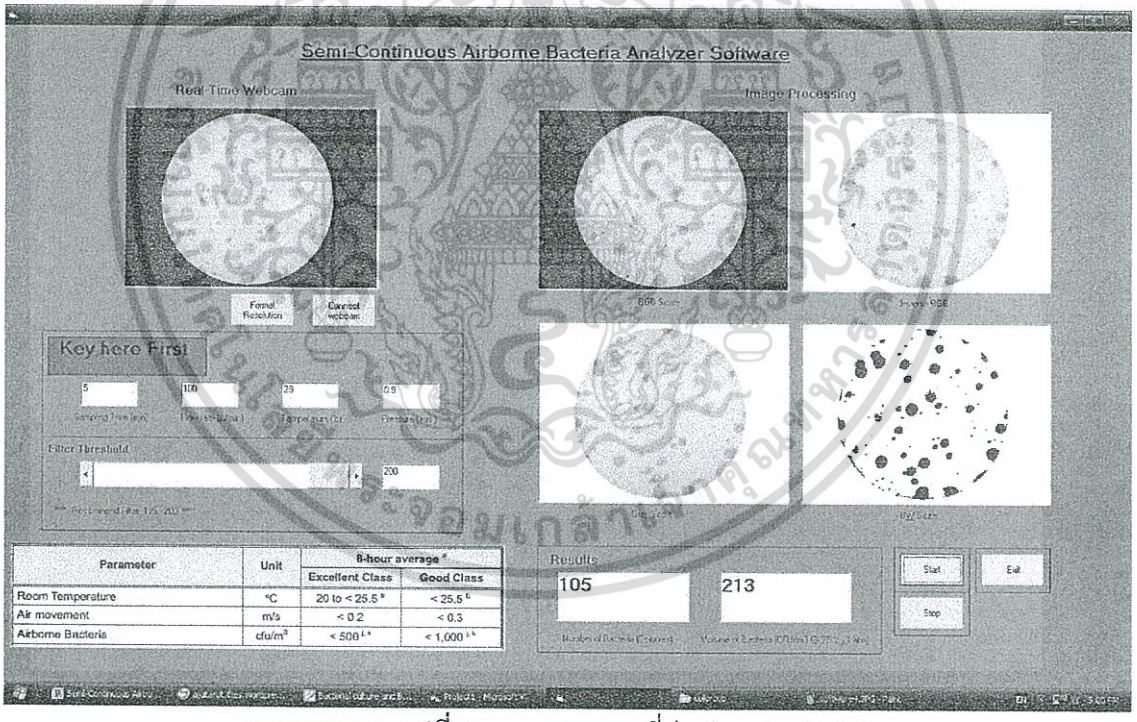


ภาคผนวก ข รูปที่ 4 ผลการทดลองที่ค่า threshold 198

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข รูปที่ 5 ผลการทดลองที่ค่า threshold 199



ภาคผนวก ข รูปที่ 6 ผลการทดลองที่ค่า threshold 200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
โปรแกรมควบคุมภาษาวิชวลเบสิค 6.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Const ws_visible = &H10000000

Const ws_child = &H40000000

Const WM_USER = 1024

Const WM_CAP_EDIT_COPY = WM_USER + 30

Const wm_cap_driver_connect = WM_USER + 10

Const wm_cap_set_preview = WM_USER + 50

Const wm_cap_set_overlay = WM_USER + 51

Const WM_CAP_SET_PREVIEWRATE = WM_USER + 52

Const WM_CAP_SEQUENCE = WM_USER + 62

Const WM_CAP_SINGLE_FRAME_OPEN = WM_USER + 70

Const WM_CAP_SINGLE_FRAME_CLOSE = WM_USER + 71

Const WM_CAP_SINGLE_FRAME = WM_USER + 72

Const DRV_USER = &H4000

Const DVM_DIALOG = DRV_USER + 100

Const PREVIEWRATE = 30


Private Declare Function GetPixel Lib "gdi32" (ByVal hdc As Long, ByVal x As Long,
ByVal y As Long) As Long

Private Declare Function SetPixel Lib "gdi32" _

    (ByVal hdc As Long, ByVal x As Long, _

     ByVal y As Long, ByVal crColor As Long) As Long

Private tmpPic As Picture

Private Type longcolor
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
    Value As Long
End Type
Private Type RGBcolors
    Red As Byte
    Green As Byte
    Blue As Byte
    Dummy As Byte
End Type
Dim time As Integer
Dim P As Integer
Private Declare Function SendMessage Lib "user32" _
    Alias "SendMessageA" (ByVal hWnd As Long, _
            ByVal wMsg As Long, _
            ByVal wParam As Long, _
            ByVal lParam As Long) As Long
Private Declare Function capCreateCaptureWindow Lib "avicap32.dll" _
    Alias "capCreateCaptureWindowA" (ByVal a As String, _
            ByVal b As Long, _
            ByVal c As Integer, _
            ByVal d As Integer, _
            ByVal e As Integer, _
            ByVal f As Integer, _
            ByVal g As Long, _
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
                ByVal h As Integer) As Long
Dim hwndc As Long
Dim pictureindex As Integer
Dim temp As String
Private Sub Command1_Click()
  Unload Me
End Sub
Private Sub Command2_Click()
Timer1.Enabled = True
Picture5.BackColor = vbWhite
Picture4.BackColor = vbWhite
End Sub
Private Sub Form_Load()
On Error GoTo handler:
  hwndc = capCreateCaptureWindow("CaptureWindow", _
                    ws_child Or ws_visible, _
                    0, _
                    0, _
                    1024, _
                    1024, _
                    Picture1.hWnd, _ 0)
  If (hwndc <> 0) Then
      temp = SendMessage(hwndc, wm_cap_driver_connect, 0, 0)
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
    temp = SendMessage(hwndc, wm_cap_set_preview, 1, 0)
    temp = SendMessage(hwndc, WM_CAP_SET_PREVIEWRATE, PREVIEWRATE, 0)
    temp = SendMessage(Me.hWnd, WM_CAP_EDIT_COPY, 1, 0)
    Picture1.Picture = Clipboard.GetData
  Else
    MsgBox "Unable to capture video.", vbCritical
  End If
Exit Sub
handler:
End
End Sub
Private Sub Capture()
Dim bRet As Boolean
   Dim szTest As String
   szTest = App.Path & "\scCapture.bmp" & Chr$(0)
   bRet = SendMessage(hwndc, WM_CAP_EDIT_COPY, 0&, 0&)

   If bRet Then
      DoEvents
      If Clipboard.GetFormat(vbCFBitmap) Then
         Picture1.Picture = Clipboard.GetData(vbCFBitmap)
         SavePicture Picture1.Image, szTest
         DoEvents
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
        Clipboard.Clear
    End If
        Picture5.Refresh
        Picture2.Picture = LoadPicture(App.Path & "\scCapture.bmp")
        Picture2.ScaleMode = 3
  Picture2.AutoRedraw = True
  Picture2.PaintPicture Picture2.Picture, _
    0, 0, 250, 220, _
    0, 0, Picture2.Picture.Width / 26.46, Picture2.Picture.Height / 26.46
  Picture2 = Picture2.Image
  End If
End Sub
Private Sub Capture1()
 Dim rgb5 As Long, hdc5 As Long, hdc6 As Long, rgb6 As Long
 Dim i As Long, j As Long, x As Long, y As Long, tx As Long, ty As Long, b As Long, c As
Long
 Dim startX As Long, startY As Long, endX As Long, endY As Long, sizeX As Long, sizeY
As Long
 Dim countColor As Integer
 Dim bBlue As Long, bRed As Long, bGreen As Long
 Dim a As Long

 For i = 0 To Picture2.ScaleWidth - 1
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
For j = 0 To Picture2.ScaleHeight - 1
    hdc5 = Picture2.hdc
    rgb5 = GetPixel(hdc5, i, j)
    bBlue = Blue(rgb5)
    bRed = Red(rgb5)
    bGreen = Green(rgb5)
    bBlue = 255 - bBlue
    bRed = 255 - bRed
    bGreen = 255 - bGreen
    SetPixel Picture5.hdc, i, j, RGB(bRed / 3, bGreen / 3, bBlue / 3)
    a = (0.299 * bRed + 0.587 * bGreen + 0.114 * bBlue)
    rgb5 = RGB(a, a, a)
    SetPixel Picture3.hdc, i, j, RGB(a, a, a)
    If a > 100 Then
    a = 255
    End If
    If a <= 100 Then
    a = 0
    End If
    SetPixel Picture4.hdc, i, j, RGB(a, a, a)
    Next j
Next i
End Sub
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Private Sub Capture3()

Dim rgb5 As Long

 Dim hdc5 As Long, i As Long, j As Long, x As Long, y As Long, tx As Long, ty As Long

 Dim startX As Long, startY As Long, endX As Long, endY As Long, sizeX As Long, sizeY
As Long

 Dim countColor As Integer

 Dim a As Integer, b As Integer, c As Integer, Result As Integer

 Dim e As Integer

 hdc5 = Picture4.hdc

 Dim masks(1 To 1024, 1 To 1024) As Boolean

Dim queueTravellingX(10000) As Integer

Dim queueTravellingY(10000) As Integer

Dim indexQueue As Integer

 sizeX = 200

 sizeY = 200

 For i = 1 To 200

   For j = 1 To 200

       If masks(i, j) = False Then

           masks(i, j) = True

           rgb5 = GetPixel(hdc5, i, j)

           If rgb5 = vbBlack Then

               countColor = countColor + 1

               indexQueue = indexQueue + 1
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
    queueTravellingX(indexQueue) = i
    queueTravellingY(indexQueue) = j
End If

Do While indexQueue > 0
    tx = queueTravellingX(indexQueue)
    ty = queueTravellingY(indexQueue)
    indexQueue = indexQueue - 1
    startX = tx - 1
    startY = ty - 1
    endX = tx + 1
    endY = ty + 1
    If tx = 1 Then
        startX = 1
    End If
    If tx = sizeX Then
        endX = sizeX
    End If
    If ty = 1 Then
        startY = 1
    End If
    If tx = sizeY Then
        endY = sizeY
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
            End If
            For x = startX To endX
              For y = startY To endY
                If x = tx And y = ty Then
                Else
                  If masks(x, y) = False Then
                    masks(x, y) = True
                    rgb5 = GetPixel(hdc5, x, y)
                    If rgb5 = vbBlack Then
                      indexQueue = indexQueue + 1
                      queueTravellingX(indexQueue) = x
                      queueTravellingY(indexQueue) = y
                    End If
                  End If
                End If
              Next y
            Next x
          Loop
        End If
      Next j
    Next i
    Text1.Text = countColor
    a = Text3.Text
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
    b = Text4.Text
    a = a * 28.92
    b = b + 273.15
    If a > 0 Then
    e = b / a
    End If
    Result = countColor * e
    Text2.Text = Result
End Sub
Private Sub Timer1_Timer()
time = time + 1
If time >= 3 Then
   time = 1
      Call Capture
            time = 2
               Call Capture1
                  time = 0
                     Call Capture3
   End If
End Sub
Private Function Red(ByVal mlColor As Long) As Long
  Red = mlColor And &HFF
End Function
```

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
Private Function Green(ByVal mlColor As Long) As Long
  Green = (mlColor \ &H100) And &HFF
End Function
Private Function Blue(ByVal mlColor As Long) As Long
  Blue = (mlColor \ &H10000) And &HFF
End Function
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายปุระชัย จงสมชัย
วัน เดือน ปีเกิด	25 พฤษภาคม 2531 ที่สกลนคร
ที่อยู่	76/7 ถ.สืบศิริ ซ.สืบศิริ 3 ต.ในเมือง อ.เมือง นครราชสีมา 30000
ประวัติการศึกษา	2552 วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมระบบควบคุม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้