

ระบบตรวจวัดการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความ  
เข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี

FLUORESCENT IMAGING SYSTEM FOR  
CONCENTRATION MEASUREMENT OF RHODAMINE 6G  
SOLUTION



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

ระบบตรวจวัดการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความ  
เข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี  
FLUORESCENT IMAGING SYSTEM FOR  
CONCENTRATION MEASUREMENT OF RHODAMINE 6G  
SOLUTION



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....**149337**  
วัน, เดือน, ปี.....**12 ก.พ. 2561**

**12 881867**

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)  
ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FLUORESCENT IMAGING SYSTEM FOR  
CONCENTRATION MEASUREMENT OF RHODAMINE 6G  
SOLUTION



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (APPLIED PHYSICS)  
DEPARTMENT OF PHYSICS, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

ระบบตรวจวัดการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี

Fluorescent Imaging System for Concentration Measurement of Rhodamine 6G Solution

ชื่อนักศึกษา

นางสาวชนากานต์ ผ่องสีใส รหัสนักศึกษา 56051126  
นายชยธร ลีลารุ่งฤดี รหัสนักศึกษา 56051127  
นายณัฐพล พลเจริญ รหัสนักศึกษา 56051137

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)

ภาควิชา

ฟิสิกส์

ปีการศึกษา

2559


อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.ภัทธรียา ดำรงค์ศักดิ์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร.ภาณุพล โขลอนกระโทก

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตฟิสิกส์ประยุกต์ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. กฤษกร โส้เจริญรัตน์ ประธานกรรมการ	
รศ.สาทร่าย เล็กชะอุ่ม กรรมการ	
ดร.พิชานันท์ ธีเศรษฐ์โสภณ กรรมการ	
ผศ.ดร.ภัทธรียา ดำรงค์ศักดิ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	
ดร.ภาณุพล โขลอนกระโทก กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

ลิขสิทธิของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ระบบตรวจวัดการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชนากานต์ ผ่องสีใส	รหัสนักศึกษา 56051126
	นายชยธร ลีสารุ่งฤดี	รหัสนักศึกษา 56051127
	นายณัฐพล พลเจริญ	รหัสนักศึกษา 56051137
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ฟิสิกส์ประยุกต์)	
ภาควิชา	ฟิสิกส์	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)	
ปีการศึกษา	2559	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ภัทริยา ดำรงค์ศักดิ์	
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.ภาณุพล ไชลนกระโทก	

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้จัดทำขึ้นเพื่อพัฒนาเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ขนาดกระทัดรัดที่ถูกออกแบบและสร้างขึ้นเพื่อวัดความเข้มข้นสารสีย้อมโรดามีน 6จี ในสารละลายเอทานอล ระบบวัดใช้แหล่งกำเนิดแสงแอลอีดีสีเขียวในการกระตุ้นให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ แอลอีดีสีเขียวที่ใช้มีพีการเปล่งที่ 500-560 นาโนเมตร ภาพถ่ายฟลูออเรสเซนซ์ถูกตรวจวัดด้วยกล้องดิจิทัล 3 ชนิด ได้แก่ กล้องจากโทรศัพท์ไอโฟน 5s กล้อง Digital microscope และกล้อง Web cam ความสามารถของระบบในการตรวจวัดสัญญาณแสงฟลูออเรสเซนซ์จากสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้นระหว่าง  $1 \times 10^{-3}$  M จนถึง  $9 \times 10^{-7}$  M จากกล้องแต่ละตัวได้ถูกวิเคราะห์ กระบวนการในการวิเคราะห์เพื่อหาช่วงที่เหมาะสมของการวัดความเข้มข้นของสารละลายที่ได้ถูกนำเสนอ

คำสำคัญ : เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ , ฟลูออเรสเซนซ์ , โรดามีน 6จี

<b>Title</b>	Fluorescent Imaging System for Concentration Measurement of Rhodamine 6G Solution	
<b>Students</b>	Miss Chanagan Pongseesai	Student ID 56051126
	Mr. Chayatorn Leelarungruhdee	Student ID 56051127
	Mr. Nuttapol Polcharoen	Student ID 56051137
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Applied Physics)	
<b>Department</b>	Physics	
<b>Faculty</b>	Science	
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
<b>Academic Year</b>	2016	
<b>Advisor</b>	Asst.Prof.Dr.Pattareeya Kittidachachan	
<b>Co Advisor</b>	Dr.Bhanupol Klongratog	

### Abstract

This special project aimed to develop a compact fluorometer, which is designed and constructed to measure Rhodamine 6G concentration in ethanol solution. The system utilizes green light emitting diode (LED) for fluorescence excitation. The LED has peak emission range of 500-560 nm. The fluorescence images were captured by three digital cameras i.e. an iPhone 5s camera, a digital microscope, and a webcam camera. The system's ability to detect fluorescence signal for Rhodamine 6G between  $1 \times 10^{-3}$  M to  $9 \times 10^{-7}$  M from each camera was analyzed. The analysis procedure to determine the proper range for measurement of Rhodamine 6G concentration is proposed.

Keywords: Fluorometer , Fluorescent , Rhodamine 6G

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษ เรื่อง ระบบตรวจวัดการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลดังกล่าว ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ภัทรียา ดำรงค์ศักดิ์ อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ให้ความรู้ คำปรึกษาตลอดจนคำแนะนำ และคอยช่วยเหลือและแก้ไขปัญหาต่างๆ ในระหว่างทำการทดลอง รวมทั้งตรวจและแก้ไขโครงการพิเศษเล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.ภาณุพล โขลอนกระโทก อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่คอยให้คำปรึกษางานด้านซอฟต์แวร์ต่างๆ ตลอดจนคำปรึกษา และช่วยเหลือแก้ไข ปัญหาในอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำการทดลอง รวมทั้งตรวจและแก้ไขโครงการพิเศษเล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.กวางปัญญา สุวรรณสุขโข อาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยให้คำปรึกษาโครงการพิเศษในการออกแบบชุดการทดลอง และให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือต่างๆ

ขอขอบคุณ คุณเอกชัย รัมมะรัตน์ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจช่วยเหลือตลอดจนคำปรึกษา คำแนะนำ และแก้ไขปัญหาต่างๆ จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณพระคุณบิดา มารดา ที่ให้คำปรึกษา และเป็นแรงผลักดันในทุกๆด้าน ตลอดระยะเวลาในการทำโครงการพิเศษ

นางสาวชนากานต์ ผ่องสีใส

นายชยธร ลีลารุ่งฤดี

นายณัฐพล พลเจริญ

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย</b>	<b>5</b>
2.1 สารเรืองแสง (Fluorescent Dyes)	5
2.1.1 โรดามีน 6 จี	6
2.2 กลไกการเรืองแสงของสารเรืองแสง	7
2.2.1 การดูดกลืนแสง (Absorbance)	7
2.2.2 การเปล่งแสง (Luminescence)	8
2.2.3 กลไกการเปล่งแสงของสารเรืองแสง	9
2.3 เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer)	10
2.3.1 องค์ประกอบภายในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์	11
2.4 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer)	13
2.4.1 องค์ประกอบภายในเครื่องสเปกโตรมิเตอร์	14
2.5 สี (Color)	15
2.5.1 สี RGB (RGB color)	16
2.6 โปรแกรม LabVIEW	18
2.6.1 แมชีนวิชัน	19
2.6.2 DATA FLOW AND PROGRAMING	19

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.3 ส่วนประกอบต่างๆภายในLabVIEW	20
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
2.7.1 Lap-in-a-phone	21
2.7.2 Lensless Imaging Device for Digital Counting of Fluorescent Micro-droplet Chambers	21
2.7.3 Lasing from Water Solution of Rhodamine 6G/Gold Nanoparticles : Impact of $\text{SiO}_2$ - Coating on Metal Surface	21
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	23
3.1 วัสดุและอุปกรณ์เครื่องมือ	23
3.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer	27
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	28
3.3.1 การเตรียมสารละลาย	28
3.3.2 การจัดเตรียมอุปกรณ์ในการวัด	31
3.3.3 ทำการทดลองระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์	32
3.4 ออกแบบชุดการทดลอง	32
3.5 การทดสอบเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ที่พัฒนาขึ้น	37
3.6 การประมวลผลภาพ	37
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปราย</b>	39
4.1 ผลการออกแบบชุดการทดลอง	39
4.1.1 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 1	39
4.1.1.1 ผลการทดลองด้วยชุดการทดลองครั้งที่ 1 โดยใช้กล้องสมาร์ต โฟน iPhone 5s	40
4.1.2 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 2	41
4.1.2.2 ผลการทดลองครั้งที่ 2 ใช้พลาสติกรูปทรงกรวยบีบแสง ให้กับLED	41
4.1.3 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 3	43
4.1.3.1 ผลการทดลองครั้งที่ 3 โดยใช้กล้อง Digital Microscope ถ่ายภาพจากด้านบนของคิวเวทท์	44
4.1.4 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 4	45

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.4.1 ผลการทดลองครั้งที่ 4 โดยใช้กล้อง Digital Microscope ถ่ายภาพจากด้านข้างของคิวเวทท์และใช้เลนส์รวมแสงให้แก่ แหล่งกำเนิดแสงLED	46
4.1.5 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 5	47
4.1.5.1 ผลการทดลองครั้งที่ 5 โดยใช้กล้อง Digital Microscope	48
4.1.6 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 6	49
4.1.6.1 ผลการทดลองครั้งที่ 6 โดยใช้กล้อง Webcam	50
4.1.7 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 7	51
4.1.7.1 ผลการทดลองครั้งที่ 7 โดยใช้กล้อง Digital Microscope	52
4.1.8 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 8	53
4.1.8.1 ผลการทดลองครั้งที่ 8 โดยใช้กล้อง Digital Microscope	54
4.2 ผลการพัฒนาโปรแกรม	55
4.2.1 ผลการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลอง ครั้งที่ 1	55
4.2.2 ผลการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลอง ครั้งที่ 2	56
4.2.3 ผลการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลอง ครั้งที่ 3	57
4.3 ผลการวัดสเปกตรัมสมบัติทางแสงของสารละลายโรดามีน 6จี	58
4.4 ผลการทดสอบชุดการทดลองที่พัฒนาขึ้นด้วยโปรแกรม LabView	59
4.4.1 การวิเคราะห์ด้วยการประมวลผลภาพด้วย Gray scale	59
4.4.2 การวิเคราะห์ด้วย RGB	62
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	64
5.1 สรุปผลการวิจัย	64
5.2 ข้อเสนอแนะ	65
เอกสารอ้างอิง	66
ภาคผนวก	68
ภาคผนวก ก	69

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 แผนการดำเนินงาน	4
3.1 แสดงรูปที่ได้จากการถ่ายภาพด้วยชุดอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้น	29
4.1 ผลการวิเคราะห์ค่าความเข้มชั้นจาก Gray scale	61
4.2 ผลการวิเคราะห์ค่าความเข้มชั้นจาก RGB	63
4.3 สรุปผลการทดลองในการเลือกใช้ช่วงความเข้มชั้น	63



# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงการเกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์	2
1.2 แสดงหลักการทำงานของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบพกพาที่ถูกพัฒนาขึ้น	2
2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของโรดามีน 6จี	6
2.2 กลไกการดูดกลืนแสง	7
2.3 สเปกตรัมการเปลี่ยนแปลงระดับ	7
2.4 ปริมาณแสงที่ฉายผ่านสารละลายตัวอย่างและปริมาณแสงที่ถูกส่งออก	8
2.5 การวาวแสง	9
2.6 การเรืองแสง	9
2.7 การเกิด Fluorescence และการเกิด phosphorescence	10
2.8 องค์ประกอบภายในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์	11
2.9 เครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบทั่วไป	11
2.10 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์	13
2.11 องค์ประกอบภายในของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์	13
2.12 แสดงสีในช่วงสเปกตรัมที่มองเห็น	15
2.13 แถบสีสเปกตรัมที่ตามองเห็นซึ่งมีลักษณะต่อเนื่อง	15
2.14 แถบสีสเปกตรัมที่คอมพิวเตอร์มองเห็นซึ่งเกิดจากการรวมสี	16
2.15 RGB และสีเมื่อนำมาผสมกัน	17
2.16 ภาพแสดงระดับสีเทา	17
2.17 ค่า RGB ในแต่ละมิติ	17
2.18 ค่า Gray scale ในแต่ละจุด	18
2.19 แสดงแผนภาพการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม	19
2.20 แสดง Block Diagram ของ LabView	20
2.21 จอแสดงผลของโปรแกรม	20
3.1 สารโรดามีน 6จี	23
3.2 กราฟแสดงคุณสมบัติของสารโรดามีน 6จี	24
3.3 สารละลายเอทานอล	24
3.4 ลักษณะคิวเวทท์	25
3.5 เครื่องตรวจจับ	25
3.6 แหล่งกำเนิดแสง	26

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.7 เครื่องสเปกโทรมิเตอร์	26
3.8 สายใยแก้วนำแสง	27
3.9 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer	27
3.10 ภาพแสดงความเข้มข้นของสารละลายในช่วง $1 \times 10^{-3}$ M - $9 \times 10^{-7}$ M	29
3.11 แผนภาพระบบในการทดลอง	31
3.12 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 1	33
3.13 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 1 (ต่อ)	34
3.14 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 2	35
3.15 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 2 (ต่อ)	36
3.16 แสดงขั้นตอนการทำงานของชุดการทดลองที่พัฒนาขึ้น	37
3.17 แสดงลำดับขั้นตอนในระบบ	38
4.1 ภาพจำลองชุดการทดลองครั้งที่ 1	39
4.2 ผลการออกแบบชุดการทดลองที่ 1	39
4.3 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 1	40
4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration	40
4.5 ภาพจำลองชุดการทดลองครั้งที่ 2	41
4.6 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 2 โดยใช้พลาสติกรูปทรงกรวยบีบแสงให้กับLED	42
4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration	42
4.8 ภาพจำลองการทดลองครั้งที่ 3	43
4.9 ภาพถ่ายจากการทดลองครั้งที่ 3 กล้อง Digital Microscope จากด้านบน	44
4.10 ภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope	44
4.11 ผลการออกแบบระบบการทดลองที่ 4 ด้านหน้า	45
4.12 ผลการออกแบบระบบการทดลองที่ 4 ด้านบน	45
4.13 ผลการทดลองครั้งที่ 4 ภาพถ่ายจากกล้อง Digital Microscope	46
4.14 ผลการทดลองครั้งที่ 4 จากกล้อง Digital Microscope	46
4.15 ผลการออกแบบการทดลองที่ 5 ด้านบน	47
4.16 ผลการออกแบบการทดลองที่ 5 ด้านหน้า	47
4.17 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 5 จากกล้อง Digital Microscope	48
4.18 กราฟผลการทดลอง จากกล้อง Digital Microscope	48

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.19 ผลการออกแบบการทดลองที่ 6 ด้านบน	49
4.20 ผลการออกแบบการทดลองที่ 6 ด้านหน้า	49
4.21 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 6 จากกล้อง Webcam	50
4.22 กราฟผลการทดลองครั้งที่ 6 จากกล้อง Webcam	50
4.23 ผลการทดลองครั้งที่ 7 โดยใช้กล้อง Digital Microscope	51
4.24 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 7	52
4.25 กราฟผลการทดลองครั้งที่ 7 จากกล้อง Digital Microscope	52
4.26 แสดงลักษณะโครงสร้างภายนอกของกล้อง	53
4.27 แสดงลักษณะโครงสร้างภายในของกล้อง	53
4.28 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 8	54
4.29 กราฟที่ได้จากการทดลองที่สมบูรณ์	54
4.30 Block diagram ครั้งที่ 1	55
4.31 Front Panel ครั้งที่ 1	55
4.32 Block diagram ครั้งที่ 2	56
4.33 Front Panel ครั้งที่ 2	56
4.34 Block diagram ครั้งที่ 3	57
4.35 Front Panel ครั้งที่ 3	57
4.36 การเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี ที่ความเข้มข้น $9 \times 10^{-3} \text{ M} - 1 \times 10^{-7} \text{ M}$	58
4.37 กราฟผลการอินทิเกรตการเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี	59
4.38 กราฟแสดงค่า Normal curve	60
4.39 กราฟแสดงสมการในช่วงแรก	60
4.40 กราฟแสดงสมการในช่วงหลัง	61
4.41 กราฟแสดงค่า RGB	62
4.42 กราฟแสดงค่า Red Intensity กับ Concentration	62
ก.1 กราฟผลการทดลองช่วงแรก	69
ก.2 กราฟผลการทดลองช่วงหลัง	70
ก.3 ตัวอย่างภาพถ่ายที่ไม่ใช้เลนส์รวมแสงให้กับLED	71
ก.4 ตัวอย่างภาพถ่ายที่ใช้พลาสติกกรวยบิเบอสังเคราะห์แสงให้กับLED	72
ก.5 ตัวอย่างภาพถ่ายที่ใช้พลาสติกกรวยบิเบอสังเคราะห์แสงให้กับLED (ต่อ)	73

## สารบัญรูป (ต่อ)

ก.6 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ด้านบน	73
ก.7 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ด้านข้าง	73
ก.8 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ระบบการทดลองที่ 2	74
ก.9 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ระบบการทดลองที่ 2 (ต่อ)	75
ก.10 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Webcam ระบบการทดลองที่ 2	76
ก.11 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Webcam ระบบการทดลองที่ 2 (ต่อ)	77



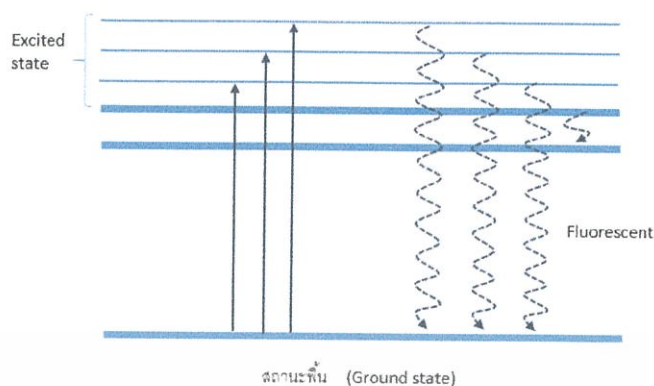
# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

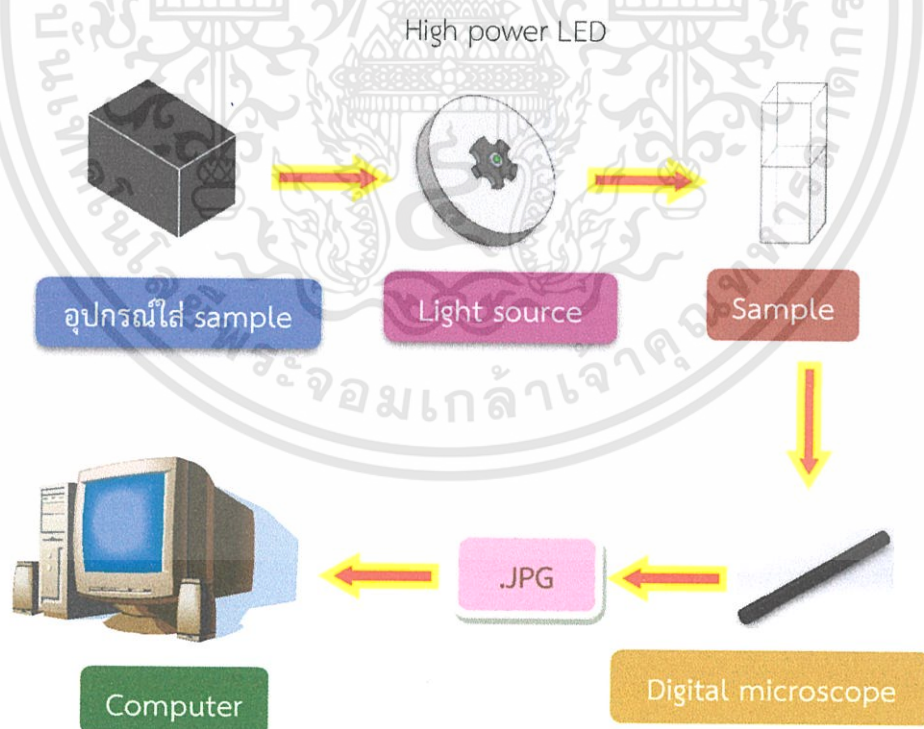
ในปัจจุบันความเจริญเติบโตทางด้านเศรษฐกิจในภูมิภาคต่าง ๆ เป็นไปอย่างก้าวกระโดด ส่งผลให้ภาคอุตสาหกรรมมีการพัฒนาและเจริญเติบโตเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านอุปกรณ์หรือเครื่องมือที่ใช้ในด้านการตรวจสอบหรือตรวจวัด มีการพัฒนาอุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ให้มีความทันสมัยเหมาะสมแก่การใช้งานมากยิ่งขึ้น ในขณะที่อุปกรณ์หรือเครื่องมือบางชนิดที่ใช้กันในปัจจุบันยังคงมีราคาสูงอยู่และไม่สามารถพกพาได้สะดวก ในปัจจุบันเรามีเทคโนโลยีที่ใช้ในการตรวจสอบหรือตรวจวัดทางด้านแสงอยู่หลายชนิด อาทิเช่น เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer) เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer) เป็นต้น ซึ่งอุปกรณ์หรือเครื่องมือวัดเหล่านี้มีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากประเทศไทยของเรามีการเจริญเติบโตทางด้านอุตสาหกรรมอย่างก้าวกระโดด ส่งผลให้สิ่งแวดล้อมเกิดการเสียสมดุล หรือเกิดมลพิษเพิ่มขึ้น อาทิเช่น มลพิษในอากาศ มลพิษทางน้ำ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้จากค่า pH ในน้ำ มลพิษทางด้านสิ่งแวดล้อมซึ่งสามารถวัดได้จากสภาพความเป็นกรด-ด่างของดิน เป็นต้น อุปกรณ์ที่นิยมใช้ในการตรวจมลพิษทางด้านน้ำได้แก่ เครื่องสเปกโตรมิเตอร์และเครื่องฟลูออโรมิเตอร์เนื่องจากสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ในหมวดของฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ฟอสโฟเรสเซนซ์ (phosphorescence) ไบโอลูมิเนสเซนซ์ (bioluminescence) และเคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemi-luminescence) ได้ง่าย

เครื่องที่ใช้ในการวิเคราะห์หรือตรวจสอบค่าที่ได้ต่าง ๆ นั้นอาจนำแสงเข้ามาเกี่ยวข้องในการวิเคราะห์และแสดงผล สำหรับหลักการทำงานของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์คือ เมื่อได้รับแสงหรือโฟตอน (photon) มากกระตุ้นอิเล็กตรอนในสถานะพื้น (ground state) จะเกิดการกระโดดของอิเล็กตรอนไปในระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น (Excited state) ซึ่งเรียกว่า การดูดกลืนพลังงาน ซึ่งอิเล็กตรอนอาจไม่มีความเสถียรจึงมีการปลดปล่อยพลังงานกลับสู่ชั้นที่ระดับต่ำหรือกลับสู่สถานะพื้น (ground state) ซึ่งจะทำให้เกิดการคายของโฟตอน ทำให้เกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ออกมา ดังรูปที่ 1.1 ซึ่งเครื่องมือฟลูออโรมิเตอร์ที่ใช้กันในปัจจุบันมีต้นทุนที่สูงและยากต่อการใช้งาน ทางผู้ทำการทดลองจึงเกิดความคิดในการพัฒนาอุปกรณ์หรือเครื่องมือให้มีราคาต่ำและสามารถพกพาได้สะดวก โดยใช้กล้องดิจิทัลไมโครสโคปในการตรวจสอบ เนื่องจากเป็นกล้องที่สามารถปรับความชัดของภาพได้ในระดับสูงจึงเหมาะสมสำหรับการถ่ายภาพในระยะใกล้



รูปที่ 1.1 แสดงการเกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์

ดังนั้นโครงการพิเศษนี้เกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยได้ออกแบบเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบพกพาขึ้นเพื่อให้สะดวกต่อการใช้งานในที่เข้าถึงได้ยาก เราจะได้เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ที่มีขนาดเล็กและพกพาสะดวก และมีราคาต้นทุนที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบปกติทั่วไป เครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบพกพานี้ประกอบได้ด้วย อุปกรณ์ใส่ sample , light source , sample , Digital microscope , computer ซึ่งมีหลักการดังรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 แสดงหลักการทำงานของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบพกพาที่ถูกพัฒนาขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาและพัฒนาระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์โดยเครื่องเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์
- 1.2.2 เพื่อศึกษาการประยุกต์ใช้การถ่ายภาพในการวิเคราะห์ผล
- 1.2.3 เพื่อสร้างเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีราคาถูก และมีขนาดกะทัดรัดสามารถพกพาได้สะดวก โดยการประยุกต์ใช้งานการถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัลไมโครสโคป

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาทฤษฎีและทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเครื่องสเปคโตรฟลูออโรมิเตอร์ และการตรวจวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์
- 1.3.2 ศึกษาพฤติกรรมการณ์เรืองแสงของสาร ด้วยการประมวลผลภาพ
- 1.3.3 ทดลองสร้างเครื่องตรวจวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยการประมวลผลภาพ
- 1.3.4 วิเคราะห์ประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่จัดทำขึ้น

## 1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

- ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาพฤติกรรมและคุณสมบัติของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ และการตรวจวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์
- ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการโปรแกรมที่ใช้ในการออกแบบเครื่องฟลูออโรมิเตอร์
- ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาพฤติกรรมการณ์เรืองแสงของสารที่เตรียมไว้
- ขั้นตอนที่ 4 สร้างกล่องทึบเพื่อใช้ในการสังเกตการณ์เรืองแสงของสารและประยุกต์ใช้กล้องดิจิทัลไมโครสโคปในการบันทึกภาพ
- ขั้นตอนที่ 5 นำภาพจากกล้องดิจิทัลไมโครสโคปมาประมวลผลโดยผ่านซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์
- ขั้นตอนที่ 6 สรุปผลจากการทดลอง
- ขั้นตอนที่ 7 จัดทำรูปเล่มการนำเสนอให้เสร็จสมบูรณ์

ตารางที่ 1.1 แผนการดำเนินงาน

การดำเนินงาน									
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
ขั้นตอนที่ 1	■	■							
ขั้นตอนที่ 2		■	■						
ขั้นตอนที่ 3			■	■					
ขั้นตอนที่ 4				■	■	■			
ขั้นตอนที่ 5							■	■	
ขั้นตอนที่ 6									■
ขั้นตอนที่ 7									■

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้รับความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการดูดกลืนของแสงและการเรืองแสงของสารละลาย
2. ได้รับความรู้เกี่ยวกับการใช้งานโปรแกรม LabView
3. ได้รับความรู้เกี่ยวกับการใช้สารละลายโรดามีน 6จี
4. ได้ชุดการทดลองแบบใหม่

## บทที่ 2

# ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

### 2.1 สารเรืองแสง (Fluoresce Dyes) [1]

สารเรืองแสงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของการทำงานด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer) เนื่องจากสารเรืองแสงเป็นตัวที่ทำให้เกิดกลไกการเรืองแสง ซึ่งสมบัติของสารเรืองแสงที่เหมาะสมกับการนำมาประยุกต์ใช้งานควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ มีความเสถียรเชิงแสง มีค่าสัมประสิทธิ์ในการดูดกลืนแสงสูงได้ ซึ่งทำให้สามารถดูดกลืนแสงได้ดี ไม่เกิดปรากฏการณ์ดูดกลืนซ้ำ มีราคาย่อมเยาและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันมีการพัฒนาสารเรืองแสงหลากหลายประเภทแต่ละประเภทยังจะมีคุณสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป สำหรับการแยกสารเรืองแสงนั้นสามารถแยกได้ 2 ประเภทหลักๆ คือ

#### สารเรืองแสงประเภทอินทรีย์ ( Organic dyes )

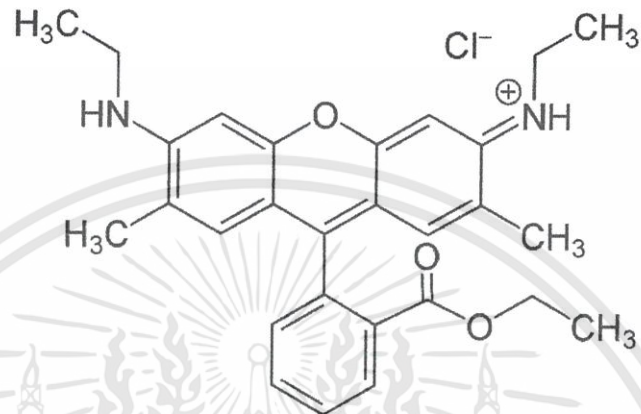
สารเรืองแสงประเภทอินทรีย์มีข้อดีกว่าสารเรืองแสงประเภทอื่น คือ มีการดูดกลืนแสงและมีการปลดปล่อยสเปกตรัมของแสงลูมิเนสเซนซ์ (Luminescence) อยู่ในย่านความยาวคลื่นที่หลากหลาย และมีสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงที่สูง สารอินทรีย์หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยแสงลูมิเนสเซนซ์ ซึ่งในปัจจุบันมีการสังเคราะห์สารอินทรีย์ชนิดใหม่ขึ้นมาหลายชนิดเพื่อให้สารเรืองแสงมีประสิทธิภาพในการดูดกลืนครอบคลุมหลายความยาวคลื่นและปลดปล่อยแสงลูมิเนสเซนซ์ออกมาได้สูง นอกจากนี้สารอินทรีย์อีกหลายชนิดยังมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยแสงลูมิเนสเซนซ์ที่สูงและปลดปล่อยแสงลูมิเนสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วงของแสงสีเขียว-แสงสีเหลือง อย่างไรก็ตามมีการพบข้อบกพร่องของสารอินทรีย์ในแง่ของความเสถียรเชิงแสงที่ค่อนข้างต่ำ

#### สารเรืองแสงประเภทอนินทรีย์ ( Inorganic dyes )

สารเรืองแสงประเภทอนินทรีย์จะมีข้อดีกว่าสารเรืองแสงประเภทอื่น คือ มีความทนทานต่อความร้อนสูง ซึ่งในสารเรืองแสงประเภทอนินทรีย์นี้มีสารจำพวกธาตุ rare earth ส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์การดูดกลืนซ้ำขึ้นน้อย นอกจากนี้สารเรืองแสงประเภทอนินทรีย์ยังมีความเสถียรเชิงแสงที่สูง แต่ยังมีข้อบกพร่องในเรื่องของประสิทธิภาพในการปลดปล่อยแสงลูมิเนสเซนซ์ที่ค่อนข้างต่ำ และมีประสิทธิภาพในการดูดกลืนแสงที่ไม่ดีนัก ซึ่งแนวทางการแก้ปัญหาคือการเพิ่มความเข้มข้นของสารให้มากขึ้น แต่ในการแก้ปัญหาวิธีนี้ทำให้เกิดปรากฏการณ์การดูดกลืนซ้ำที่มากขึ้นตามไปด้วย

### 2.1.1 โรดามีน 6 จี

สารเรืองแสงโรดามีน 6 จี เป็นสารสีย้อมที่ดีที่สุดในตระกูลสีย้อมโรดามีน 6 เป็นสารเรืองแสงที่มีราคาถูกและสามารถตรวจจับได้ง่ายด้วยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ ซึ่งสารเรืองแสงโรดามีน 6 จี มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของโรดามีน 6จี [2]

คุณสมบัติ	
สูตรทางเคมี	$C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$
มวลโมเลกุล	479.02 g/mol
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผลึกของแข็งสีแดงอมน้ำตาล
ความหนาแน่น	1.26 g/cm <sup>3</sup>
ถูกละลาย	Butanol Ethanol Methanol Propanol MEG DEG TEG Isopropanol Ethoxyethanol Methoxyethanol Dipropylene glycol PEG
ชื่ออื่นๆ	Rhodamine 590 R6G Rh6G C.I. Pigment Red 81 C.I. Pigment Red 169 Basic Rhodamine Yellow C.I. 45160

## 2.2 กลไกการเรืองแสงของสารเรืองแสง

### 2.2.1 การดูดกลืนแสง (Absorbance)

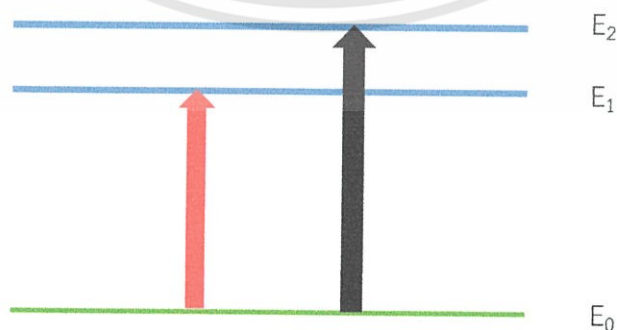
กลไกการดูดกลืนแสง คือ กระบวนการที่มีพลังงานแสงหรือโฟตอนที่ถูกถ่ายเทไปยังอะตอม หรือไอออน หรือโมเลกุลที่อยู่ภายในตัวกลาง ทำให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้นเกิดพลังงานขึ้น ซึ่งการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างใด ๆ การดูดกลืนในระดับอะตอมนี้ขึ้นกับชนิดของสารที่แสงนั้นทำปฏิกิริยา ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กลไกการดูดกลืนแสง

การดูดกลืนแสงหรือกระบวนการถ่ายเทพลังงานของแสงที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะของอนุภาคจากสถานะพื้น (ground state) ไปยังสถานะกระตุ้น (excited state) หรืออาจเรียกว่าสถานะที่มีระดับพลังงานที่สูงกว่า เรามักเรียกกระบวนการแบบนี้ว่า การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงาน (transition) กระบวนการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอนุภาคนี้อาศัยพลังงานกระตุ้นที่มีค่ามากกว่า หรือต้องมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับค่าระดับพลังงานของผลต่างระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้น ซึ่งค่าของระดับพลังงานที่มีค่าน้อยที่สุดที่ทำให้อนุภาคเกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานคือ

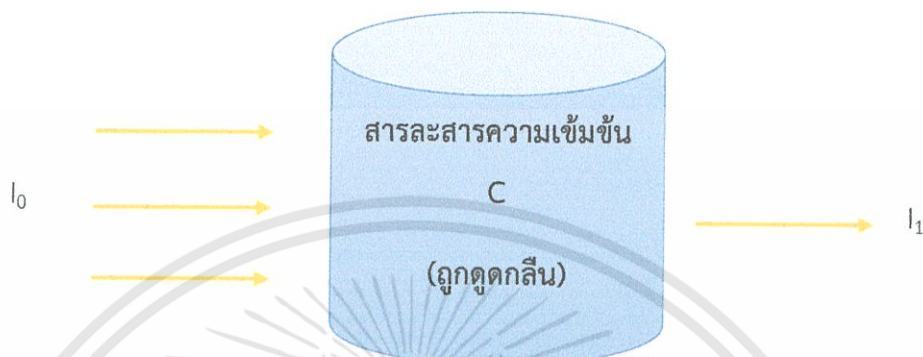
$$E_1 - E_0 = h\nu \quad (2.1)$$



รูปที่ 2.3 สเปกตรัมการเปลี่ยนแปลงระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์การดูดแสงของสารละลาย เมื่อฉายแสงผ่านตัวกลางสารละลาย ตัวอย่าง คือ กฎของเบียร์ - แลมเบิร์ต (Beer - Lambert's Law) ซึ่งสามารถแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงที่ถูกฉายผ่านสารตัวอย่างและปริมาณแสงที่ถูกส่งผ่านออกมา



รูปที่ 2.4 ปริมาณแสงที่ฉายผ่านสารละลายตัวอย่างและปริมาณแสงที่ถูกส่งออก [3]

ค่าการดูดกลืนแสงของสารมีความสำคัญอย่างยิ่งในเชิงปริมาณวิเคราะห์เนื่องจากค่าการดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย ตามกฎของ เบียร์ - แลมเบิร์ต ดังสมการ

$$A = c l e \quad (2.2)$$

เมื่อ

$A$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (absorbance)

$\epsilon$  = เป็นสมบัติจำเพาะของสารที่ดูดกลืนและวัดที่ความยาวค่าหนึ่ง ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

$l$  = ระยะทางที่แสงผ่านตัวอย่าง หรือความกว้างของเซลล์นั่นเอง (cm)

$c$  = ความเข้มข้นเป็น โมล/ลิตร หรือโมลาร์ (M)

## 2.2.2 การเปล่งแสง (Luminescence)

การเปล่งแสง คือ การปลดปล่อยแสงออกมาจากวัตถุหนึ่ง เมื่อวัตถุนั้นถูกกระตุ้นด้วยแสง โดยไม่มีความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ การวาวแสง (Fluorescence) และการเรืองแสง (Phosphorescence)

1.การวาวแสง คือ การกระตุ้นวัตถุด้วยพลังงานที่ไม่ใช่พลังงานความร้อนทำให้วัตถุเกิดการเปล่งแสงออกมาในช่วงที่มีการให้พลังงานเท่านั้นเนื่องจากโมเลกุลของวัตถุที่ถูกกระตุ้นเกิดการดูดกลืนแสงหรือโฟตอนที่มีพลังงานสูง (ultraviolet) แล้วเกิดการปลดปล่อยแสงหรือโฟตอนที่มีพลังงานต่ำ (visible light) กลับออกมาโดยพลังงานส่วนต่างเหล่านี้ทำให้เกิดพลังงานความร้อนขึ้นในวัตถุ เมื่อทำการกระตุ้นด้วยแหล่งกำเนิดแสง วัตถุจะเกิดการดูดกลืนพลังงานจากแหล่งกำเนิดแสงที่มากระตุ้น แล้วปลดปล่อยพลังงานกลับออกมาในรูปของแสงในทันที โดยการเปล่งแสงนี้จะหยุดลงเมื่อหยุดการกระตุ้นของแหล่งกำเนิด ดังรูปที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก. กระตุ้นด้วยแหล่งกำเนิดแสง

ข. หยุดการกระตุ้นของแหล่งกำเนิด

รูปที่ 2.5 การรบกวนแสง

2. การเรืองแสง คือการกระตุ้นวัตถุด้วยพลังงานที่ไม่ใช่พลังงานความร้อน เช่นเดียวกับการรบกวนแสงแต่วัตถุดังกล่าวสามารถเกิดการเปล่งแสงออกมาในช่วงหลังการให้พลังงานได้ โดยเมื่อเรากระตุ้นด้วยแหล่งกำเนิดแสงวัตถุจะดูดกลืนพลังงานจากแหล่งกำเนิดแสงที่มากระตุ้น แล้วปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสงในเวลาต่อมา การเปล่งแสงจะยังมีอยู่ต่อไปอีกระยะหนึ่งถึงแม้เราจะทำการหยุดการกระตุ้นของแหล่งกำเนิดแสงแล้วก็ตาม ดังรูปที่ 2.6



ก. กระตุ้นด้วยแหล่งกำเนิดแสง

ข. หยุดการกระตุ้นของแหล่งกำเนิด

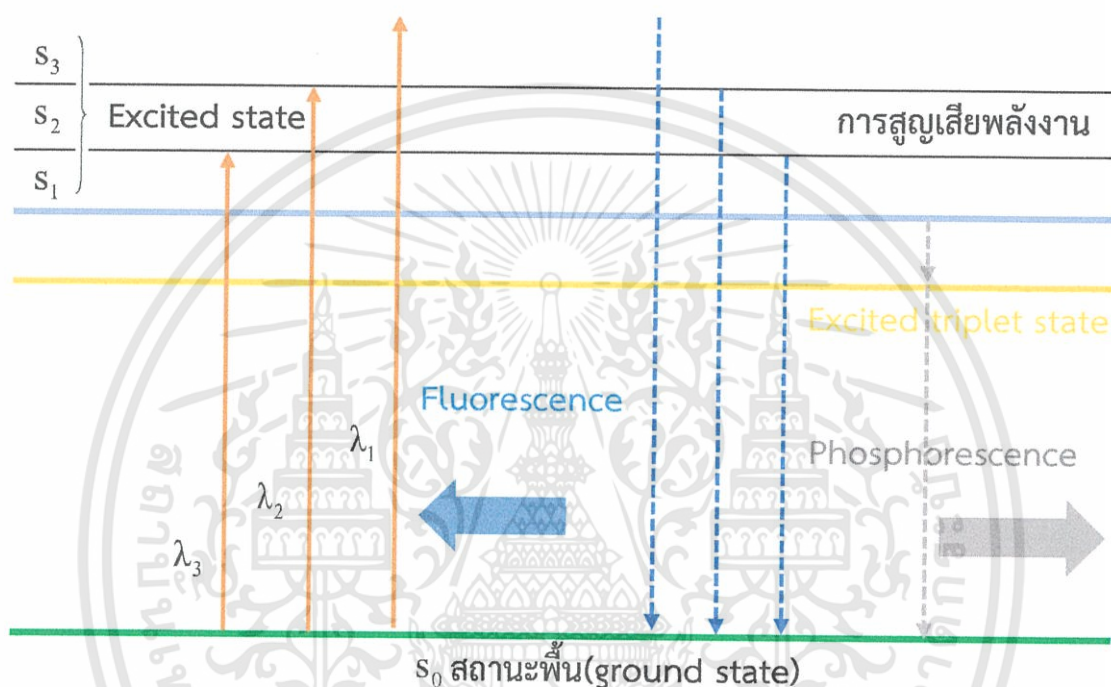
รูปที่ 2.6 การเรืองแสง

### 2.2.3 กลไกการเปล่งแสงของสารเรืองแสง [4]

ในสภาวะปกติอิเล็กตรอนจะอยู่กันเป็นคู่ที่สถานะพื้น และเมื่อได้รับพลังงานจากแสงที่มีความยาวคลื่นสั้น จะทำให้อิเล็กตรอนโดดเดี่ยวมีพลังงานสูงขึ้นและกระโดดไปอยู่ในออร์บิทัล (orbital) ที่สูงขึ้นตามระดับของพลังงานที่ได้รับ และเมื่อกลับสู่สถานะพื้นจะเกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับความยาวคลื่นที่ดูดกลืนเข้าไป (resonance fluorescence) แต่เนื่องจากการกลับเข้าสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนของอะตอมของสารเปล่งแสงมีการสูญเสียพลังงานไปส่วนหนึ่งเนื่องจากการชน (collision) และการสั่น (vibration) ของอะตอมและการถ่ายเทพลังงานให้สาร ละลายจึงทำให้แสงที่เปล่งออกมาขณะกลับเข้าสู่สถานะพื้นมีความยาวคลื่นแสงมากกว่าแสงที่ถูกดูดกลืนไป (direct line fluorescence) แสงดังกล่าวจะเกิดขึ้นในช่วงสั้น ๆ หลังจากหยุดส่องแสงตกกระทบ เรียกการเปล่งแสงชนิดนี้ว่า “การรบกวนแสง” (Fluorescence) ดังรูปที่ 2.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเปล่งแสงบางชนิดมีอิเล็กตรอนพลังงานสูงเปลี่ยนไปเป็นอิเล็กตรอนพลังงานสูงที่มีระดับพลังงานใกล้เคียงกัน หลังจากเกิดการสูญเสียพลังงานบางส่วนอิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้นพร้อมกับการเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าออกมา แต่เนื่องจากการเปลี่ยนสถานะจาก triplet state มาสู่สถานะพื้นใช้เวลานานกว่า 10-9 วินาทีจนถึงหลายวินาที ทำให้มองเห็นแสงที่เปล่งออกมาเป็นเวลานานถึงแม้ว่าจะหยุดส่องแสงตกกระทบแล้วก็ตามเรียกกระบวนการนี้ว่า “การเรืองแสง” หรือ “phosphorescence”

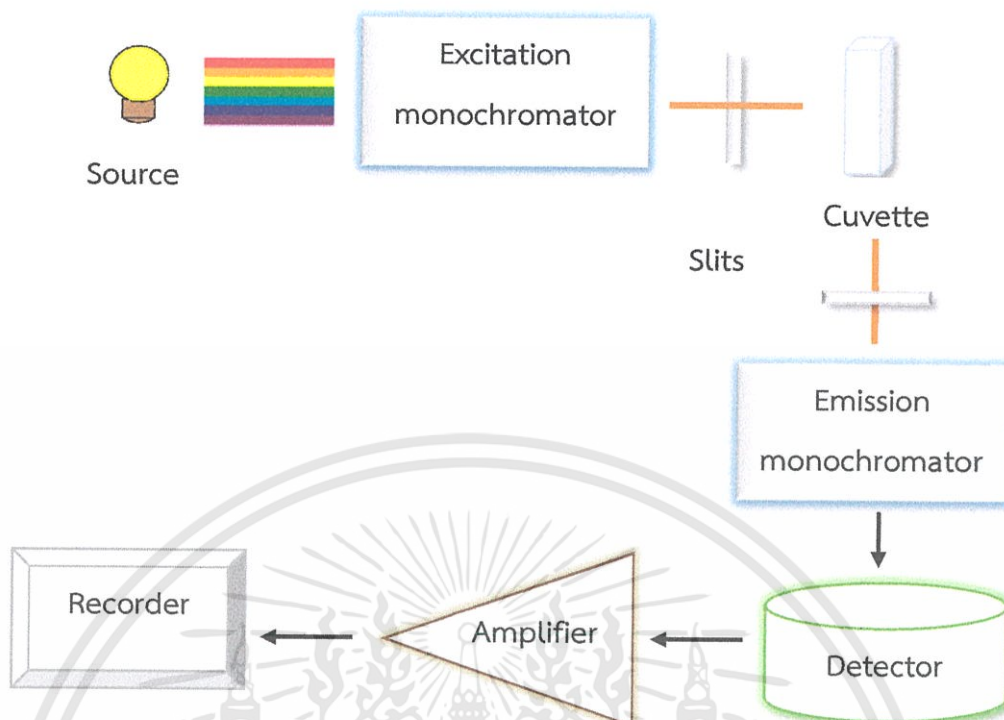


รูปที่ 2.7 การเกิด Fluorescence และการเกิด phosphorescence

### 2.3 เครื่องฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer)

เครื่องฟลูออโรมิเตอร์มีโครงสร้างและองค์ประกอบภายในคล้ายกับเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แต่ต่างกันตรงที่ จำนวนของส่วนแยกความยาวคลื่น และการจัดเรียงช่องทางเข้าและทางออกของแสง โดยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์มีส่วนแยกความยาวคลื่น 2 ส่วนคือ ส่วนที่ใช้ในการแยกความยาวคลื่นของแสงที่ใช้ในการกระตุ้นสารตัวอย่าง Excitation monochromator และส่วนที่ใช้ในการแยกความยาวคลื่นของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ถูกปล่อยออกมา Emission monochromator แต่เครื่องสเปกโตรมิเตอร์มีเพียง monochromator ที่ใช้ส่วนเลือกความยาวคลื่นของแสงที่เราต้องการเพียงส่วนเดียวเท่านั้น ในส่วนของการจัดเรียงช่องทางเข้าออกของแสงนั้น เครื่องฟลูออโรมิเตอร์มีลักษณะการจัดวางให้ช่องทางเข้าของแสงตั้งฉากกับทางออกของแสงเพื่อป้องกันไม่ให้มีแสงจากแหล่งกำเนิดไปตกกระทบที่ตัวตรวจวัด เนื่องจากเราต้องการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ถูกคายออกมาเท่านั้น แต่เครื่องสเปกโตรมิเตอร์จะมีการจัดเรียงช่องทางเข้า และทางออกของแสงในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากเราต้องการวัดปริมาณของแสงจากแหล่งกำเนิดที่ถูกดูดกลืนไปเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 องค์ประกอบภายในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์

### 2.3.1 องค์ประกอบภายในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์



รูปที่ 2.9 เครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบทั่วไป [5]

เครื่องฟลูออโรมิเตอร์หรือเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์มีองค์ประกอบภายในและคุณสมบัติคล้ายกับเครื่องสเปกโตรมิเตอร์หรือเครื่องวัดการดูดกลืนแสงดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)

เนื่องจากเราต้องการวัดการเรืองแสงของสารตัวอย่างดังนั้นในเครื่องฟลูออโรมิเตอร์จึงจำเป็นต้องใช้แหล่งกำเนิดแสงที่มีความเข้มสูง เพื่อกระตุ้นให้โมเลกุลของสารตัวอย่างนั้นขึ้นไปอยู่บนสถานะกระตุ้น

### 2. ตัวแยกแสงตกกระทบ (excitation filter)

เครื่องฟลูออโรมิเตอร์มีตัวแยกแสงตกกระทบทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสง (light filter) ซึ่งมีหน้าที่แยกความยาวคลื่นแสงที่เราไม่ต้องการออกไม่ให้ไปตกกระทบที่สารตัวอย่าง และเกรตติงที่ช่วยทำหน้าที่จำแนกแสงตกกระทบและสามารถให้แถบแสงที่แคบได้

### 3. คิวเวทท์

คิวเวทท์ที่เราใช้ในการทดลองเป็นคิวเวทท์ชนิดสีเหลือง เนื่องจากสามารถลดการกระเจิงของแสงตกกระทบ (light scattering) ได้และเป็นคิวเวทท์ที่ทำจากควอทซ์ เนื่องจากสามารถใช้งานได้ในทุกช่วงความยาว ด้านทั้งสี่มีลักษณะใสและโปร่งแสงเพื่อให้แสงที่มากระตุ้นสามารถผ่านได้ง่าย

### 4. ตัวแยกแสงปล่อยออก (emission filter)

มีทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสง (light filter) และเกรตติง ซึ่งแต่ละตัวมีหน้าที่ในการตัดแสงรบกวนหรือแสงที่เราไม่ต้องการออก

### 5. ตัวกรองแสง (optical filter)

สำหรับเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์บางชนิดมีการนำตัวกรองแสงมาใช้เพื่อทำหน้าที่กรองคลื่นแสงที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากตัวแยกแสงและเพื่อเลือกช่วงความยาวคลื่นบางช่วงให้ตกกระทบตัวไวแสง

### 6. ตัวตรวจวัดหรือตัวไวแสง (detector)

ในปัจจุบันเรานิยมใช้โฟโตมัลติพลายเออทิวป์ เนื่องจากสามารถขยายสัญญาณของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมา (emission light) ให้สามารถถูกตรวจจับได้แม้ว่าจะมีความเข้มน้อยก็ตาม

### 7. ภาคขยายสัญญาณ (amplifier)

เป็นส่วนที่ขยายสัญญาณจากตัวไวแสงให้มีปริมาณที่มากพอที่จนสามารถอ่านค่าได้โดยมีสัญญาณรบกวนได้น้อยที่สุด

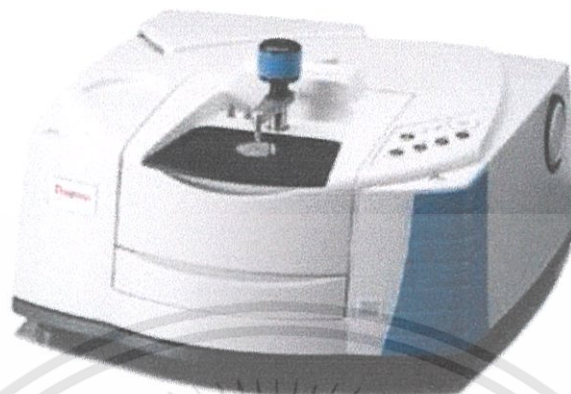
### 8. ตัวบันทึกสัญญาณ (recorder)

ทำหน้าที่ในการแปลงสัญญาณให้กลายเป็นตัวเลข

### 9. ภาคแสดงผล

มีหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณไฟฟ้าให้เป็นหน่วยวัดที่ต้องการวัดได้ และสามารถคำนวณผลอัตโนมัติได้

## 2.4 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer)



รูปที่ 2.10 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ [6]

เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ คือ เครื่องมือที่ใช้ในการวัดปริมาณการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเพื่อหาความเข้มของแสง (Intensity) ในช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ อาทิเช่น ความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ต ช่วงคลื่นแสงที่มองเห็นได้ จนถึงความยาวคลื่นในช่วงของรังสีอินฟราเรด สำหรับเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ที่ใช้วัดในช่วงความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้ เรานิยมเรียกว่า เครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) องค์ประกอบภายในของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์แสดงดังภาพที่ 2.11



รูปที่ 2.11 องค์ประกอบภายในของเครื่องสเปกโตรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.4.1 องค์ประกอบภายในเครื่องสเปกโทรมิเตอร์

#### 1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)

เนื่องจากการวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิด มีความไวและความจำเพาะสูงดังนั้นเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จึงต้องมีแหล่งกำเนิดแสงที่ให้ความยาวคลื่นคงที่และต่อเนื่องอยู่ตลอดเวลา และต้องมีความเข้มแสงที่มากพอที่จะทำให้เกิดการดูดกลืนอีกด้วย แหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้กันในปัจจุบัน คือ แหล่งกำเนิดแสงที่เป็นหลอดดีฟฟิวสซึ่งให้แสงที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 185-375 nm และหลอดทังสเตน ซึ่งให้แสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในมองเห็นได้คือตั้งแต่ 320-2500 nm

#### 2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector)

ส่วนเลือกความยาวคลื่นของเครื่องสเปกโทรมิเตอร์มีหน้าที่เป็นตัวแยกความยาวคลื่นของแสงที่มาก่อตั้งจากแหล่งกำเนิดแสง เนื่องจากแสงที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสงนั้นมีหลายความยาวคลื่น แต่เราต้องการแสงที่มีค่าความยาวคลื่นอยู่ในช่วงแคบ ๆ เท่านั้น เนื่องจากแสงที่มีความยาวคลื่นค่าเดียวจะทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารและค่าการดูดกลืนแสงมีความเป็นเส้นตรงมากขึ้น โดยอาศัยโมโนโครเมเตอร์แบบเกรตติ้งในการแยกความยาวคลื่น

#### 3. คิวเวทท์

คิวเวทท์ที่เราใช้ในการทดลองเป็นคิวเวทท์ชนิดสีเหลี่ยม เนื่องจากสามารถลดการกระเจิงของแสงตกกระทบ (light scattering) ได้ และเป็นคิวเวทท์ที่ทำจากพลาสติก เนื่องจากสามารถใช้งานได้ในทุกช่วงความยาว ด้านทั้งสี่มีลักษณะใสและโปร่งแสงเพื่อให้แสงที่มาก่อตั้งสามารถผ่านได้ง่าย

#### 4. ช่องแสง (slit)

เป็นส่วนที่ใช้ในการควบคุมปริมาณของแสงที่ผ่านเข้ามา โดยช่องแสงมีลักษณะเป็นโลหะขอบบาง 2 แผ่น วางขนานกันในระนาบเดียวกันซึ่งระยะห่างระหว่างช่องแสงสามารถปรับเลื่อนได้

#### 5. ตัวตรวจวัดหรือตัวไวแสง (detector)

เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนความเข้มข้นของแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า จากนั้นส่งต่อไปยังวงจรรขยายเพื่อแสดงค่าดูดกลืนของสารตัวอย่าง

#### 6. ตัวบันทึกสัญญาณ (recorder)

ทำหน้าที่ในการแปลงสัญญาณไฟฟ้าจากตัวตรวจวัดให้กลายเป็นตัวเลข

#### 7. ภาคแสดงผล

มีหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณไฟฟ้าให้เป็นหน่วยวัดที่ต้องการวัดได้ และสามารถคำนวณผลอัตโนมัติได้

## 2.5 สี (Color) [7, 8]

เราสามารถรับรู้แสงสีต่างๆได้จากความถี่หรือความยาวคลื่นของแสงซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับการรับรู้ระดับของเสียง แสงที่มองเห็นได้ (visible light) หรือแสงขาว ประกอบไปด้วยเจ็ดสีคือ ม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง ส้ม แดง โดยสีที่มีพลังงานมากสุดหรือความยาวคลื่นสั้น คือสีม่วง และสีที่มีพลังงานน้อยที่สุดหรือความยาวคลื่นยาวมากที่สุด คือ สีแดง

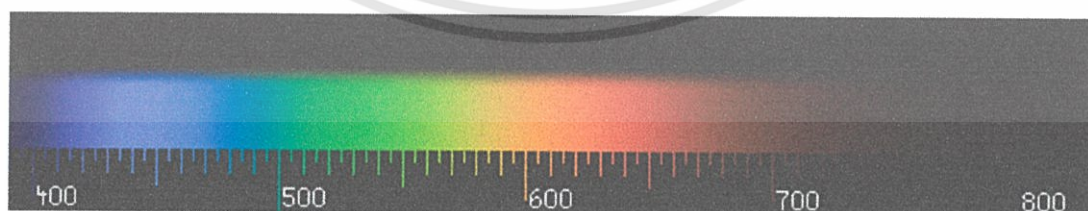
สี	ช่วงความยาวคลื่น	ช่วงความถี่
สีแดง	~ 625-740 nm	~ 480-405 THz
สีส้ม	~ 590-625 nm	~ 510-480 THz
สีเหลือง	~ 565-590 nm	~ 530-510 THz
สีเขียว	~ 500-565 nm	~ 600-530 THz
สีน้ำเงิน	~ 485-500 nm	~ 620-600 THz
สีคราม	~ 440-485 nm	~ 680-620 THz
สีม่วง	~ 380-440 nm	~ 790-680 THz

รูปที่ 2.12 แสดงสีในช่วงสเปกตรัมที่มองเห็น

### รูปแบบการมองเห็นสีของสายตามนุษย์

จะเป็นแบบ ระบบสีแบบ HSB คือสีของวัตถุที่มองเห็นแสดงได้ด้วยสมบัติ 3 อย่าง คือ

1. Hue คือ แถบแสงสีแต่ละแสงสีในสเปกตรัมซึ่งมีลักษณะเป็นสเปกตรัมที่ต่อเนื่องดังรูป 2.13
2. ความสว่างของแสงสี (Lightness) คือ ปริมาณแสงสะท้อนออกจากแถบแสงสีแต่ละแสงสี
3. ความอิ่มตัวของสี (Color Saturation) คือ จำนวนหรือขนาดที่บอกให้ทราบว่าแถบสีนั้นอยู่ห่างจากที่ไม่มีสี (Achromatic Color) สีที่อิ่มตัวคือสีที่ไม่มีสีขาวปนอยู่เลย



รูปที่ 2.13 แถบสีสเปกตรัมที่ตามองเห็นซึ่งมีลักษณะต่อเนื่อง

## รูปแบบการมองเห็นสีของคอมพิวเตอร์

ระบบสีของคอมพิวเตอร์ เป็นระบบสีที่ประกอบด้วยแม่สี 3 สีคือ แดง (Red) เขียว (Green) และน้ำเงิน (Blue) ในสัดส่วนความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เมื่อนำมาผสมกันทำให้เกิดสีต่างๆ บนจอคอมพิวเตอร์ได้มากถึง 16.7 ล้านสี ซึ่งใกล้เคียงกับสีที่ตาเรามองเห็นได้โดยปกติ และจุดที่สีทั้งสามสีรวมกันจะกลายเป็นสีขาว นิยมเรียกการผสมสีแบบนี้ว่าแบบ “Additive” หรือการผสมสีแบบบวก ซึ่งเป็นการผสมสีขั้นที่ 1 หรือถ้านำเอา Red Green Blue มาผสมครั้งละ 2 สี ก็จะทำให้เกิดสีใหม่

Blue + Green = Cyan

Red + Blue = Magenta

Red + Green = Yellow

แสงสี RGB มักจะถูกใช้สำหรับการส่องสว่างทั้งบนจอทีวีและจอคอมพิวเตอร์ ซึ่งสร้างจากการให้กำเนิดแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ทำให้สีดูสว่างกว่าความเป็นจริง

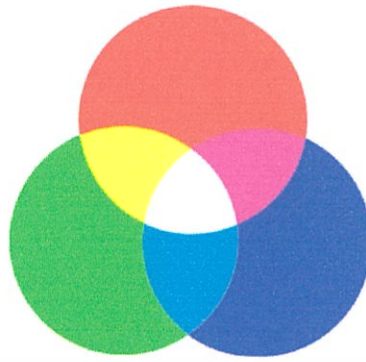


รูปที่ 2.14 แถบสีสเปกตรัมที่คอมพิวเตอร์มองเห็นซึ่งเกิดจากการรวมสี

### 2.5.1 สี RGB (RGB color)

RGB (Red, Green, Blue) คือระบบสีของแสง ซึ่งระบบสี RGB เป็นระบบสีของแสงที่เกิดจากการหักเหของแสงผ่านปริซึมแล้วทำให้เกิดแถบสีซึ่ง เรียกว่า แสงสีรุ้ง (Spectrum) ซึ่งแยกสีออกได้ทั้งหมด 7 สี คือ แดง แสด เหลือง เขียว น้ำเงิน คราม และม่วง ซึ่งเป็นสีที่สามารถมองเห็นได้ แสงสีแดงที่มีความถี่ต่ำที่สุด ถ้าแสงที่ต่ำกว่าแสงสีแดงนั้นจะ เรียกว่า อินฟราเรด (Infrared) และแสงสีม่วงมีความถี่สูงที่สุด ถ้าแสงที่มีความถี่สูงกว่าแสงสีม่วงนั้นจะ เรียกว่า อัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) แสงที่มีความถี่สูงกว่าสีม่วงและต่ำกว่าสีแดงนั้น สายตาของมนุษย์ไม่สามารถมองเห็นได้ ซึ่งแสงสีทั้งหมดนั้นเกิดจาก แสงสี 3 สี คือ สีแดง, สีเขียว, และสีน้ำเงิน ซึ่งทั้ง 3 สีนี้ เป็นแม่สีของแสงซึ่งเมื่อนำมารวมกันแล้วจะทำให้เกิดสีใหม่ขึ้นอีก 3 สี ดังรูปที่ 2.15

ระบบ RGB จะอยู่ภายในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ต่างๆ เช่น กล้องดิจิทัล, จอแสดงผลทั้งในคอมพิวเตอร์และโทรศัพท์, และอุปกรณ์คอมพิวเตอร์ต่างๆ ซึ่งระบบ RGB นี้มีประโยชน์เป็นอย่างมากในปัจจุบัน



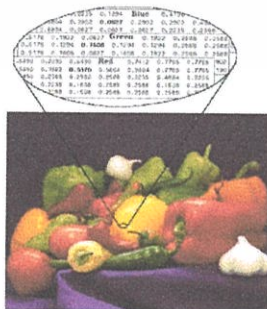
รูปที่ 2.15 RGB และสีเมื่อนำมาผสมกัน

โหมดสีเทา (Grayscale) คือ เป็นโหมดที่มีเพียงแค่สองสี คือ สีขาวและสีดำแต่จะมีระดับความเข้มของสีดำตั้งแต่ 0 - 256 มี 255 ระดับที่รวมกับสีขาวอีกหนึ่งสี ซึ่งในสีขาวและสีดำนี้ก็จะมียัง 256 สี เท่านั้น ดังรูปที่ 2.16

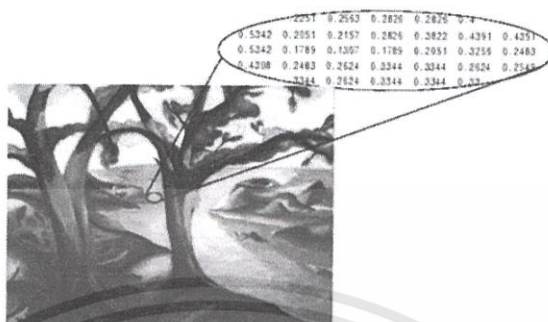


รูปที่ 2.16 ภาพแสดงระดับสีเทา

RGB Image คือ เป็นรูปสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ที่มีการเก็บค่าจุดที่ต้องการสังเกตแยกออกเป็นอาร์เรย์ 3 มิติ คือขนาด  $m \times n \times 3$  ดังภาพที่ 2.17 โดยที่  $m$  คือ มิติของความยาว  $n$  คือ มิติความกว้างของภาพในหน่วยพิกเซลมิติสุดท้าย 3 นั้นคือ ในแต่ละมิติจะเก็บค่าสีแยกกัน คือสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน



Grayscale Image คือ เป็นรูปในระดับสีเทา ซึ่งในแต่ละจุดที่เก็บข้อมูลนั้นจะมีความเข้มแสงของสีแต่ละสีที่แตกต่างกันไป ซึ่งค่าที่เก็บนั้นจะมีค่าอยู่ในช่วงๆหนึ่ง ที่เป็นจุดต้องการสังเกต



รูปที่ 2.18 ค่า Gray scale ในแต่ละจุด [9]

ซึ่งในโหมด Gray scale จะมีการไล่ระดับของสีระหว่างสีขาวและสีดำ ดังรูปที่ 2.18 ซึ่งจะมีค่าในแต่ละพิกเซลหรือความเข้มสีของรูปที่ไม่เท่ากัน ซึ่งในการเปลี่ยนรูปจาก RGB Image เป็น Grayscale Image ในแต่ละพิกเซล โดยสมการ

$$Y = 0.3(R) + 0.59(G) + 0.11(B) \quad (2.1)$$

โดยที่ Y คือ ค่าระดับสีเทาของจุดที่ต้องการสังเกต

R คือ ค่าสีแดงของจุดที่ต้องการสังเกต

G คือ ค่าสีเขียวของจุดที่ต้องการสังเกต

B คือ ค่าสีน้ำเงินของจุดที่ต้องการสังเกต

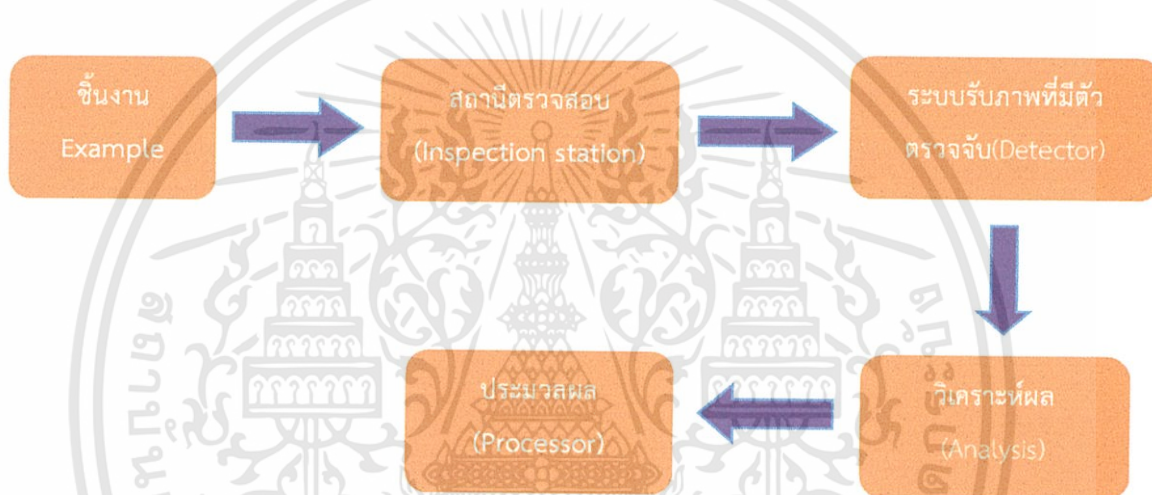
## 2.6 โปรแกรม LabVIEW

Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ใช้เครื่องมือวัดเสมือนจริง หรือ Virtual Instrumentation (VI) เป็นเทคโนโลยีที่จัดการ การวัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยตัวโปรแกรม LabVIEW ประกอบไปด้วยฟังก์ชันการทำงานประเภท GUI (Graphic User Interface) จึงไม่จำเป็นต้องเขียน Code หรือคำสั่งใดๆทั้งสิ้น รวมถึงยังสามารถใช้งานร่วมกับ ฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์อื่นๆได้ดี [10]

### 2.6.1 แมชีนวิชัน

แมชีนวิชัน คือศาสตร์ที่รวมเทคโนโลยีด้านอิเล็กทรอนิกส์และเครื่องจักรกลของระบบอัตโนมัติหรือเมคคาทรอนิกส์ ด้านแสง และด้านซอฟต์แวร์ ในการสร้างระบบตรวจสอบชิ้นงาน ระบบควบคุมอัตโนมัติ หรือระบบวิชันสำหรับหุ่นยนต์ในอุตสาหกรรมโดยใช้การประมวลผลภาพ

ส่วนประกอบหลักโดยตัวของระบบแมชีนวิชันซึ่งประกอบด้วยระบบแสงสว่าง (Lighting) ระบบรับภาพ(Image acquisition) ซอฟต์แวร์ประมวลผลภาพ(Image processing) และตัวกระทำ (Actuator หรือ Manipulator) และในส่วนของ NI Vision จะมีไลบรารีด้านแมชีนวิชันที่ใช้ในการสร้างซอฟต์แวร์ประมวลผลภาพที่มีจุดเด่นคือ ใช้งานง่าย มีเครื่องมือหลากหลายที่ช่วยให้การใช้งานไลบรารีง่ายขึ้น และความสามารถในการใช้งานร่วมกับ LabVIEW ได้โดยตรง [11]

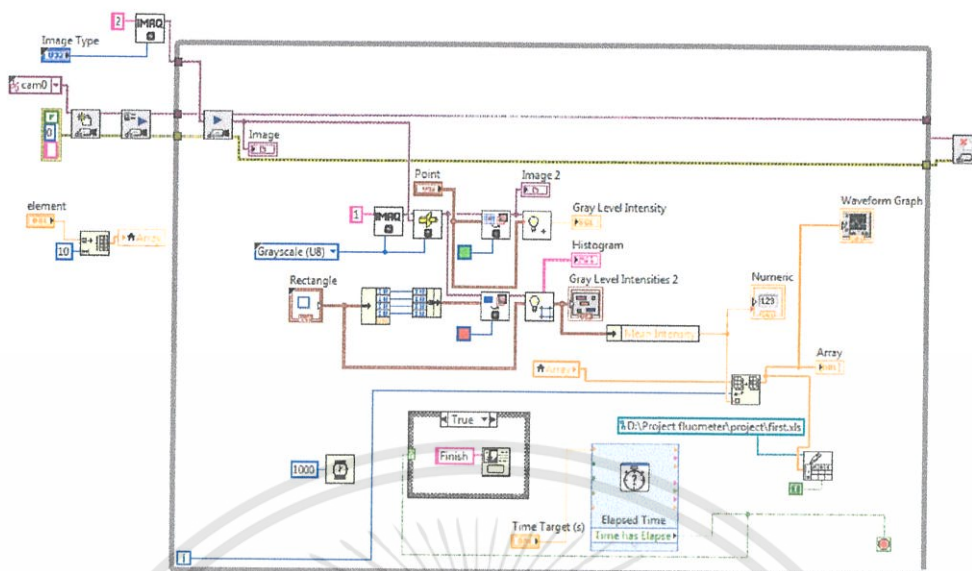


รูปที่ 2.19 แสดงแผนภาพการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม

### 2.6.2 DATA FLOW AND PROGRAMING

LabVIEW เป็นโปรแกรมการเขียนโดยใช้รูปภาพเป็นสัญลักษณ์ในการทำงานต่างๆโดยจะใช้ลักษณะในการเขียนแบบ Block Diagram ซึ่งทำให้ผู้เขียนโปรแกรมสามารถทำความเข้าใจและนำไปพัฒนาใช้ต่อไปได้ และเมื่อเราทำการเขียน Flow chart เสร็จสิ้นก็สามารถนำมาเขียนใน LabVIEW ได้เลยโดยไม่ต้องเขียนโปรแกรมใด ๆ ขึ้นมาก่อนเลย โดยที่จะมี Front Panel ซึ่งเปรียบเสมือนได้กับสิ่งผู้ใช้จะเห็นควบคุมการทำงานผู้ใช้สามารถสร้างรูปแบบได้อย่างรวดเร็ว [12]

พื้นที่ส่วนเขียนโปรแกรมจะเรียกว่า Block Diagram เปรียบเสมือนกับ Hard ware ภายในเครื่องมือวัด โดย LabVIEW เขียนโปรแกรมโดยอาศัยรูปภาพ [12] ดังนี้



รูปที่ 2.20 แสดง Block Diagram ของ LabView

### 2.6.3 ส่วนประกอบต่างๆภายใน LabView [11]

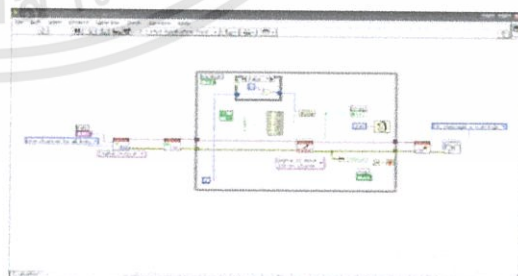
โปรแกรมที่เขียนขึ้นมาโดย LabView เราจะเรียกว่า Virtual Instrument (VI) เนื่องจากลักษณะที่ปรากฏทางจอภาพ เมื่อผู้ใช้เริ่มใช้งานจะเหมือนกับเครื่องมือหรืออุปกรณ์ทางวิศวกรรมในขณะเดียวกันหลังฉากของอุปกรณ์เสมือนจริงเหล่านั้นจะเป็นการทำงานของฟังก์ชัน Subroutines และโปรแกรมหลักเหมือนกับภาษาทั่วไป สำหรับ VI หนึ่งๆ จะประกอบด้วยส่วนประกอบ 3 ส่วนคือ

#### 1. Front Panel

เป็นส่วนที่ใช้สื่อความกันระหว่างผู้ใช้กับโปรแกรม (หรือนิยมเรียก User Interface) โดยทั่วไปมีลักษณะเหมือนกับหน้าปัดของเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่ใช้งานด้านการวัดทั่ว ๆ ไป โดยประกอบด้วยสวิตช์เปิดปิด จอแสดงผล



ก. Front Panel



ข. Block Diagram

รูปที่ 2.21 จอแสดงผลของโปรแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. Block Diagram

เป็นเสมือนกับ Source Code หรือโปรแกรมของ LabVIEW ซึ่งปรากฏอยู่ในรูปของ ภาษา G ซึ่ง Block Diagram นี้ ถือว่าเป็น Executable Program คือสามารถที่จะทำงานได้ทันที และ ส่วนประกอบภายใน Block Diagram นี้ประกอบด้วย ฟังก์ชัน ค่าคงที่ โปรแกรมควบคุมการทำงาน หรือโครงสร้าง จากนั้นในแต่ละส่วนเหล่านี้ ซึ่งจะปรากฏในรูปของ Block เราจะได้รับ การต่อสาย (Wire) สำหรับ Block ที่เหมาะสมเข้าด้วยกัน เพื่อกำหนดลักษณะการไหลของข้อมูลระหว่าง Block เหล่านั้น ทำให้ข้อมูลได้รับการประมวลผลตามที่ต้องการและแสดงออกมาให้แก่ผู้ใช้

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.7.1 Lap-in-a-phone

เครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบพกพาที่ได้นี้เมื่อนำรวมกับคุณลักษณะของโทรศัพท์ที่ใช้งาน ได้ง่ายและมีขนาดที่กะทัดรัด ถูกสร้างโดยใช้เครื่องปริ้นเตอร์แบบ 3 มิติ เครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบ พกพานี้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้สำหรับการวัดค่า pH ของน้ำ โดยเครื่องฟลูออโรมิเตอร์แบบพกพาจะมีตัว กรองสีติดอยู่เพื่อกรองแสงขาวที่จะเข้ากล้อง สำหรับการใช้งานจะมีแอปพลิเคชันเฉพาที่ใช้ตรวจสอบ ซึ่งเมื่อแสงสีเขียวที่ถูกปล่อยออกจะถูกตรวจด้วยกล้อง และแอปพลิเคชันที่ใช้วัดตัวอย่างแสงสีแดง-สี เขียว-สีฟ้า ซึ่งจะมีเซ็นเซอร์ pH ตรวจสอบ ระบบจะถูกนำไปเทียบกับเครื่องสเปคโทรฟลูออโรมิเตอร์ กับเครื่องวัด pH ที่มีอยู่แล้ว

“Lap-in-a-phone”

[Online]. Available: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6916991>

### 2.7.2 Lensless Imaging Device for Digital Counting of Fluorescent Micro-droplet Chambers

เป็นการพัฒนาการเรืองแสงของ lensless ขนาดจิ๋วด้วยอุปกรณ์ถ่ายภาพสำหรับการนับ หยดระดับไมโครแบบดิจิทัล ซึ่งจะพัฒนาและปรับปรุงสิ่งที่เป็นปัญหาให้ดีขึ้น ด้วยวิธี deconvolution

“Lensless Imaging Device for Digital Counting of Fluorescent Micro-droplet Chambers”

[Online]. Available: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6600115>

### 2.7.3 Lasing from Water Solution of Rhodamine 6G/Gold Nanoparticles: Impact of $\text{SiO}_2$ - Coating on Metal Surface

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุภาคของทองที่ฝังตัวอยู่ในออปติคอลลของแกน สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ปัญหาฝ้าเสียโดยใช้ Rhodamine 6G สามารถใช้แสงเลเซอร์เป็นแหล่งกำเนิดแสงในการเพิ่มและลด การเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์พร้อมกันได้ เป็นการศึกษาผลกระทบของ  $\text{SiO}_2$  และประสิทธิภาพที่เคลือบผิวของอนุภาคนาโน และ photobleaching ของการเรืองแสง การตรวจสอบและอธิบายการปรับปรุงเสถียรภาพของอนุภาคนาโนในวัสดุแกน เปรียบเทียบเมื่ออนุภาคของทองเคลือบโดยใช้  $\text{SiO}_2$  ในการเคลือบผิว

“Lasing from Water Solution of Rhodamine 6G/Gold Nanoparticles: Impact of  $\text{SiO}_2$  - Coating on Metal Surface”

[Online]. Available: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=06237475>



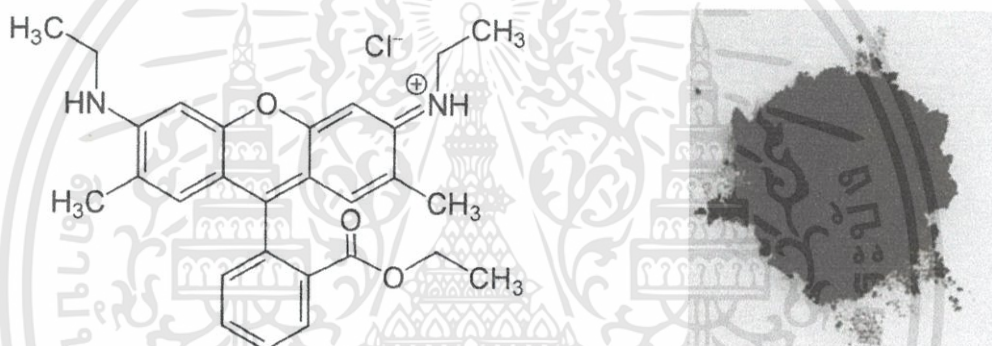
## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาการดูดกลืนและการเปล่งแสงจากสารอินทรีย์โรดามีน 6จี โดยผู้ทำการทดลองได้ออกแบบอุปกรณ์เพื่อทำการวัดความเข้มแสง โดยใช้สมาร์ตโฟนในการถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม แล้วจึงนำไปเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานที่ได้จากเครื่องสเปกโตรมิเตอร์

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์เครื่องมือ

##### 1. โรดามีน 6จี (Rhodamine 6G)



ก. สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารโรดามีน 6จี [1]

ข. ผลึกโรดามีน 6จี

รูปที่ 3.1 สารโรดามีน 6จี

#### คุณสมบัติ

สูตรทางเคมี

$C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$

มวลโมเลกุล

479.02 g/mol

ลักษณะทางกายภาพ

เป็นผลึกของแข็งสีแดงอมน้ำตาล

ความหนาแน่น

1.26 g/cm<sup>3</sup>

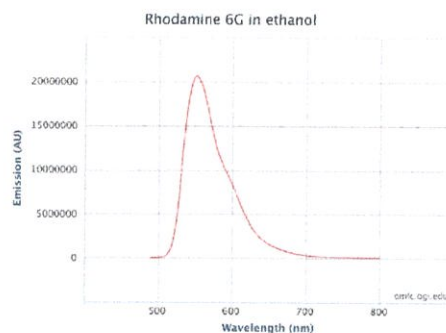
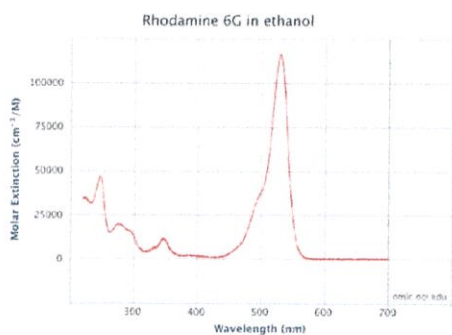
ถูกละลาย

Butanol Ethanol Methanol Propanol MEG DEG TEG  
Isopropanol Ethoxyethanol etc.

ชื่ออื่นๆ

Rhodamine 590 R6G Rh6G C.I. Pigment Red 81 C.I.  
Pigment Red 169 Basic etc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

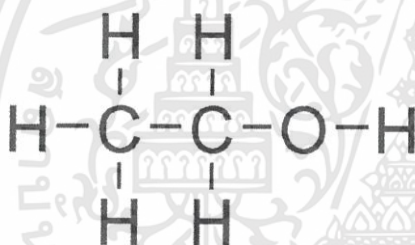


ก. กราฟแสดงการดูดกลืน Absorption

ข. กราฟแสดงการเรืองแสง Fluorescence

รูปที่ 3.2 กราฟแสดงคุณสมบัติของสารโรดามีน 6จี

## 2. สารละลายเอทานอล (Ethanol)



ก. สูตรโครงสร้างทางเคมีของเอทานอล [13]

ข. สารละลายเอทานอล

รูปที่ 3.3 สารละลายเอทานอล

คุณสมบัติ

สูตรทางเคมี

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

มวลโมเลกุล

46.07 g/mol

ลักษณะทางกายภาพ

เป็นของเหลวใส ระเหยง่ายและมีกลิ่นเฉพาะตัว

ความหนาแน่น

0.7893 g/cm<sup>3</sup>

การละลายน้ำ

ละลายได้ดีมาก

จุดเยือกแข็ง

-114.1 °C

จุดเดือด

78.32 °C

จุดวาบไฟ

14 °C

อุณหภูมิ

243.1 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. คิวเวทท์ (Cuvette)



รูปที่ 3.4 ลักษณะคิวเวทท์

ลักษณะ	เป็นแท่งสี่เหลี่ยม
สี	ไม่มีสี
ขนาด	12.5x12.5x45 mm
สร้างจาก	พลาสติก

### 4. เครื่องตรวจจับ (Detector)



ก. กล้องดิจิทัลไมโครสโคป

ข. กล้องเว็บแคม

รูปที่ 3.5 เครื่องตรวจจับ

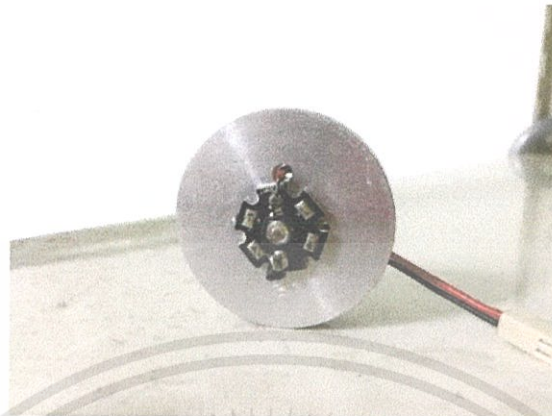
#### คุณสมบัติ

ความละเอียด	5 ล้าน Pixels
เซ็นเซอร์รับภาพ	CMOS sensor
รูปภาพ	JPG.
Interface	USB2.0
ระยะ Focus	~ 40 mm
ขนาด	112 mm (L) x 33 mm (R)

#### คุณสมบัติ

ความละเอียด	10 ล้าน Pixels
เซ็นเซอร์รับภาพ	CMOS sensor
รูปภาพ	JPG.
Interface	USB2.0

## 5. แหล่งกำเนิดแสง (LED)



รูปที่ 3.6 แหล่งกำเนิดแสง

คุณสมบัติ

สี

แสงสีเขียว

ความยาวคลื่น

500-565 nm

ใช้แรงดันไฟ

DC 2-4V

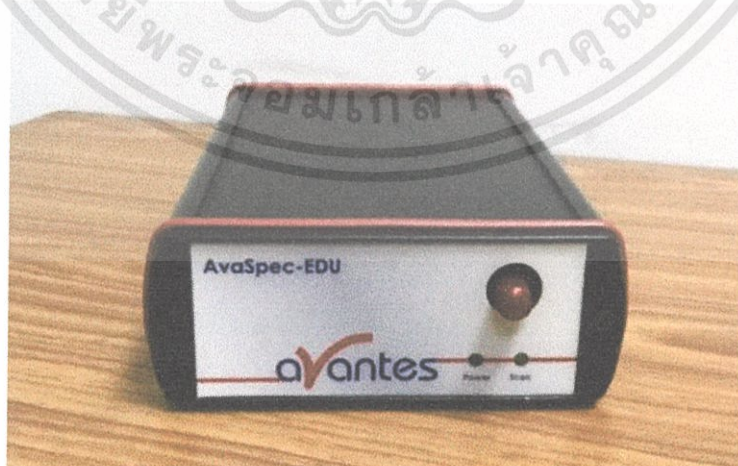
ใช้กระแสไฟ

350mA

ใช้กำลัง

3 Watt

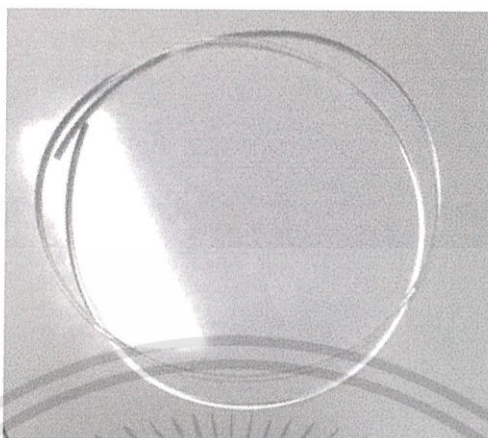
## 6. เครื่อง spectrometer [15]



รูปที่ 3.7 เครื่องสเปกโตรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 7. เส้นใยแก้วนำแสง (Fiber Optic Cable) [16]



รูปที่ 3.8 สายใยแก้วนำแสง

สายใยแก้วนำแสง คือ สายนำสัญญาณข้อมูลที่ใช้หลักการทางแสง กล่าวคือ ใช้กับสัญญาณข้อมูลที่อยู่ในรูปของคลื่นแสงเท่านั้นตัวแก้วนำแสงอาจทำจากแก้วหรือพลาสติก โดยสัญญาณข้อมูลจะถูกเปลี่ยนเป็นคลื่นแสงแล้วจึงส่งผลให้เกิดการเดินทางสะท้อนภายในสายใยแก้วเรื่อยไปจนถึงผู้รับที่ปลายทาง การเดินทางของแสงดังกล่าวเป็นแบบการสะท้อนกลับหมดของแสง

### 3.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer



รูปที่ 3.9 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 การเตรียมสารละลาย

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาการดูดกลืนและเปล่งแสงของสารเรืองแสงโรดามีน 6 จี

ขั้นตอนการดำเนินการ :

1. กำหนดค่าความเข้มข้นของสารละลายโรดามีน 6 จี ทั้งหมด 45 ตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3} \text{ M} - 9 \times 10^{-7} \text{ M}$  ตามลำดับ

2. เตรียมสารละลายโรดามีน 6 จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-2} \text{ M}$  ปริมาตร 30 ml โดยคำนวณปริมาตรของสารโรดามีน 6 จี จากสูตรมวลโมเลกุล เมื่อโรดามีน 6 จี มีค่ามวลโมเลกุล 4.7902

$$\text{จาก } \text{mol} = \frac{g}{M_w} \longrightarrow g = \text{mol} \times M_w$$

$$g = 1 \times 10^{-2} \times 4.790$$

$$g = 4.7902 \text{ กรัม}$$

ถ้าสารละลาย  $1 \times 10^{-2}$  ปริมาตร 1000 ml ต้องใส่ R6G 4.7902 กรัม

ถ้าสารละลาย  $1 \times 10^{-2}$  ปริมาตร 30 ml ต้องใส่ R6G  $\frac{30 \text{ ml} \times 4.7902}{1000 \text{ ml}} = 0.1437$  กรัม

3. นำสารโรดามีน 6 จี ปริมาตร 0.1437 กรัม ใส่ในปิ๊กเกอร์ขนาด 40 ml จากนั้นเติมสารละลายเอทานอลปริมาตร 30 ml จะได้สารละลายโรดามีน 6 จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-2} \text{ M}$  ปริมาตร 30 ml

4. เจือจางสารละลายโรดามีน 6 จี ให้ได้ความเข้มข้นตามกำหนดไว้ โดยใช้สูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$

4.1 เจือจางสารละลายโรดามีน 6 จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-2} \text{ M}$  ให้กลายเป็นสารละลายโรดามีน 6 จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$  ปริมาตร 30 ml

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$1 \times 10^{-2} \times V_1 = 1 \times 10^{-3} \times 30$$

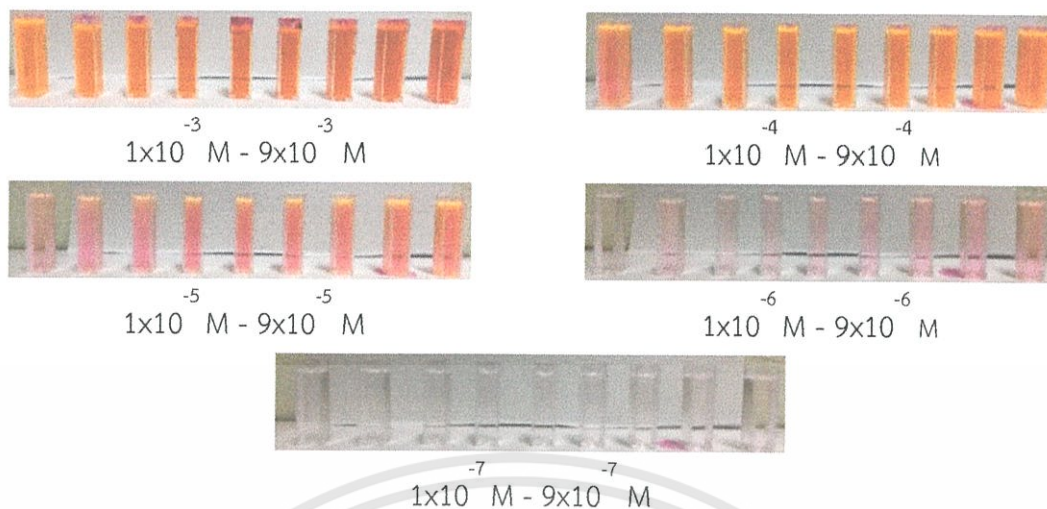
$$V_1 = \frac{1 \times 10^{-2} \times 30}{1 \times 10^{-3}}$$

$$V_1 = 3 \text{ ml}$$

จากนั้น นำสารละลายโรดามีน 6 จี ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-2} \text{ M}$  ปริมาตร 3 ml มาใส่ในปิ๊กเกอร์ขนาด 40 ml แล้วใส่สารละลายเอทานอลปริมาตร 27 ml จะได้สารละลายโรดามีน 6 จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$  ปริมาตร 30 ml

4.2 ทำการเจือจางสารละลายโรดามีน 6 จี ให้ครบทุกค่าความเข้มข้นที่กำหนด

5. เมื่อได้สารละลายโรดามีน 6 จี ตามที่กำหนดแล้วนำสารแต่ละความเข้มข้นมาใส่ในคิวเวทท์ คิวเวทท์ละ 4 ml จะได้สารละลายดังรูป 3.10



รูปที่ 3.10 ภาพแสดงความเข้มข้นของสารละลายในช่วง  $1 \times 10^{-3} \text{ M} - 9 \times 10^{-7} \text{ M}$

6. นำสารละลายที่ได้มาถ่ายภาพด้วยชุดอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นมา จะได้รูปดังตารางที่ 3.1 ตารางที่ 3.1 แสดงรูปที่ได้จากการถ่ายภาพด้วยชุดอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (M)	(รูปภาพ)
1	$9 \times 10^{-3}$	
2	$8 \times 10^{-3}$	
3	$7 \times 10^{-3}$	
4	$6 \times 10^{-3}$	
5	$5 \times 10^{-3}$	
6	$4 \times 10^{-3}$	
7	$3 \times 10^{-3}$	
8	$2 \times 10^{-3}$	
9	$1 \times 10^{-3}$	
10	$9 \times 10^{-4}$	
11	$8 \times 10^{-4}$	
12	$7 \times 10^{-4}$	
13	$6 \times 10^{-4}$	
14	$5 \times 10^{-4}$	
15	$4 \times 10^{-4}$	
16	$3 \times 10^{-4}$	

17	$2 \times 10^{-4}$	
18	$1 \times 10^{-4}$	
19	$9 \times 10^{-5}$	
20	$8 \times 10^{-5}$	
21	$7 \times 10^{-5}$	
22	$6 \times 10^{-5}$	
23	$5 \times 10^{-5}$	
24	$4 \times 10^{-5}$	
25	$3 \times 10^{-5}$	
26	$2 \times 10^{-5}$	
27	$1 \times 10^{-5}$	
28	$9 \times 10^{-6}$	
29	$8 \times 10^{-6}$	
30	$7 \times 10^{-6}$	
31	$6 \times 10^{-6}$	
32	$5 \times 10^{-6}$	
33	$4 \times 10^{-6}$	
34	$3 \times 10^{-6}$	
35	$2 \times 10^{-6}$	
36	$1 \times 10^{-6}$	
37	$9 \times 10^{-7}$	
38	$8 \times 10^{-7}$	
39	$7 \times 10^{-7}$	
40	$6 \times 10^{-7}$	
41	$5 \times 10^{-7}$	
42	$4 \times 10^{-7}$	
43	$3 \times 10^{-7}$	
44	$2 \times 10^{-7}$	
45	$1 \times 10^{-7}$	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

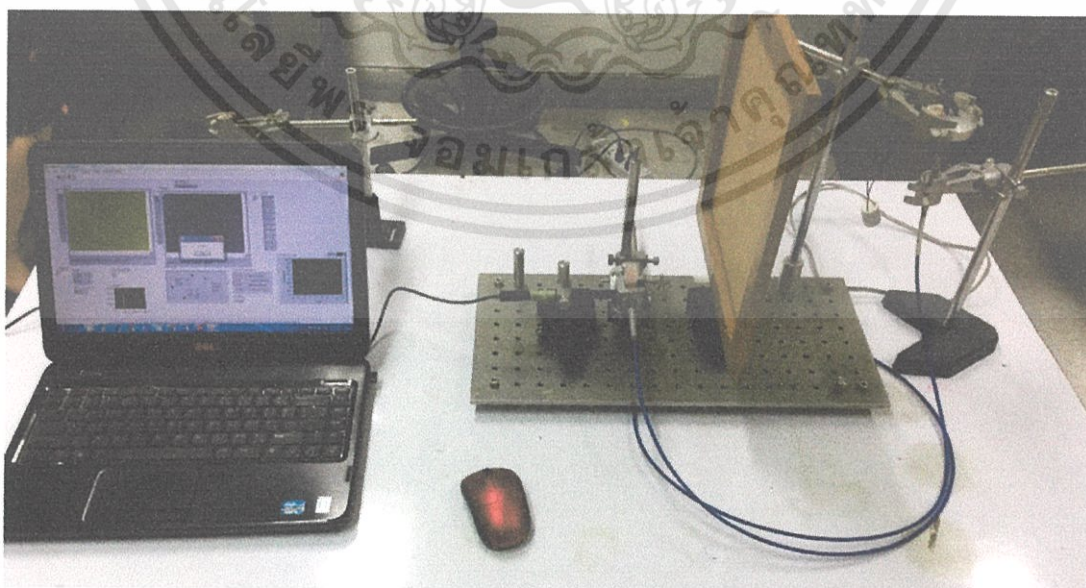
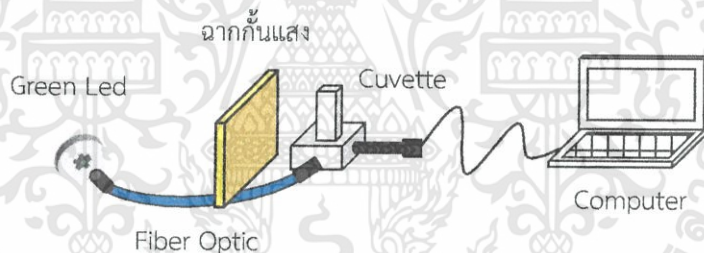
### 3.3.2 การจัดเตรียมอุปกรณ์ในการวัด

วัตถุประสงค์ : เพื่อจำลองการทดลองโดยทำการทดลองในห้องมืด

ขั้นตอนในการดำเนินการทดลอง

1. นำกล้องดิจิตอลไมโครสโคปมาติดกับฐานวางกล้องจากนั้นยึดกล้องกับตัวฐานเพื่อไม่ให้กล้องสามารถขยับได้
2. ติดตั้งฐานวางควิเวทท์โดยให้ปากลำกล้องเข้าไปในตัวฐานควิเวทท์และต่อเส้นใยแก้วนำแสงเพื่อนำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงแอลอีดีไปยังฐานวางควิเวทท์
3. จัดตั้งอุปกรณ์โดยให้แหล่งกำเนิดแสงกับกล้องทำมุม  $90^{\circ}$  เพื่อให้เป็นไปตามหลักการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ จะได้ระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ดังภาพที่ 3.11 แผนภาพระบบในการทดลอง
4. ต่อพ็อดยูเอสบีของกล้องดิจิตอลไมโครสโคปกับคอมพิวเตอร์และเปิดโปรแกรมแลปวิวที่เขียนไว้

ระบบที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ 3.11 แผนภาพระบบในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3 ทำการทดลองระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์

วัตถุประสงค์ : เพื่อทดสอบระบบที่จัดทำขึ้นโดยทำการทดลองในห้องมืด

ขั้นตอนในการดำเนินการทดลอง

1. นำสารละลายโรดามีน 6จี ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.1 มาใส่ในฐานวางคิวเวทท์แล้วจากนั้นปิดไฟเพื่อทำเป็นห้องมืด
2. ใช้กล้องดิจิทัลไมโครสโคปในการถ่ายภาพปรับระยะโฟกัสของกล้องให้เหมาะแก่การทดลองจากนั้นห้ามปรับระยะโฟกัสอีก
3. ทำการถ่ายภาพสารละลายโรดามีน 6จี โดยเริ่มที่ความเข้มข้นจากมากที่สุด ( $9 \times 10^{-7}$ ) ไปหาน้อยที่สุด ( $1 \times 10^{-3}$ ) ตามลำดับ
4. วิเคราะห์และบันทึกผลการทดลอง

### 3.4 ออกแบบกล่องชุดการทดลอง

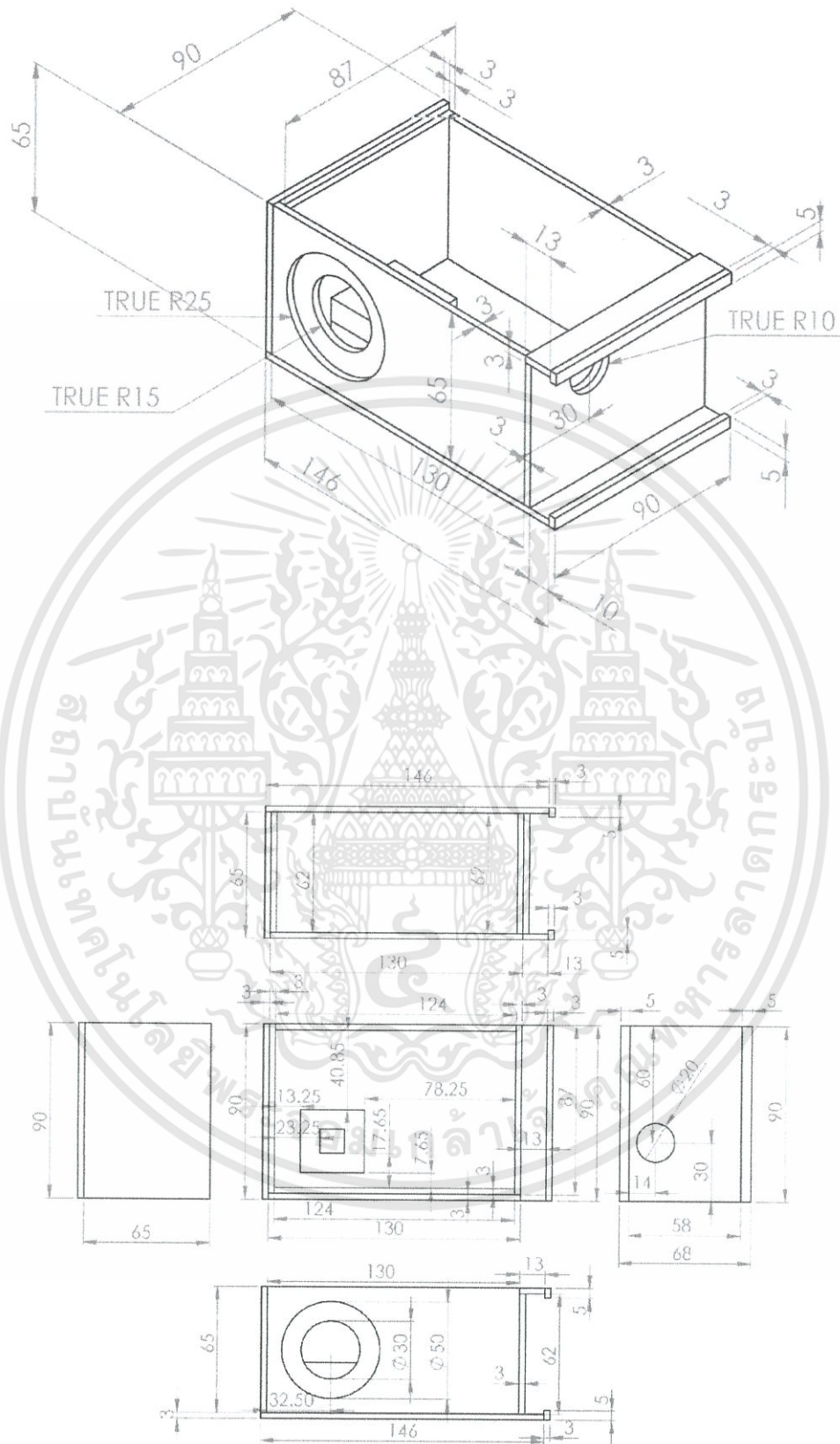
วัตถุประสงค์ : เพื่อให้ได้ชุดการทดลองที่ใช้ในการทดลองแบบใหม่

ขั้นตอนในการดำเนินการทดลอง

ชุดการทดลอง ชุดที่ 1

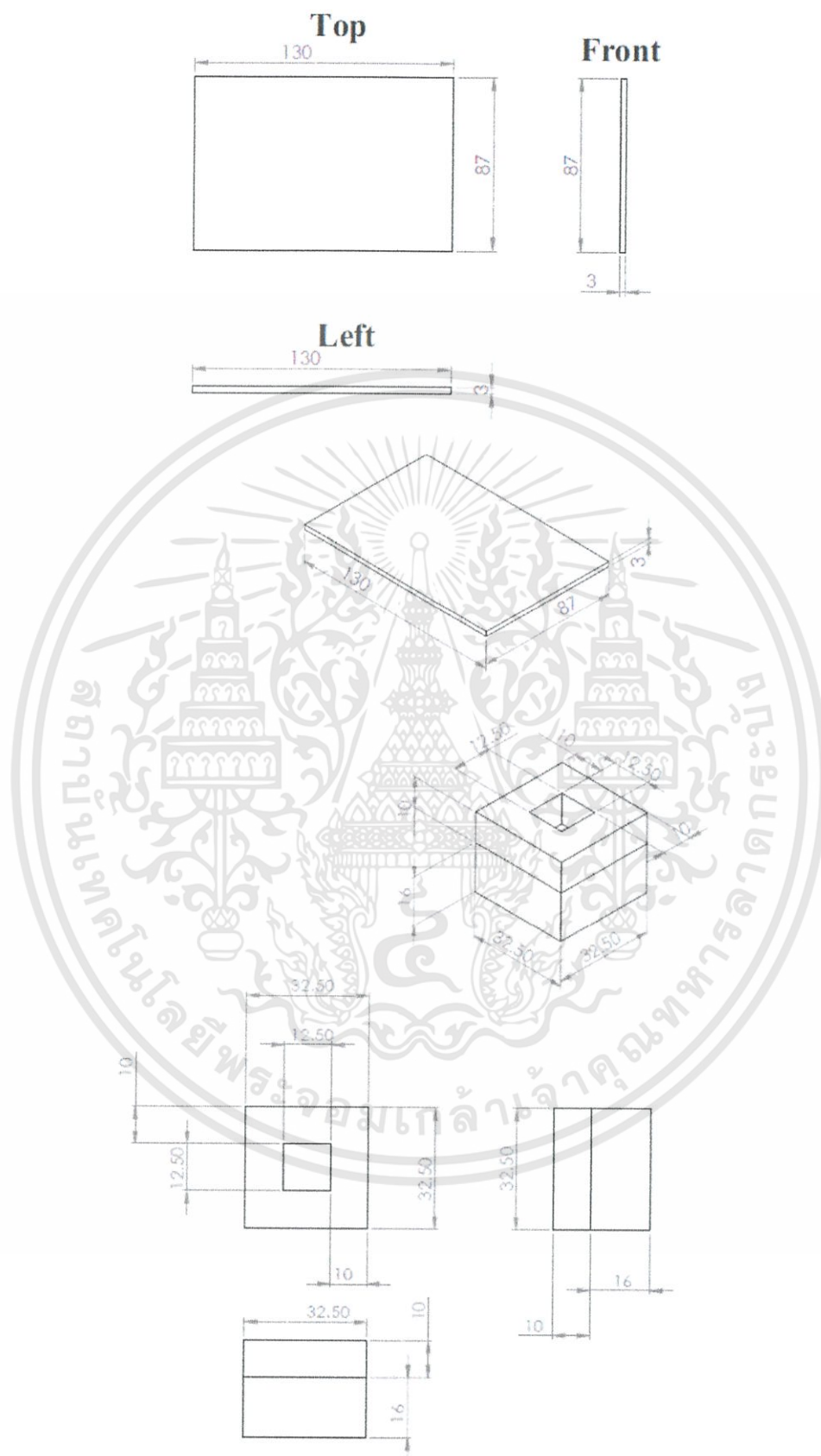
1. ออกแบบกล่องชุดเครื่องมือโดยเลือกวัสดุเป็นพลาสติกอะคริลิกสีดำเพื่อให้กล่องมีลักษณะเป็นกล่องสีดำทึบ เพื่อลดการดูดกลืนแสงของสารและลดการสะท้อนของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น
2. ออกแบบกล่องชุดเครื่องมือโดยจัดวางแท่นใส่คิวเวทท์ให้อยู่กับที่และห่างจากแท่นจับวางโทรศัพท์เป็นระยะที่โทรศัพท์สามารถโฟกัสได้
3. ออกแบบแท่นใส่คิวเวทท์โดยจัดให้ช่องทางเข้าของแหล่งกำเนิดแสงตั้งฉากกับช่องทางออกของแสงเพื่อป้องกันไม่ให้มีแสงจากแหล่งกำเนิดแสงไปตกกระทบที่ตัวตรวจวัด เนื่องจากเราต้องการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ถูกคายออกมาเท่านั้น ซึ่งเป็นไปตามหลักการของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ที่ใช้วัดความเข้มข้นของสารจากการเปล่งแสงของฟลูออเรสเซนซ์

จากที่กล่าวมาข้างต้น โปรแกรมที่ใช้ในการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดเครื่องมือ คือ โปรแกรม Solid Work สเกลที่ใช้ 1:1 Unit: mm ดังรูป



รูปที่ 3.12 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



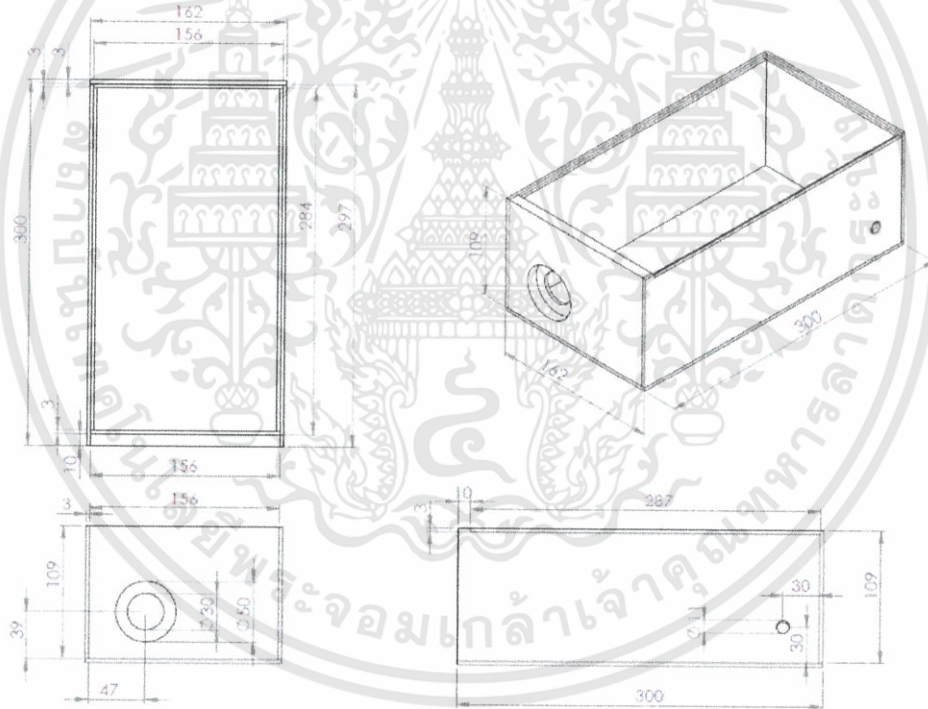
รูปที่ 3.13 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 1 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

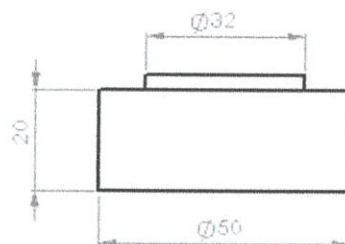
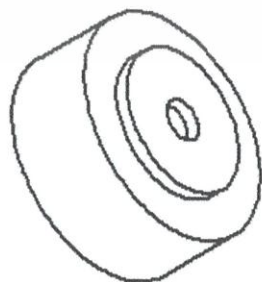
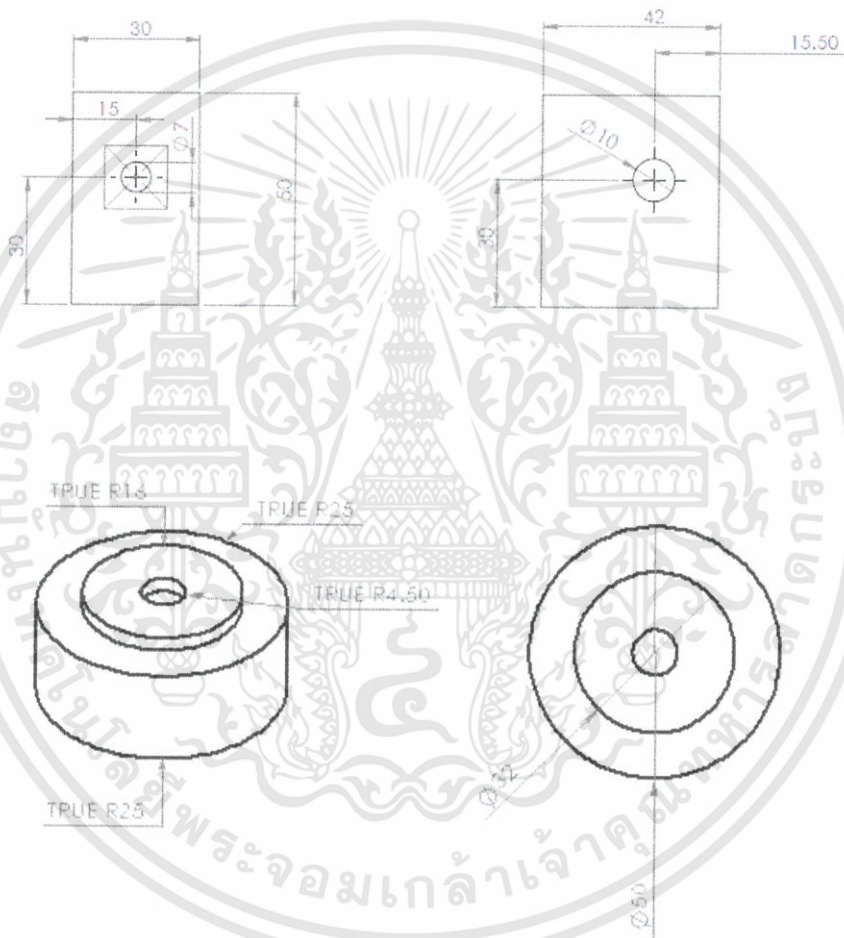
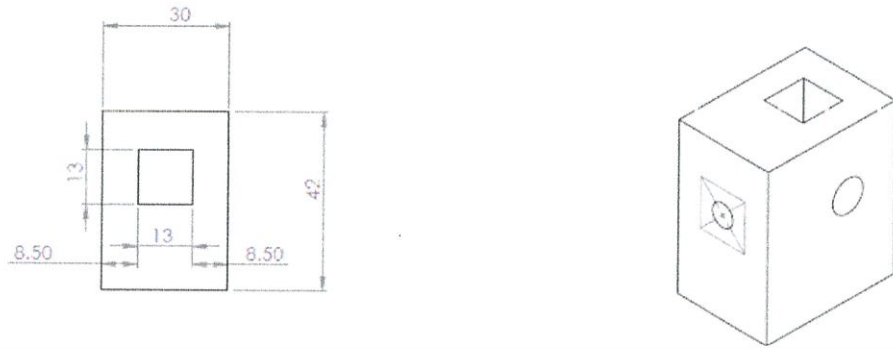
## ชุดการทดลอง ชุดที่ 2

1. ออกแบบกล่องชุดเครื่องมือโดยเลือกวัสดุเป็นพลาสติกอะคริลิกสีดำเพื่อให้กล่องมีลักษณะเป็นกล่องสีดำด้านทึบ เพื่อลดการดูดกลืนแสงของสารและลดการสะท้อนของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น
2. ออกแบบกล่องชุดเครื่องมือโดยจัดวางแท่นใส่ควิเวทท์ให้อยู่ชิดกับกล่องดิจิตอลไมโครสโคป และมีช่องว่างสำหรับใส่สายไฟเบอร์ออปติกและแท่นวางไฟเบอร์ออปติก
3. ออกแบบแท่นใส่ควิเวทท์โดยจัดให้ช่องทางเข้าของแหล่งกำเนิดแสงตั้งฉากกับช่องทางออกของแสงเพื่อป้องกันไม่ให้มีแสงจากแหล่งกำเนิดแสงไปตกกระทบที่ตัวตรวจวัด เนื่องจากเราต้องการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ถูกคายออกมาเท่านั้น ซึ่งเป็นไปตามหลักการของเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ที่ใช้วัดความเข้มข้นของสารจากการเปล่งแสงของฟลูออเรสเซนซ์

จากที่กล่าวมาข้างต้น โปรแกรมที่ใช้ในการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดเครื่องมือ คือ โปรแกรม Solid Work สเกลที่ใช้ 1:1 Unit: mm ดังรูปที่ 3.14



รูปที่ 3.14 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 2



รูปที่ 3.15 แสดงการออกแบบและเขียนแบบกล่องชุดการทดลอง ชุดที่ 2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของสถาบันเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำออกเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

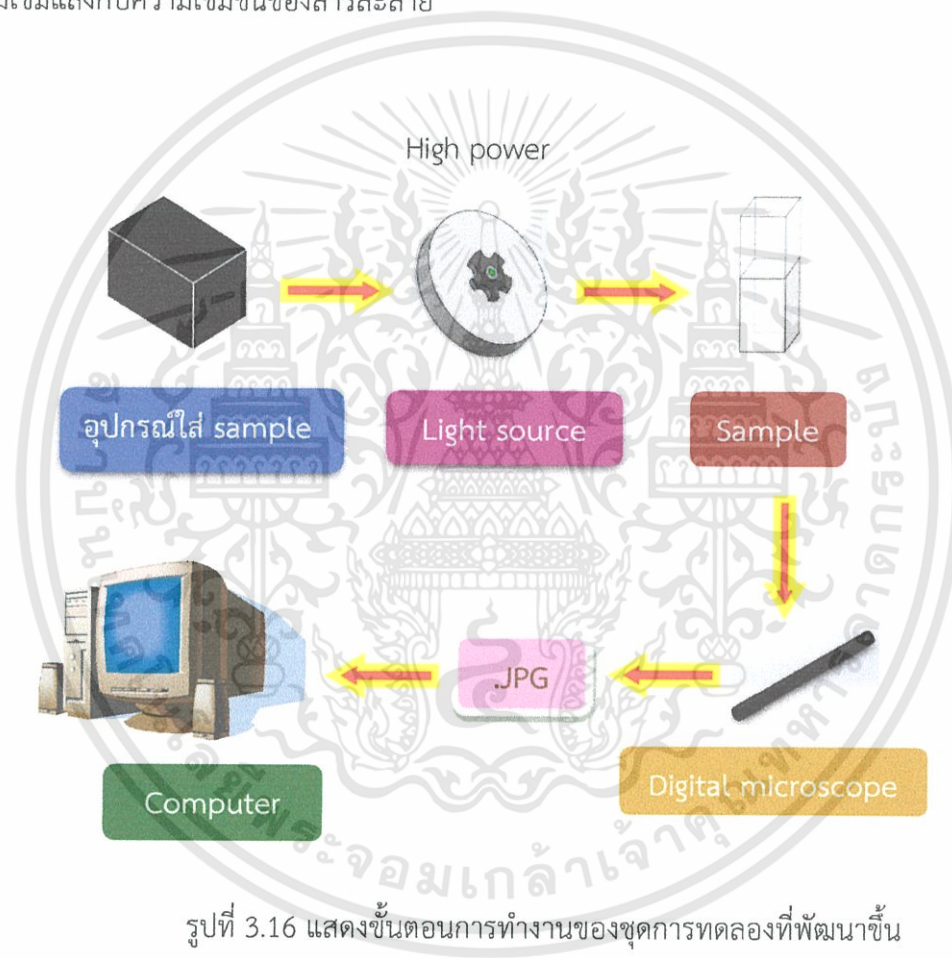
### 3.5 การทดสอบชุดการทดลองที่พัฒนาขึ้น

วัตถุประสงค์ : เพื่อวัดค่าความเข้มข้นของสารละลายโรดามีน 6จี ด้วยชุดการทดลองที่พัฒนาขึ้น

ขั้นตอนในการดำเนินการทดลอง

1. จัดเตรียมอุปกรณ์ดังรูปที่ 3.14
2. นำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม LabView
3. นำค่าที่ผ่านการวิเคราะห์จากโปรแกรม LabView มาพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง

ความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย



### 3.6 การประมวลผลภาพ [11]

#### 1. การวิเคราะห์ภาพ

การวิเคราะห์ภาพ (Image analysis) เป็นการนำเอาเทคนิคต่าง ๆ มาใช้เพื่อวิเคราะห์หาผลค่าสถิติในภาพนั้น ๆ โดยใช้การประเมินคุณภาพเครื่องมือในการรับภาพ หรือปัญหาในการประยุกต์ใช้งานเครื่องมืออื่น ๆ หรือเพื่อใช้ในการตรวจสอบหาค่าต่าง ๆ

## 2. หาดำแหน่งที่ดีที่สุด

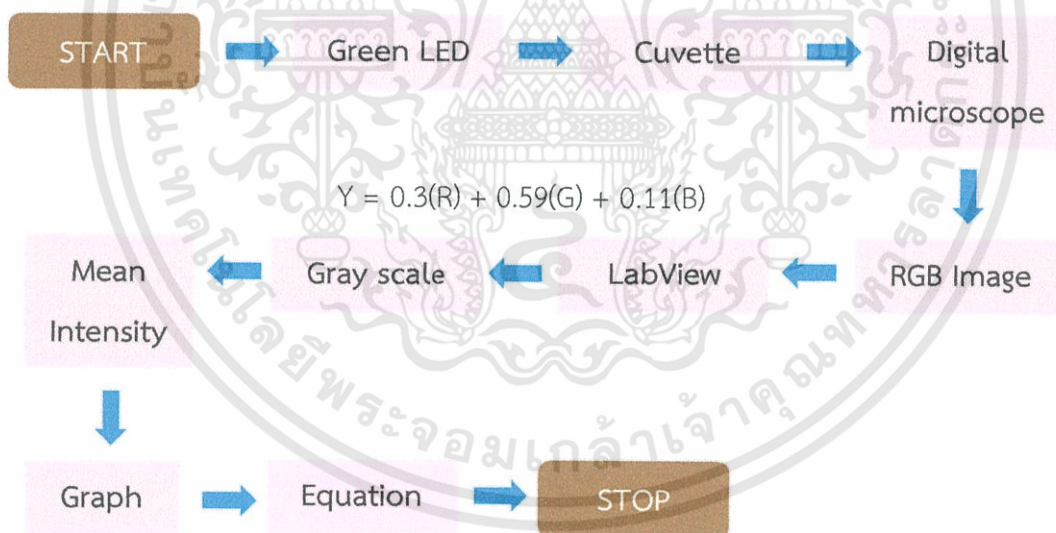
สำหรับการหาค่าความเข้มแสงโดยใช้โปรแกรม LabView ในการวิเคราะห์หรือประมวลผลหาตำแหน่งที่ดีที่สุดของตัวอย่างสารละลายโรดามีน 6จี เมื่อพบตำแหน่งที่ดีที่สุดแล้วจึงทำการทดลองหรือประมวลผลในตำแหน่งนั้น ๆ โดยเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของสารละลายโรดามีน 6จี ในแต่ละความเข้มข้น

## 3. ROI

บริเวณที่สนใจ (Region of Interest) หรือ ROI เป็นบริเวณของภาพต่างๆที่สนใจวิเคราะห์หาค่าความเข้มแสง โดยใช้ฟังก์ชัน ROI เข้ามาช่วยในการวิเคราะห์เพื่อกำหนดขอบเขตของการค้นหาฟีเจอร์ (Feature) ต่าง ๆ ในภาพ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการประมวลผลกับเทคนิคต่าง ๆ ได้อีกมากมาย

## 4. ค่าความเข้มแสง

เป็นการวัดค่าทางสถิติของค่าระดับเทาในบริเวณต่างๆในภาพ โดยค่าทางสถิติซึ่งเป็นพารามิเตอร์ความหนาแน่นความเข้มแสง (Densitometry parameters) ซึ่งประกอบไปด้วยค่าความเข้มแสงต่ำสุด ความเข้มแสงสูงสุด ความเข้มแสงเฉลี่ย



รูปที่ 3.17 แสดงลำดับขั้นตอนในระบบ

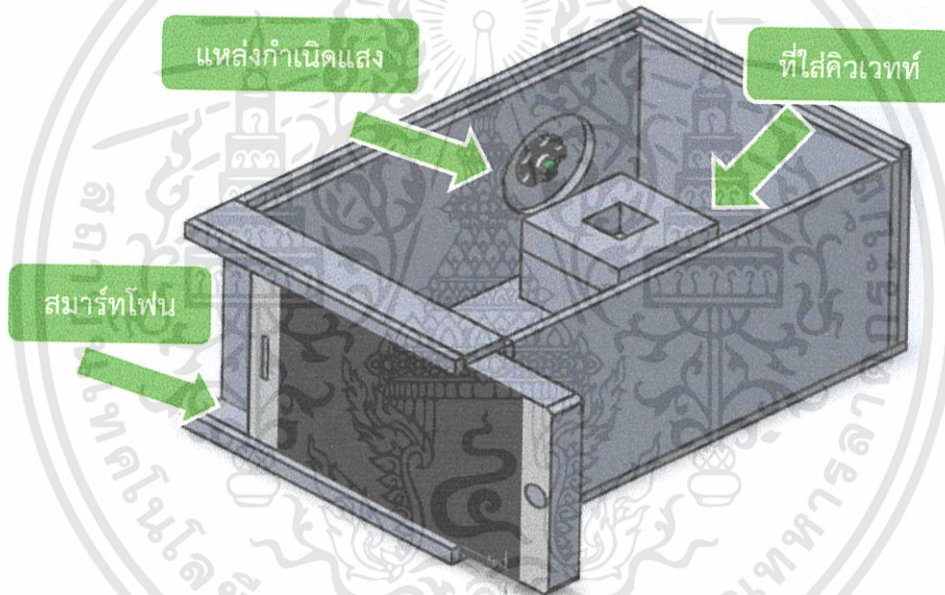
## บทที่ 4

# ผลการวิจัยและการอภิปราย

### 4.1 ผลการออกแบบชุดการทดลอง

#### 4.1.1 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 1

ผู้ทำการทดลองได้ออกแบบและสร้างชุดการทดลอง ตามรายละเอียดที่แสดงในรูปที่ 4.1 โดยใช้โปรแกรม SolidWorks ในการออกแบบและจำลองภาพชุดการทดลอง และได้ชุดการทดลองดังรูปที่ 4.2 เพื่อนำมาใช้ในการถ่ายภาพแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้นค่าต่าง ๆ โดยชุดการทดลองที่จัดทำสร้างจากวัสดุอะคริลิกสีดำเงามัน



รูปที่ 4.1 ภาพจำลองชุดการทดลองครั้งที่ 1



รูปที่ 4.2 ผลการออกแบบชุดการทดลองที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.1.1.1 ผลการทดลองด้วยชุดการทดลองครั้งที่ 1 โดยใช้กล้องสมาร์ทโฟน

iPhone 5s

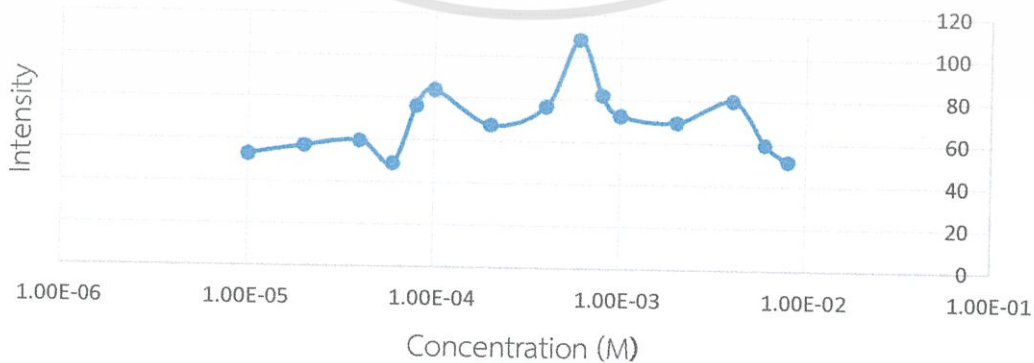
เมื่อเราทำการทดลองวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมาจากสารละลายโรดามีน 6จี ที่จัดเตรียมตามหัวข้อ 3.3.1 จากการทดลองด้วยชุดการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าได้ภาพที่มีการสะท้อนของสารตัวอย่างทำให้ภาพแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ไม่มีความสม่ำเสมอ ดังรูปที่ 4.3 เนื่องจากชุดการทดลองครั้งที่ 1 สร้างจากวัสดุอะคริลิกสีดำเงามันส่งผลให้เราต้องทำการเลือกตำแหน่ง ROI ของภาพเองซึ่งการเลือกตำแหน่ง ROI ในแต่ละครั้งนั้นไม่สามารถเลือกให้อยู่ในบริเวณตำแหน่งเดิมได้ตลอดจึงทำให้ได้ค่าที่ไม่แน่นอน รวมถึงแสงจากแหล่งกำเนิดมีการกระจายตัวทุกทิศทางและไม่เป็นลำ และเมื่อเราเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration ดังรูปที่ 4.4 พบว่ากราฟมีแนวโน้มไม่เป็นไปตามกราฟทฤษฎีและข้อมูลมีการกระจายตัวที่ค่อนข้างสูงส่งผลให้ชุดการทดลองครั้งที่ 1 ไม่มีความน่าเชื่อถือ นอกจากนี้การใช้กล้องสมาร์ทโฟนยังไม่สามารถควบคุมการโฟกัสของกล้องได้อีกด้วย จึงนำไปสู่การสร้างชุดการทดลองในลำดับถัดไป

ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$



รูปที่ 4.3 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 1

### กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration

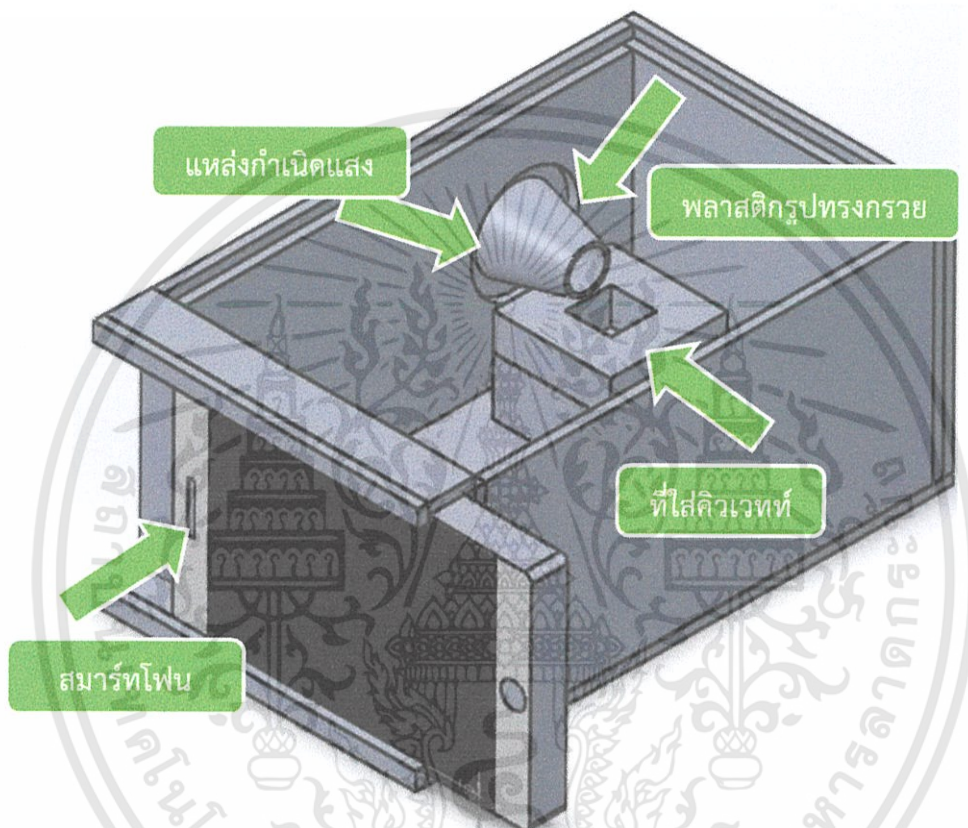


รูปที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้เผยแพร่เห็นประโยชน์ของการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.2 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 2

ในชุดการทดลองครั้งที่ 2 นี้มีลักษณะเหมือนกับชุดการทดลองครั้งที่ 1 แต่เพิ่มพลาสติก รูปทรงกรวยมาช่วยในการบีบแสงLED ให้เป็นลำยิ่งขึ้น แต่ยังคงใช้กล้องสมาร์ทโฟน iPhone 5s เป็นตัวตรวจจับภาพแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยผู้ทำการทดลองได้ออกแบบและสร้างชุดการทดลอง ตามรายละเอียดที่แสดงในรูปที่ 4.5



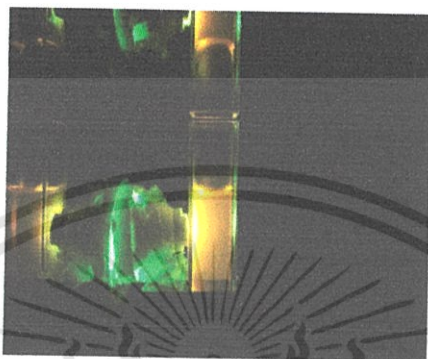
รูปที่ 4.5 ภาพจำลองชุดการทดลองครั้งที่ 2

##### 4.1.2.2 ผลการทดลองครั้งที่ 2 ใช้พลาสติกรูปทรงกรวยบีบแสงให้กับLED

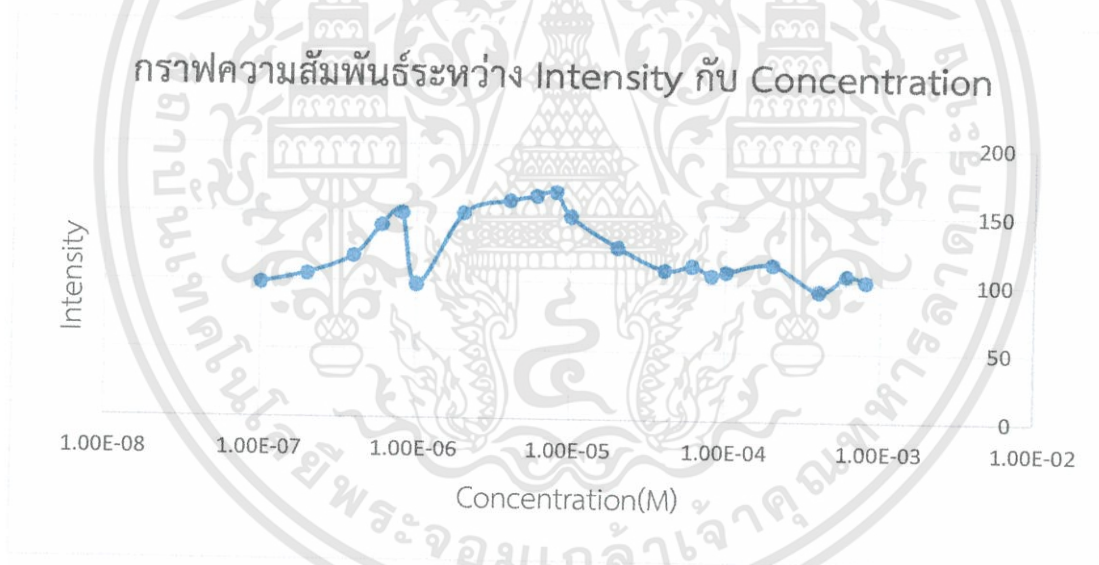
เมื่อเราทำการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จี ที่เปล่งออกมาจากสารละลายโรดามีน 6จี ที่จัดเตรียมตามหัวข้อ 3.3.1 จากการทดลองด้วยชุดการทดลองครั้งที่ 1 โดยใช้ พลาสติกรูปทรงกรวยมาช่วยบีบแสงให้กับLED ซึ่งมีลักษณะดังภาพแบบจำลองดังรูปที่ 4.5 และดังรูปที่ 4.6 โดยในชุดการทดลองนี้จะประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดแสงLED สีเขียว สมาร์ทโฟนโดยเราจะใช้กล้องโทรศัพท์สมาร์ทโฟนเป็นตัวจับภาพแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมากจากสารละลายโรดามีน 6จี ที่ใส่คิวเวทท์ และพลาสติกรูปทรงกรวย จากการทดลองพบว่ายังได้ภาพที่มีการสะท้อนของสารละลายตัวอย่างอยู่และแสงจากแหล่งกำเนิดมีการกระจายที่ลดลงเนื่องจากแสงถูกบีบให้เป็นลำมากขึ้น และภาพแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอมากขึ้น และเมื่อเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration ดังรูปที่ 4.7 พบว่ากราฟมีแนวโน้มที่ดีขึ้นแต่ยัง

ไม่เป็นไปตามกราฟทฤษฎีและข้อมูลมีการกระจายตัวที่ลดลง แต่ชุดการทดลองครั้งที่ 1 ยังคงไม่มีความน่าเชื่อถือ นอกจากนี้การใช้กล้องสมาร์ทโฟนยังไม่สามารถควบคุมการโฟกัสของกล้องได้จึงนำไปสู่การสร้างชุดการทดลองในลำดับถัดไป

ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$



รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 2 โดยใช้พลาสติกรูปทรงกรวยบีบแสงให้กับLED

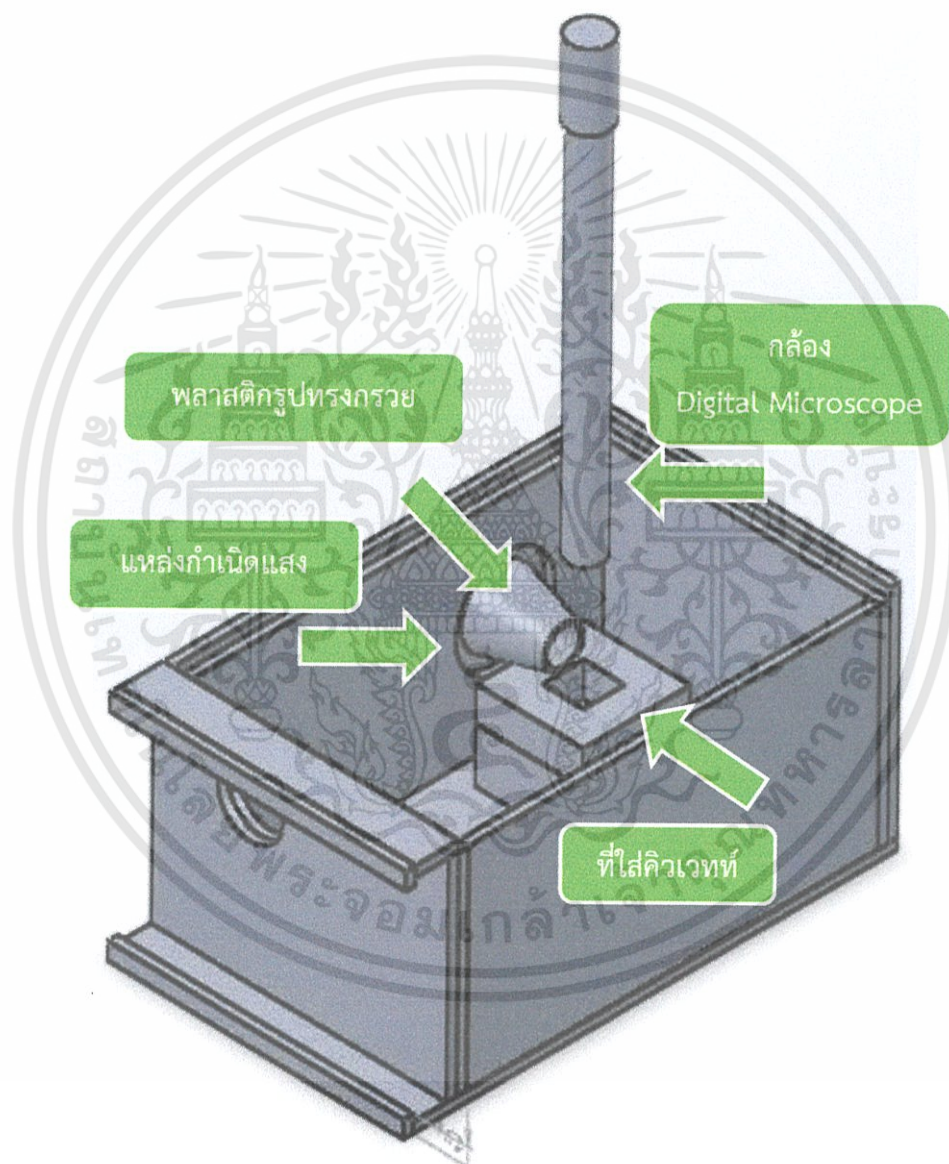


รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.1.3 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 3

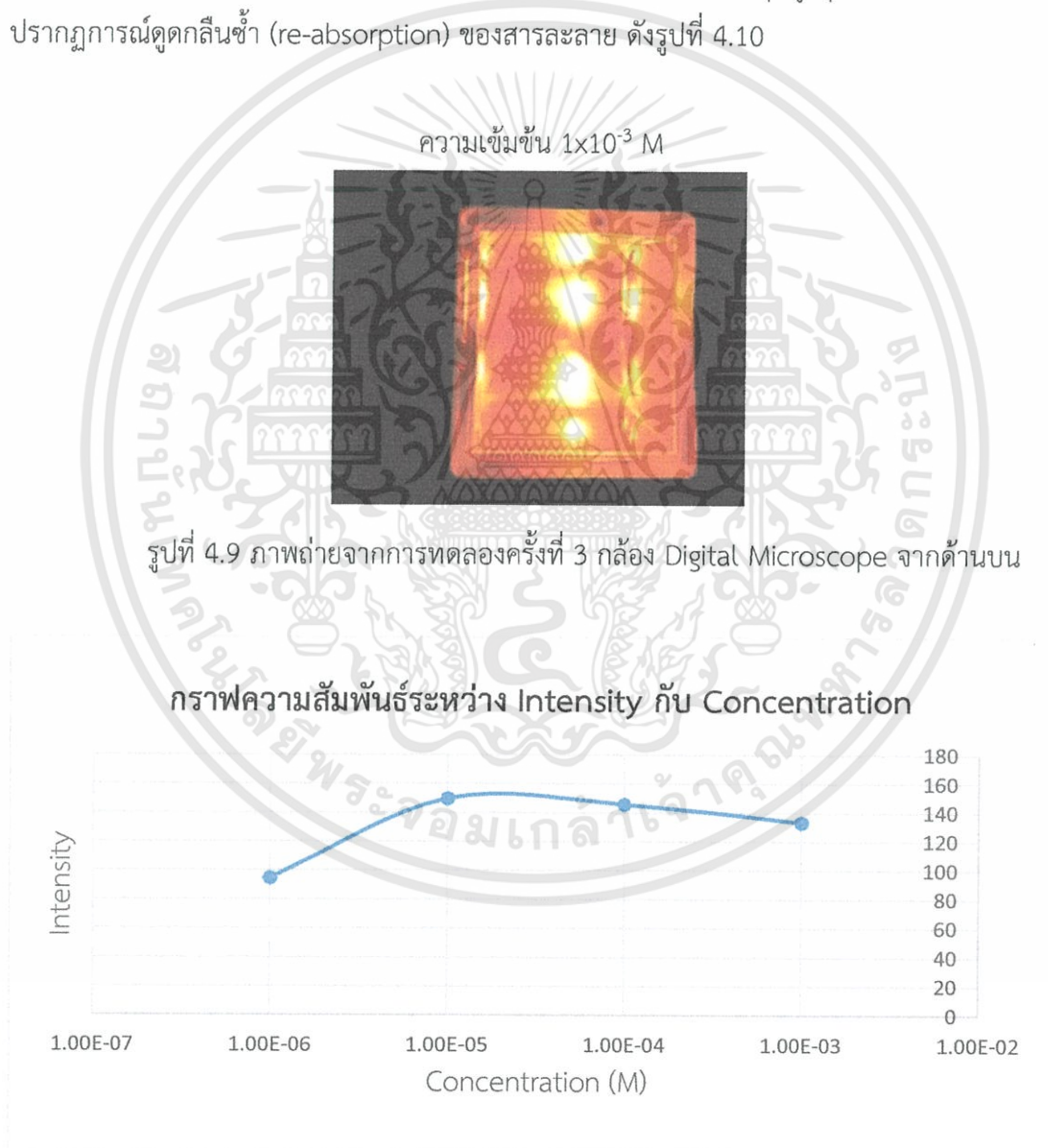
ในชุดการทดลองครั้งที่ 3 นี้มีลักษณะเหมือนกับชุดการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 แต่เพิ่มพลาสติกรูปทรงกรวยมาช่วยในการบีบแสง LED ให้เป็นลำยั้งขึ้น และเปลี่ยนตัวตรวจจับภาพแสงฟลูออเรสเซนซ์จากกล้องสมาร์ทโฟน iPhone 5s มาเป็นกล้อง Digital Microscope และทำการถ่ายภาพจากด้านบนของคิวเวทท์แทนการถ่ายภาพจากทางด้านข้างของคิวเวทท์ โดยผู้ทำการทดลองได้ออกแบบและสร้างชุดการทดลอง ตามรายละเอียดที่แสดงในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 ภาพจำลองการทดลองครั้งที่ 3

#### 4.1.3.1 ผลการทดลองครั้งที่ 3 โดยใช้กล้อง Digital Microscope ถ่ายภาพจาก ด้านบนของคิวเวทท์

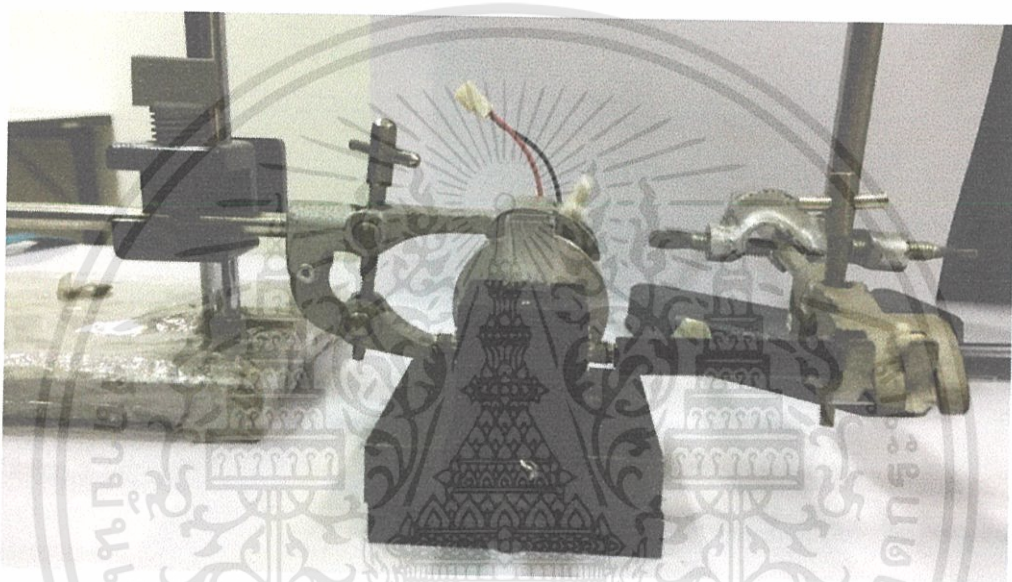
การวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้นเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M จนถึง  $1 \times 10^{-6}$  M การถ่ายภาพด้วยกล้อง Digital Microscope จากด้านบนและแหล่งกำเนิดแสงLED โดยใช้พลาสติกรูปทรงกรวยบีบแสง ดังภาพแบบจำลองในรูปที่ 4.8 พบว่าในภาพถ่ายแต่ละภาพนั้นยังมีค่าความเข้มของแสงไม่สม่ำเสมอ นั่นคือ ยังมีแสงสีขาวเข้ามาปะปนอยู่ ดังรูปที่ 4.9 และเมื่อนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration พบว่าเมื่อค่าความเข้มข้นสารละลายเพิ่มขึ้น ค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้น จนถึงจุดสูงสุดแล้วลดลง เนื่องจากปรากฏการณ์ดูดกลืนซ้ำ (re-absorption) ของสารละลาย ดังรูปที่ 4.10



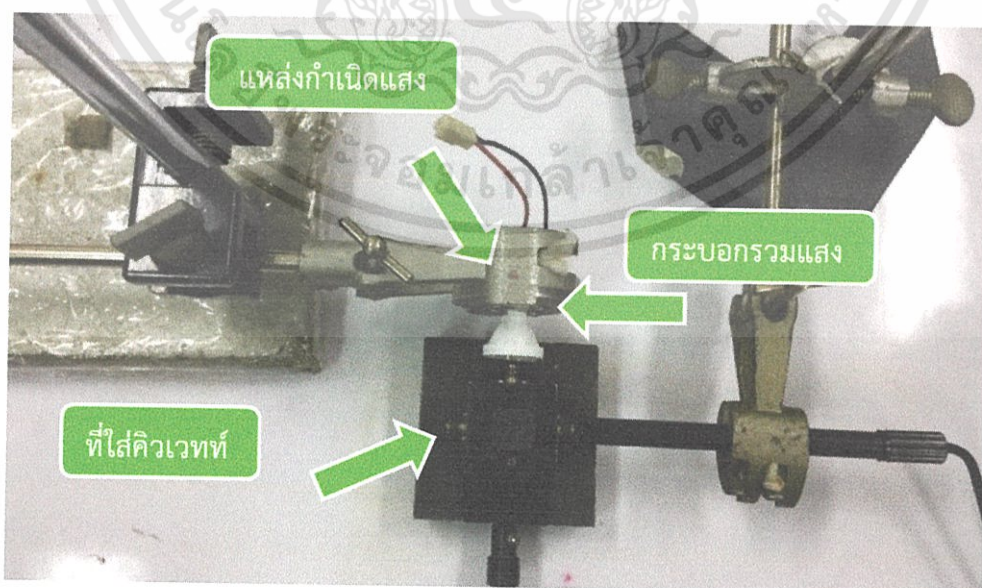
รูปที่ 4.10 ผลการทดลองครั้งที่ 3 จากกล้อง Digital Microscope

#### 4.1.4 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 4

ชุดการทดลองครั้งที่ 4 นี้ผู้ทำการทดลองได้ทำการจัดระบบชุดการทดลองใหม่โดยนำอุปกรณ์แต่ละส่วนออกมานอกชุดการทดลองครั้งที่ 1, 2 และ 3 โดยทำการทดลองในห้องมืดและใช้อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ในการจับยึดชิ้นส่วนต่าง ๆ และเพิ่มเลนส์รวมแสงมาช่วยในการรวมแสงให้แก่แหล่งกำเนิดแสง LED แต่ยังคงใช้การถ่ายภาพด้วยกล้อง Digital Microscope จากทางด้านข้าง ดังรูปที่ 4.11 และ 4.12 ตามลำดับ โดยชุดการทดลองในครั้งนี้จะประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดแสง LED สีเขียว กล้อง Digital Microscope ที่ใส่ควิเวทท์ และเลนส์รวมแสง



รูปที่ 4.11 ผลการออกแบบระบบการทดลองที่ 4 ด้านหน้า

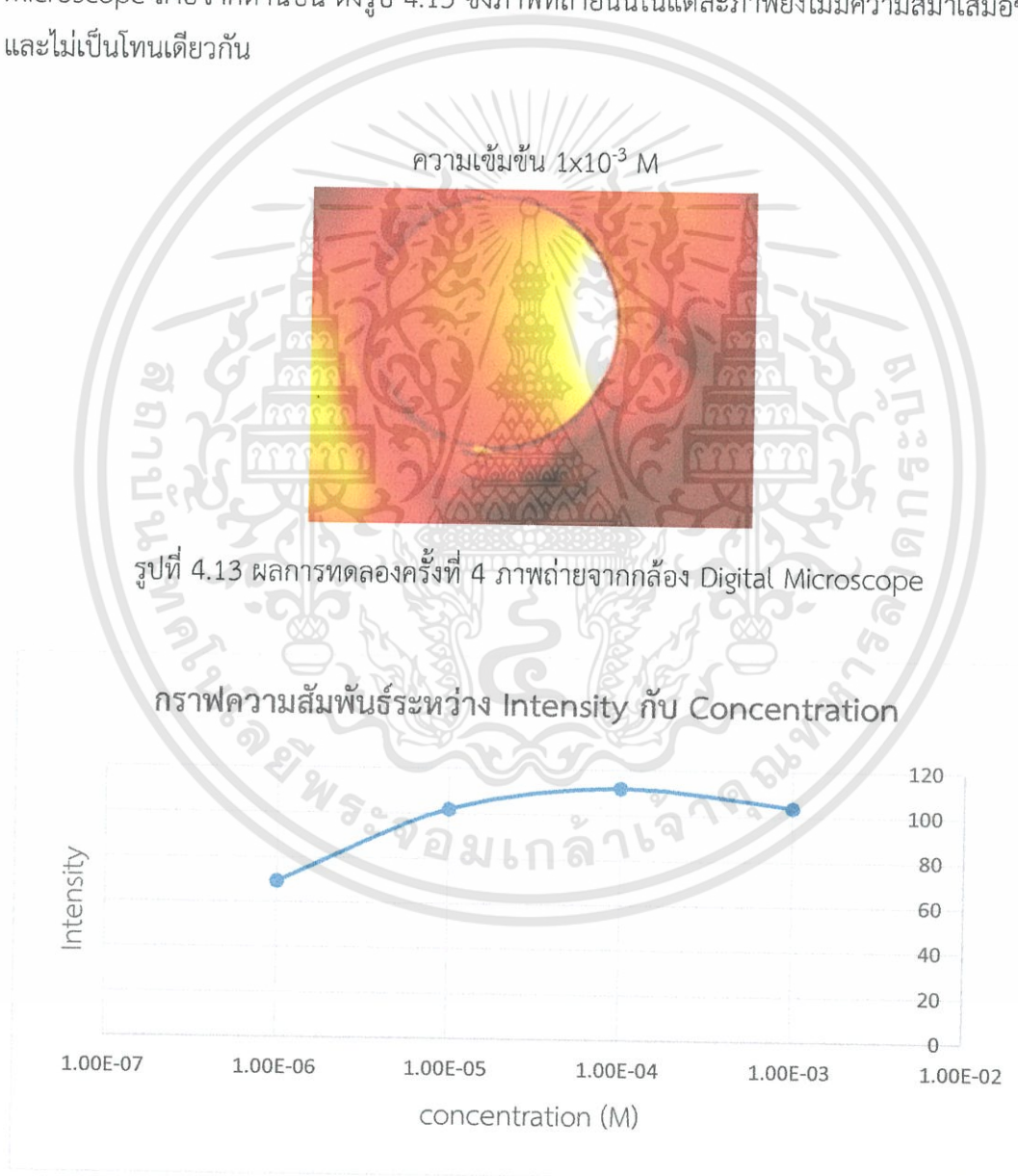


รูปที่ 4.12 ผลการออกแบบระบบการทดลองที่ 4 ด้านบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.4.1 ผลการทดลองครั้งที่ 4 โดยใช้กล้อง Digital Microscope ถ่ายภาพจากด้านข้างของคิวเวทท์และใช้เลนส์รวมแสงให้แก่แหล่งกำเนิดแสงLED

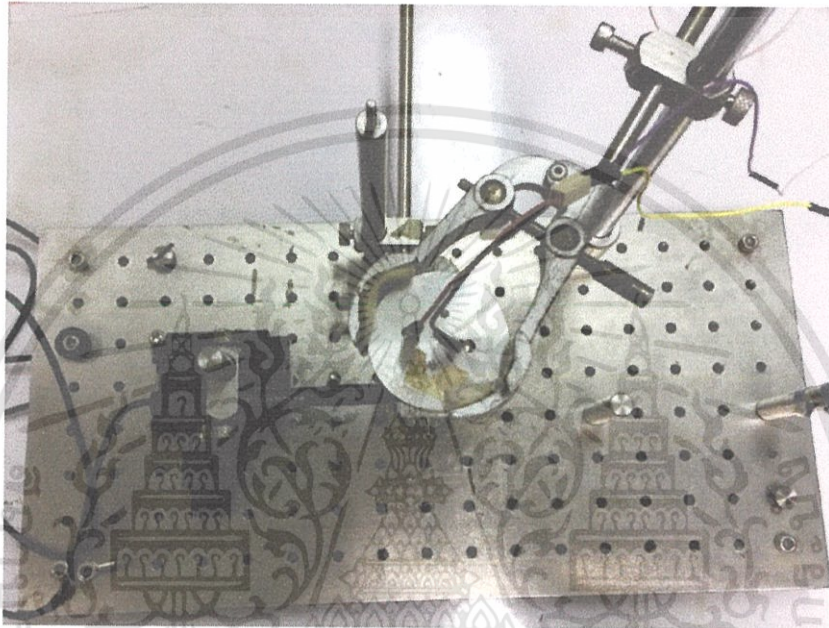
ผู้ทำการทดลองได้ออกแบบระบบการทดลอง ตามรายละเอียดที่แสดงในรูปที่ 4.11 และ 4.12 เพื่อนำมาใช้ในการถ่ายภาพการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้นค่าต่าง ๆ ระบบที่จัดทำขึ้นจะอยู่นอกกล่องที่จัดทำขึ้นจากวัสดุอะคริลิกสีดำและอยู่ในห้องมืด เมื่อทำการวัดการเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้นเข้มข้นดังต่อไปนี้  $1 \times 10^{-3}$  M,  $1 \times 10^{-4}$  M,  $1 \times 10^{-5}$  M,  $1 \times 10^{-6}$  M พบว่าผลที่ได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกับการใช้กล้อง Digital Microscope ถ่ายจากด้านบน ดังรูป 4.13 ซึ่งภาพที่ถ่ายนั้นในแต่ละภาพยังไม่มีควมสม่ำเสมอของสีและไม่เป็นโทนเดียวกัน



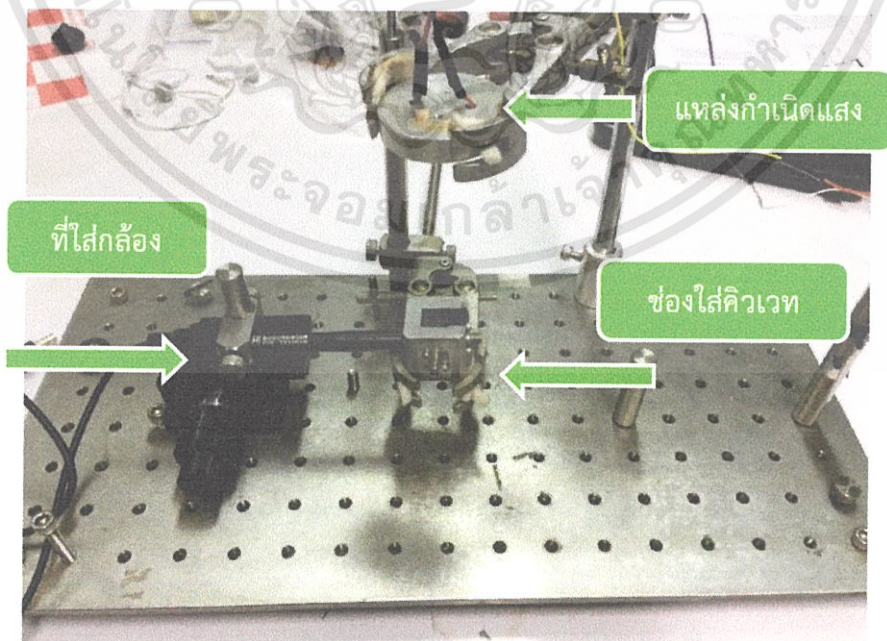
รูปที่ 4.14 ผลการทดลองครั้งที่ 4 จากกล้อง Digital Microscope

#### 4.1.5 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 5

การจัดระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จี ผู้ทำการทดลองได้การออกแบบชุดทดลองโดยใช้กล้อง Digital Microscope ในการถ่ายภาพ โดยอาศัยจากแบบจำลองชุดการทดลองดังรูป 4.15 และ 4.16 ซึ่งในการทดลองใช้อาศัยทำการทดลองในห้องมืด เพื่อป้องกันไม่ให้มีแสงจากภายนอกมารบกวนระบบการทดลองที่จัดทำขึ้น



รูปที่ 4.15 ผลการออกแบบการทดลองที่ 5 ด้านบน

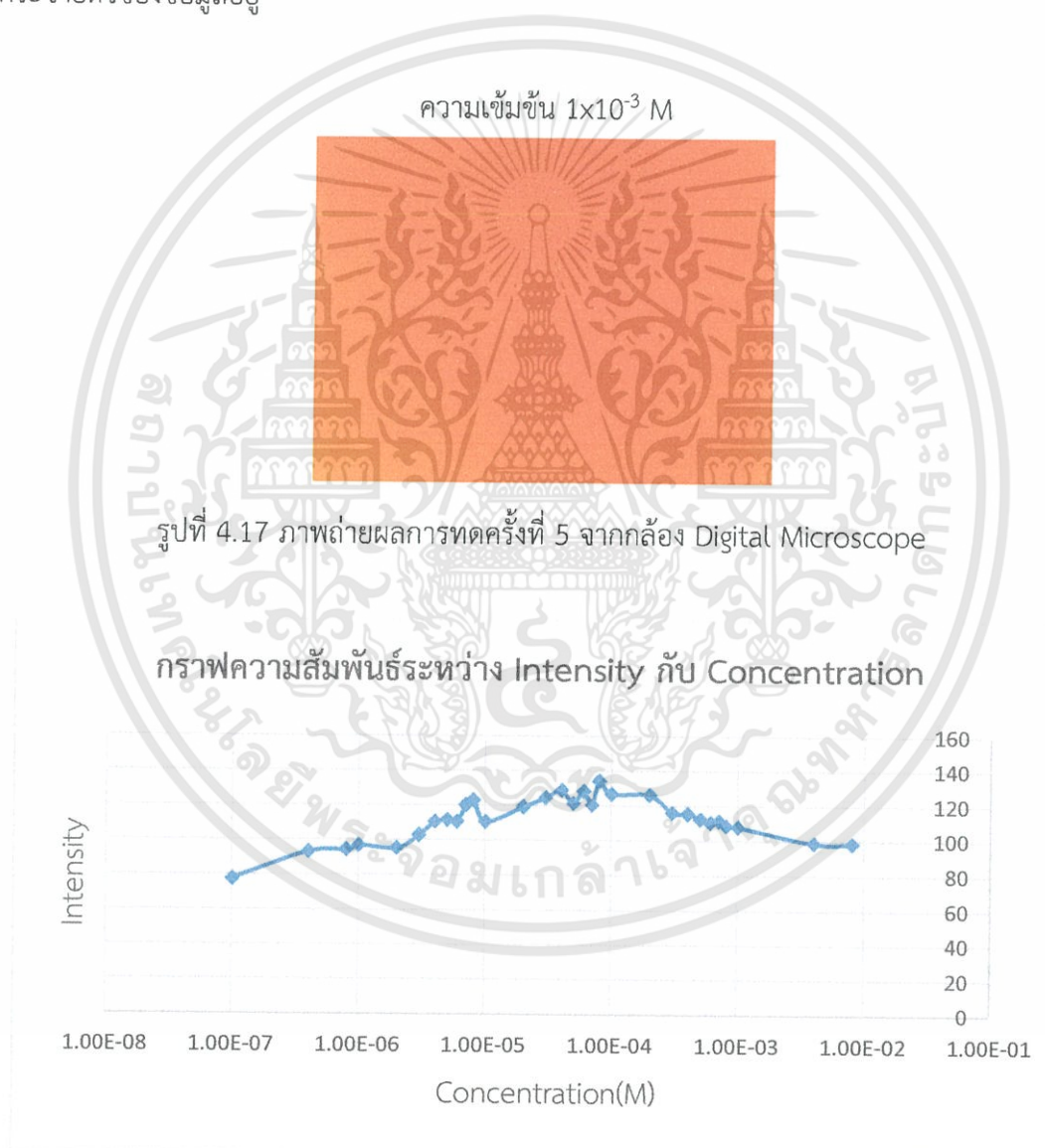


รูปที่ 4.16 ผลการออกแบบการทดลองที่ 5 ด้านหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.5.1 ผลการทดลองครั้งที่ 5 โดยใช้กล้อง Digital Microscope

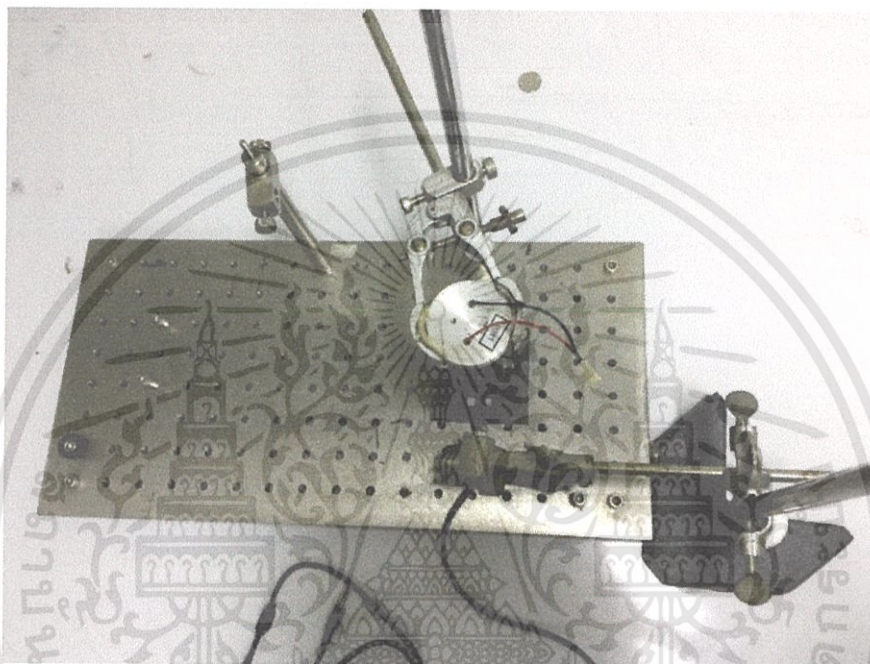
การทดลองถ่ายภาพจากทางด้านบนควิเวทที่ความเข้มข้นสารละลาย  $1 \times 10^{-3}$  M จนถึง  $8 \times 10^{-7}$  M ตามลำดับ ซึ่งไม่กำหนดเงื่อนไขในเรื่องของเวลาและใช้แหล่งกำเนิดแสงผ่านเส้นใยแก้วนำแสงจะได้ภาพดังรูปที่ 4.17 และเมื่อนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration พบว่ามีค่าความเข้มแสงที่ใกล้เคียงกัน เมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้นค่าความเข้มแสงจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามลำดับและค่อย ๆ ลดลงเมื่อถึงค่าความเข้มแสงที่มากที่สุด เนื่องจาก ปฏิกิริยาการสะท้อนกลับหมดของสารละลาย ดังรูปที่ 4.18 ซึ่งจะพบว่าจากกราฟยังมีการกระจายตัวของข้อมูลอยู่



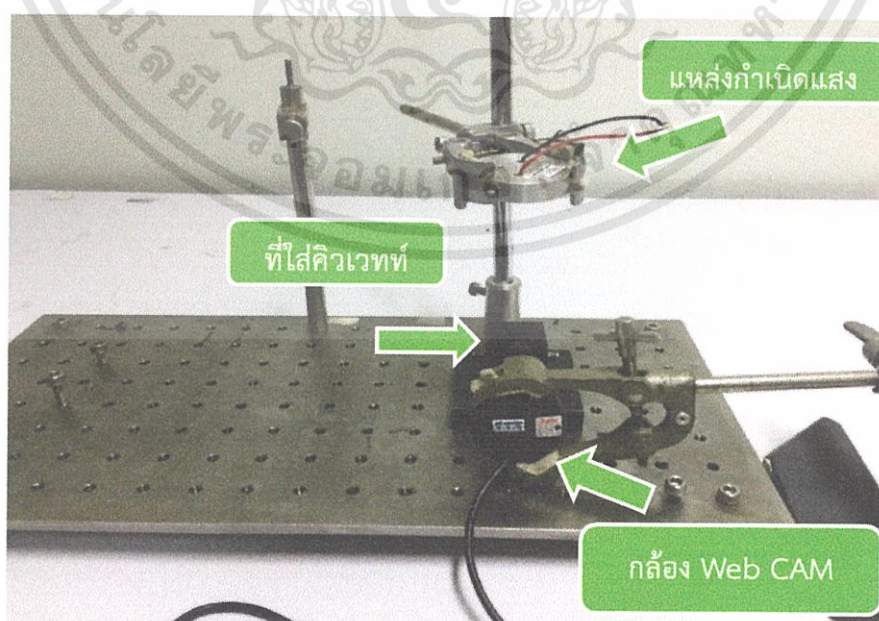
รูปที่ 4.18 กราฟผลการทดลอง จากกล้อง Digital Microscope

#### 4.1.6 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 6

การจัดระบบการทดลองสารละลายโรดามีน 6จี ผู้ทำการทดลองได้การออกแบบชุดทดลองโดยใช้กล้อง Webcam ในการถ่ายภาพจากแบบจำลองชุดการทดลองดังรูป 4.19 และ 4.20 โดยชุดการทดลองนี้ใช้แท่งจับวิทยาศาสตร์ในการจับยึดเพื่อไม่ให้แหล่งกำเนิดแสงสามารถเคลื่อนที่ได้ กล้อง Webcam แทนจับกล้อง Webcam ซึ่งเป็นแบบไม่สามารถปรับสเกลได้ และฐานวางควิวเวทท์



รูปที่ 4.19 ผลการออกแบบการทดลองที่ 6 ด้านบน

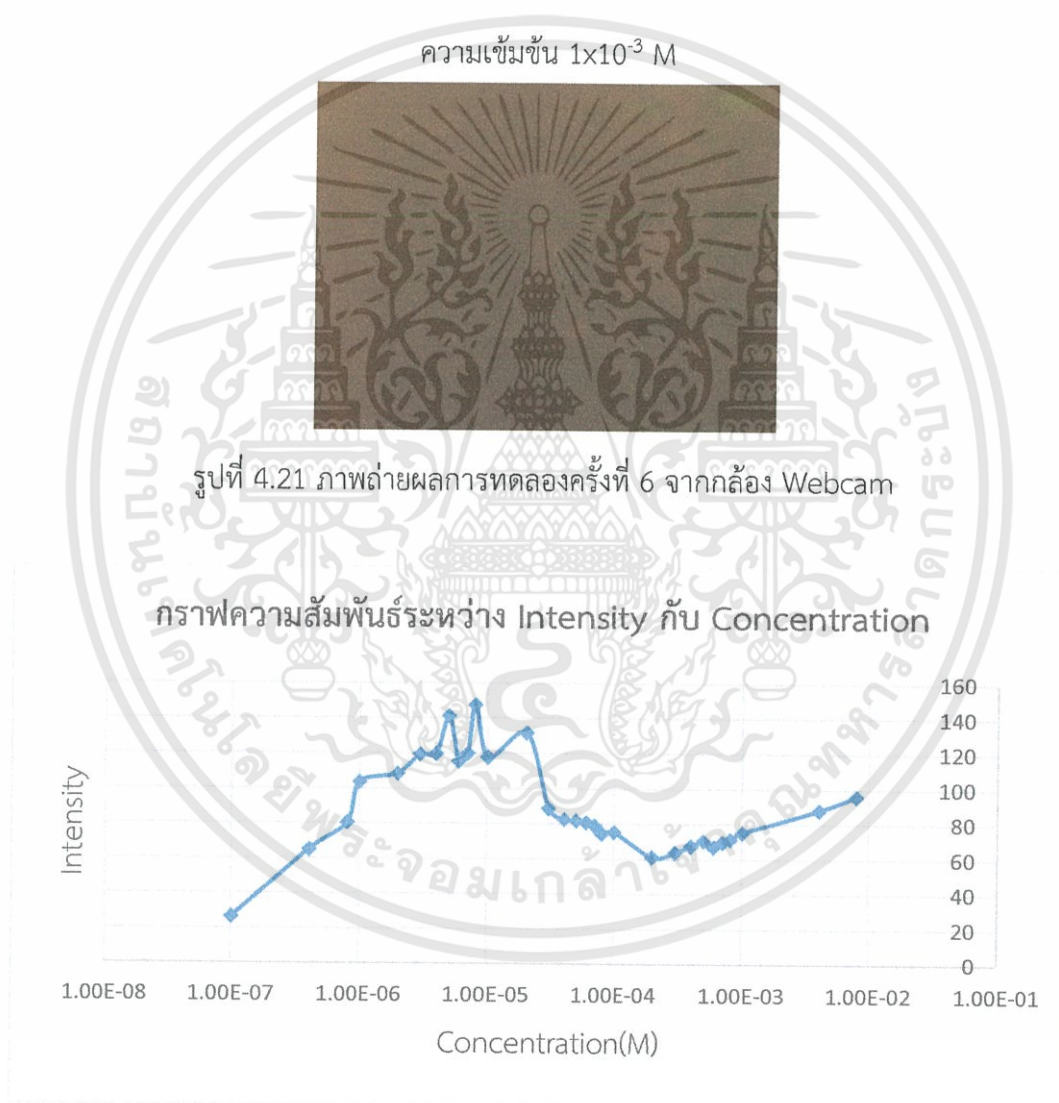


รูปที่ 4.20 ผลการออกแบบการทดลองที่ 6 ด้านหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.6.1 ผลการทดลองครั้งที่ 6 โดยใช้กล้อง Webcam

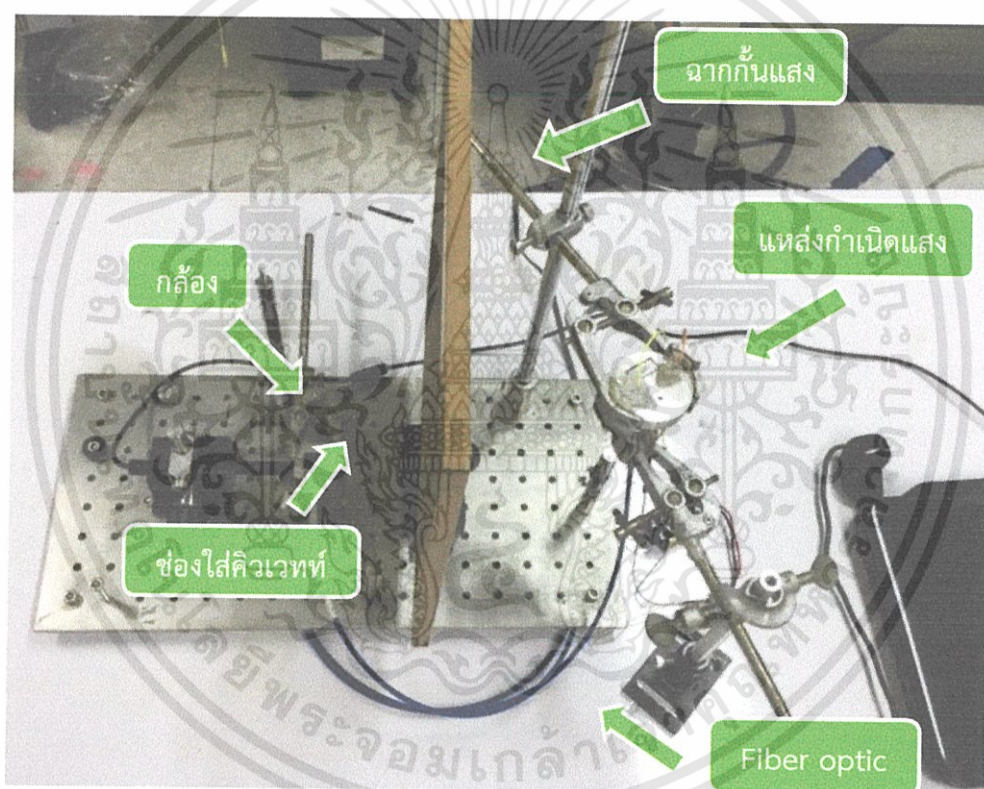
ในการทำการทดลองถ่ายภาพจะได้ภาพดังรูป 4.21 เมื่อนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration พบว่าเมื่อความเข้มข้นสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้น ค่าความเข้มแสงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แล้วค่อย ๆ ลดลงเมื่อถึงค่าความเข้มแสงที่สูงสุด ดังรูปที่ 4.22 เช่นเดียวกันกับกล้อง Digital Microscope แต่สำหรับกล้อง Webcam ค่าที่ได้นั้นยังมีการกระจายตัวของข้อมูลอยู่มาก ซึ่งยังเป็นปัญหาและลดความเชื่อมั่นในข้อมูล ส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้งานหากนำมาใช้งานจะทำให้ได้ผลการทดลองที่มีความคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง



รูปที่ 4.22 กราฟผลการทดลองครั้งที่ 6 จากกล้อง Webcam

#### 4.1.7 ผลการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 7

การจัดระบบการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จี โดยผู้ทำการทดลองได้ ออกแบบชุดทดลองโดยได้เอากล้อง Digital Microscope กลับมาใช้ในการถ่ายภาพเนื่องจากค่าการกระจายตัวของข้อมูลมีน้อยกว่ากล้อง Webcam และได้นำเอาสาย Fiber optic มาช่วยในการนำแสง และนำฉากมวกั้นแสงดังรูปที่ 4.23 จากภาพเราจะพบว่าในชุดการทดลองครั้งที่ 7 นี้จะประกอบไปด้วยแหล่งกำเนิดแสงLEDสีเขียว โดยใช้แท่งจับวิทยาศาสตร์ในการจับยึดเพื่อไม่ให้แหล่งกำเนิดแสงสามารถเคลื่อนที่ได้ กล้อง Digital Microscope แทนจับกล้อง Digital Microscope ซึ่งเป็นแบบปรับสเกลได้ในหน่วยเซนติเมตร ฐานวางคิควเวทท์ สาย Fiber optic และฉากกั้นแสงเพื่อลดแสงรบกวนที่เราไม่ต้องการ

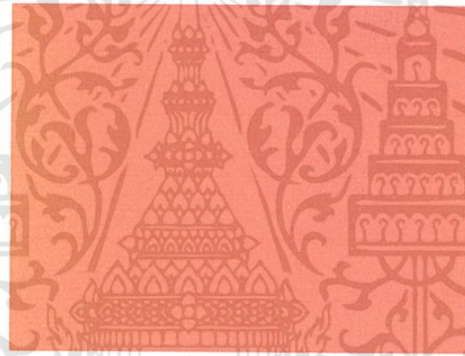


รูปที่ 4.23 ภาพผลการออกแบบระบบการทดลองครั้งที่ 7 ด้านบน

#### 4.1.7.1 ผลการทดลองครั้งที่ 7 โดยใช้กล้อง Digital Microscope

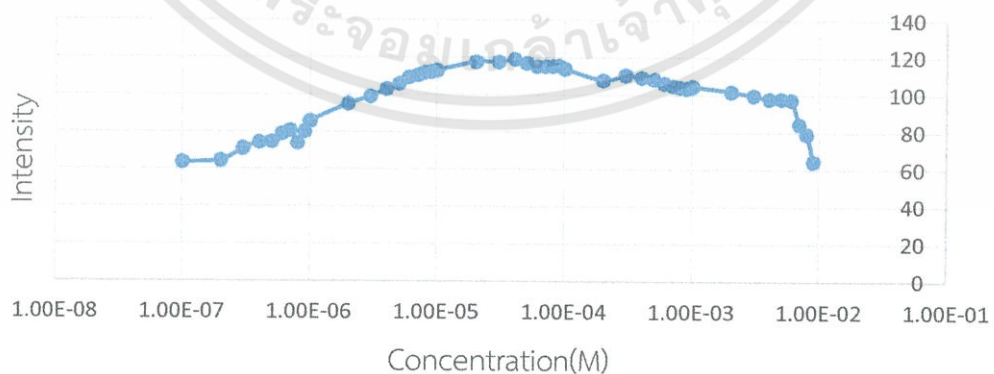
จากการทดลองถ่ายภาพสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M -  $9 \times 10^{-7}$  M ตามลำดับ ด้วยชุดการทดลองที่ 7 โดยการถ่ายภาพจากด้านบนและใช้กล้อง Digital Microscope ในการถ่ายภาพ โดยกำหนดเงื่อนไขเวลาให้เปิดแหล่งกำเนิดแสง LED สีเขียวเป็นเวลา 5-10 นาที ในการทดลองเป็นการจัดระบบถ่ายภาพโดยใช้แหล่งกำเนิดแสงผ่านสาย fiber optic ซึ่งทำให้แสงรวมเป็น ลำเดียวกันมากขึ้น ทำให้ภาพที่ได้ออกมานั้นมีการรบกวนจากภายนอกน้อยลงดังรูปที่ 4.24 และเมื่อนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration พบว่ากราฟความสัมพันธ์มีค่าความชันที่เพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลองข้างต้นทำให้เราสามารถมีโอกาสแยกความเข้มข้นของสารละลายที่แตกต่างกันได้ และพบว่าเมื่อความเข้มข้นสารละลายเพิ่มขึ้นค่าความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จนถึงจุดค่าความเข้มแสงที่สูงสุดจากนั้นค่าจะมีแนวโน้มลดลง ดังรูปที่ 4.25

ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M



รูปที่ 4.24 ภาพถ่ายผลการทดลองครั้งที่ 7

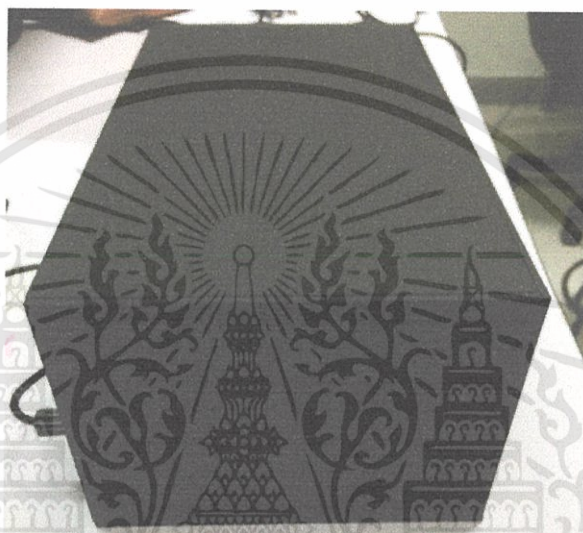
กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration



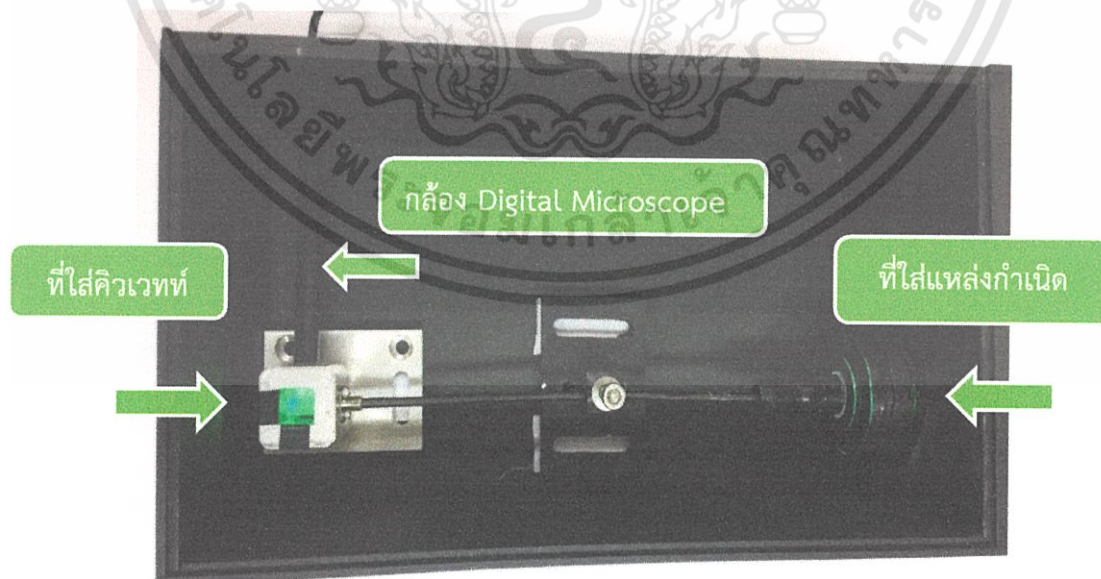
รูปที่ 4.25 กราฟผลการทดลองครั้งที่ 7 จากกล้อง Digital Microscope

#### 4.1.8 ผลการการออกแบบชุดการทดลองครั้งที่ 8

ผู้ทำการทดลองได้การออกแบบชุดทดลองครั้งที่ 8 เป็นการปรับปรุงรูปแบบใหม่โดยกล่องที่จัดทำขึ้นใช้วัสดุที่ทำจากอะคริลิคสีดำโดยมีฟืนสีเคลือบลดการสะท้อนของแสงและทำขนาดของกล่องให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อให้สามารถรองรับแอปพลิเคชันเสริมใหม่ ๆ ได้ในอนาคต และรองรับสำหรับพื้นที่ในการใส่สาย fiber optic ซึ่งในการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายโรดามีน 6จีที่มีความเข้มข้นค่าต่าง ๆ ดังรูปที่ 4.26 และ รูปที่ 4.27 ตามลำดับ



รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะโครงสร้างภายนอกของกล่อง

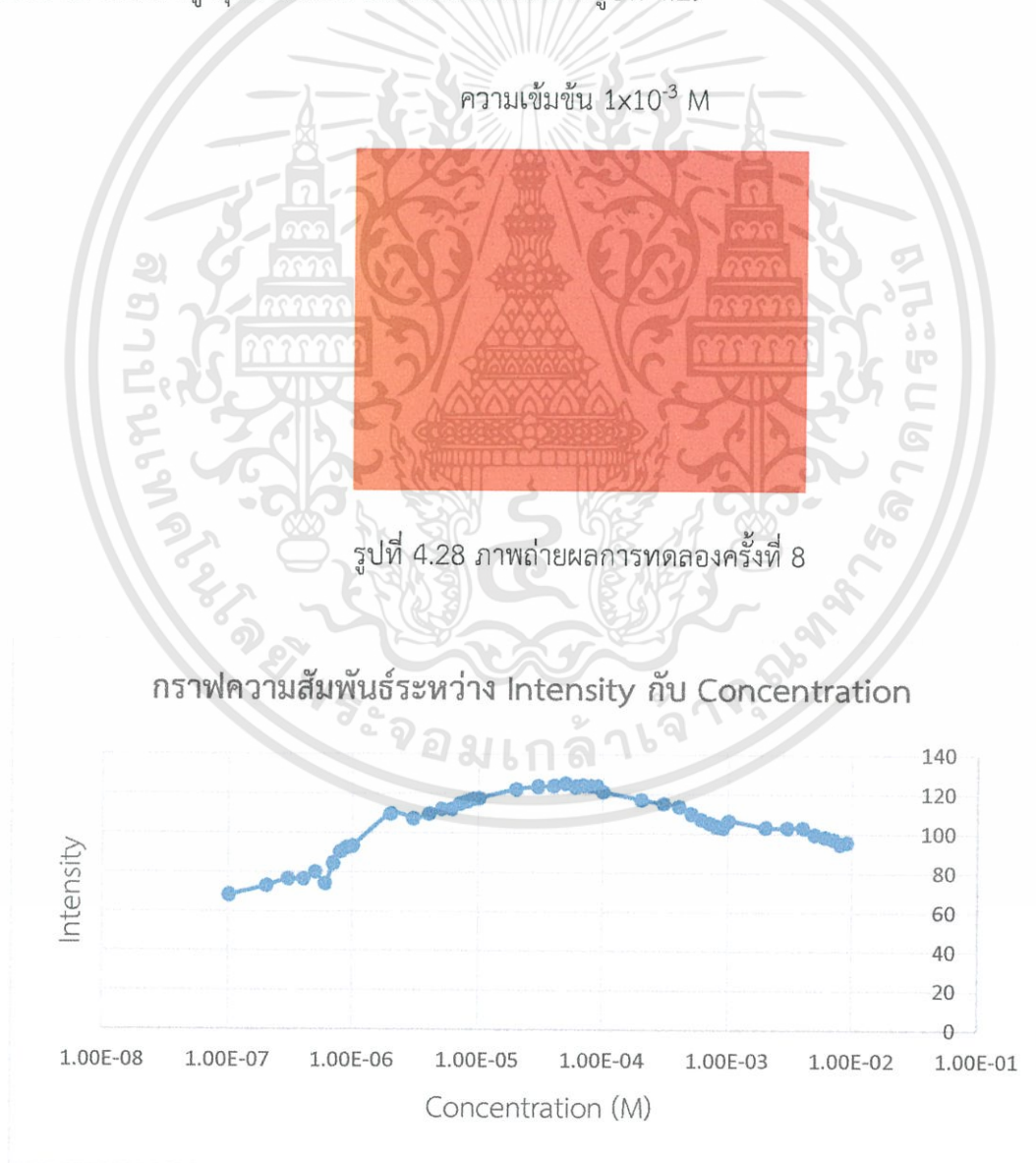


รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะโครงสร้างภายในของกล่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.8.1 ผลการทดลองครั้งที่ 8 โดยใช้กล้อง Digital Microscope

จากการทดลองถ่ายภาพสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^{-3}$  M -  $9 \times 10^{-7}$  M ตามลำดับ ด้วยชุดการทดลองที่ 8 โดยกำหนดเงื่อนไขเวลาให้เปิดแหล่งกำเนิดแสง LED สีเขียวเป็นเวลา 5-10 นาที ในการทดลองเป็นการจัดระบบถ่ายภาพโดยใช้แหล่งกำเนิดแสงผ่านสาย fiber optic ซึ่งทำให้ลำแสงรวมเป็นลำเดียวกันมากขึ้น เมื่อนำกล้อง Digital Microscope มาถ่ายภาพทำให้ภาพที่ได้ออกมานั้นมีการรบกวนจากภายนอกน้อยลงดังรูปที่ 4.28 และเมื่อนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration พบว่ากราฟความสัมพันธ์มีค่าความชันที่เพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลองข้างต้นทำให้เราสามารถมีโอกาสแยกความเข้มข้นของสารละลายที่แตกต่างกันได้ และพบว่าเมื่อความเข้มข้นสารละลายเพิ่มขึ้นค่าความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จนถึงจุดค่าความเข้มแสงที่สูงสุดจากนั้นค่าจะมีแนวโน้มลดลง ดังรูปที่ 4.29



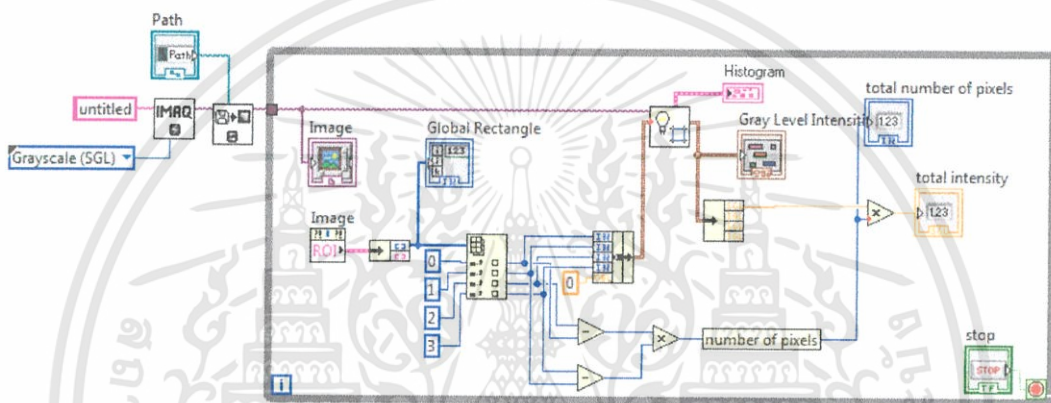
รูปที่ 4.29 กราฟที่ได้จากชุดการทดลองที่สมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

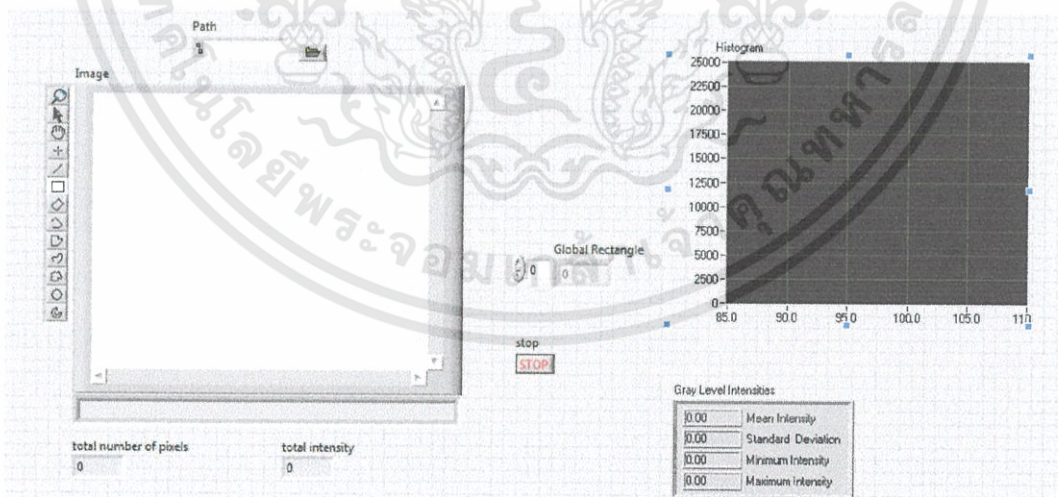
## 4.2 ผลการพัฒนาโปรแกรม

### 4.2.1 ผลการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลจากผลการทดลอง ครั้งที่ 1

การพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลที่ถูกออกแบบโดยการใช้โปรแกรม LabView ซึ่งเป็น การออกแบบระบบการวิเคราะห์ข้อมูลจากการถ่ายภาพข้อมูลนั้นๆ โดยข้อมูลนี้ คือ ภาพถ่ายที่ได้จาก การเปล่งแสงของสารละลาย Rhodamine 6G ในการออกแบบระบบการวิเคราะห์ข้อมูลภาพ จะถูก แบบแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ แบบ front Panel และ แบบ Block diagram ดังรูปที่ 4.30 และ 4.31 ซึ่งเป็นการเขียนโค้ดรูปภาพใน Block diagram เพื่อให้ไปปรากฏใน front Panel



รูปที่ 4.30 Block diagram ครั้งที่ 1

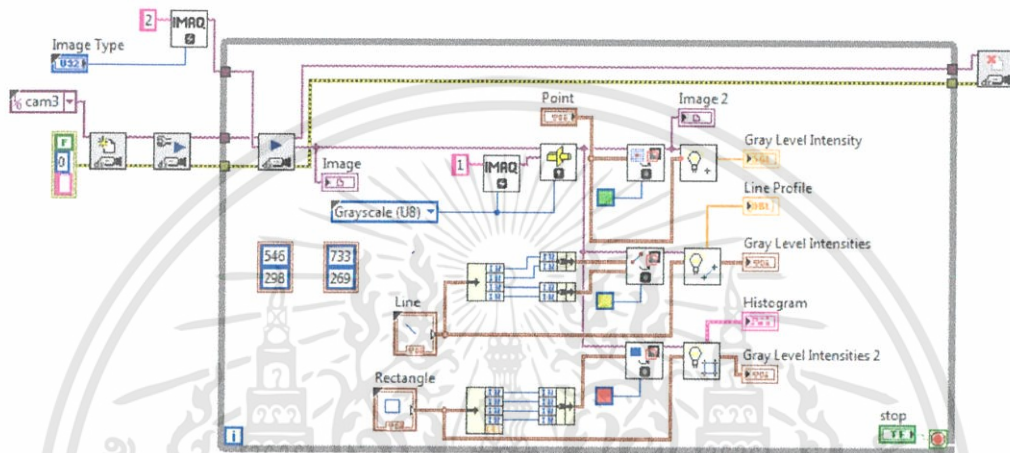


รูปที่ 4.31 Front Panel ครั้งที่ 1

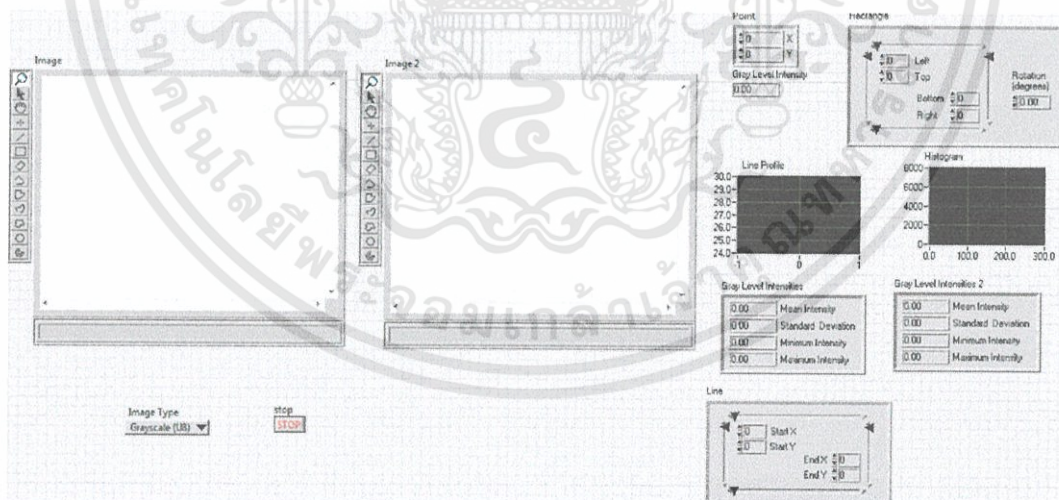
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.2 ผลการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลจากผลการทดลอง ครั้งที่ 2

เป็นการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้ LabView ในออกแบบ ซึ่งในครั้งนี้เป็น การออกแบบโดยที่สามารถกำหนดจุดที่สนใจ หรือจุดที่ต้องการวิเคราะห์เป็นค่าตัวเลขได้ ซึ่งสามารถ หาได้ทั้งเส้นตรงหรือจุด, สามารถเปลี่ยนภาพ RGB เป็นภาพ Gray scale ได้ทันทีและยังสามารถทำ แบบ real-time ได้ ซึ่งจะสะดวกและรวดเร็วกว่าแบบในครั้งแรก ดังรูป 4.32 และ 4.33



รูปที่ 4.32 Block diagram ครั้งที่ 2

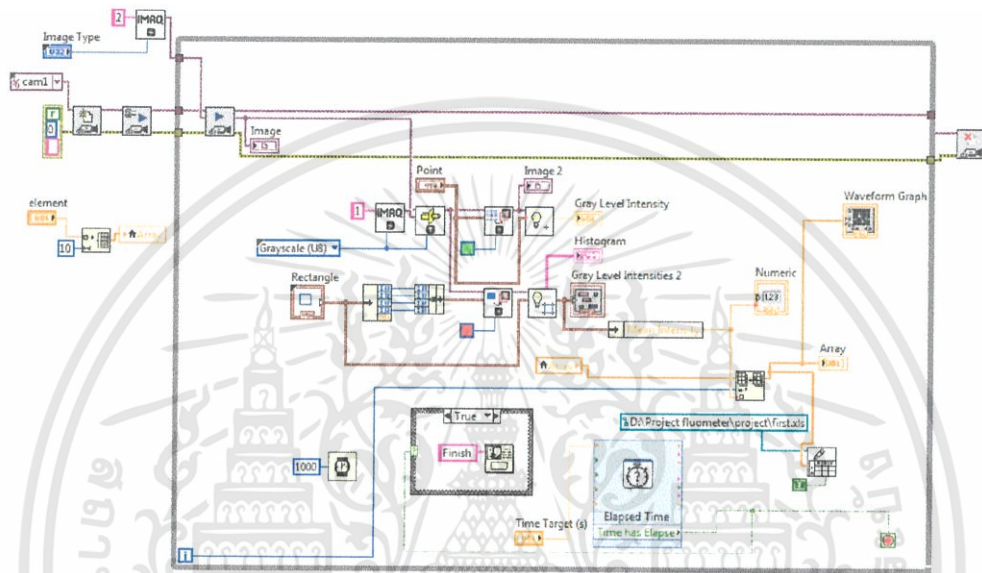


รูปที่ 4.33 Front Panel ครั้งที่ 2

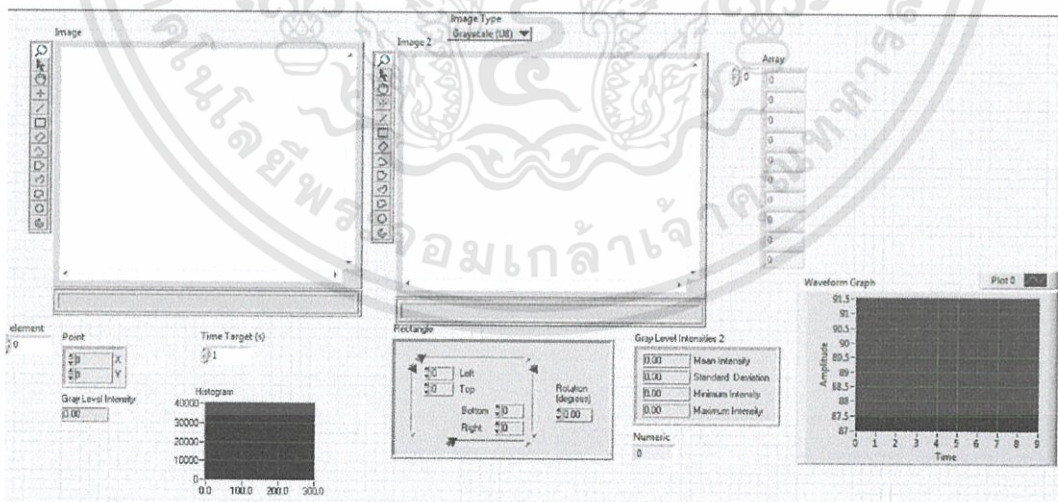
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.2.3 ผลการพัฒนาโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลจากผลการทดลอง ครั้งที่ 3

เป็นการออกแบบโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้โปรแกรม LabView โดยเพิ่มเวลาในการใช้งานในแต่ละครั้งซึ่งสามารถหน่วงเวลาในการถ่ายภาพได้และยังเพิ่มส่วนที่จัดเก็บข้อมูลแบบได้ทันทีซึ่งไม่ต้องมานั่งจดบันทึกค่า และยังสามารถช่วยลดเวลาในการทำงานได้มากและสะดวกต่อผู้ทำการทดลอง ซึ่งมีลักษณะดังรูปที่ 4.34 และ 4.35 ตามลำดับ



รูปที่ 4.34 Block diagram ครั้งที่ 3

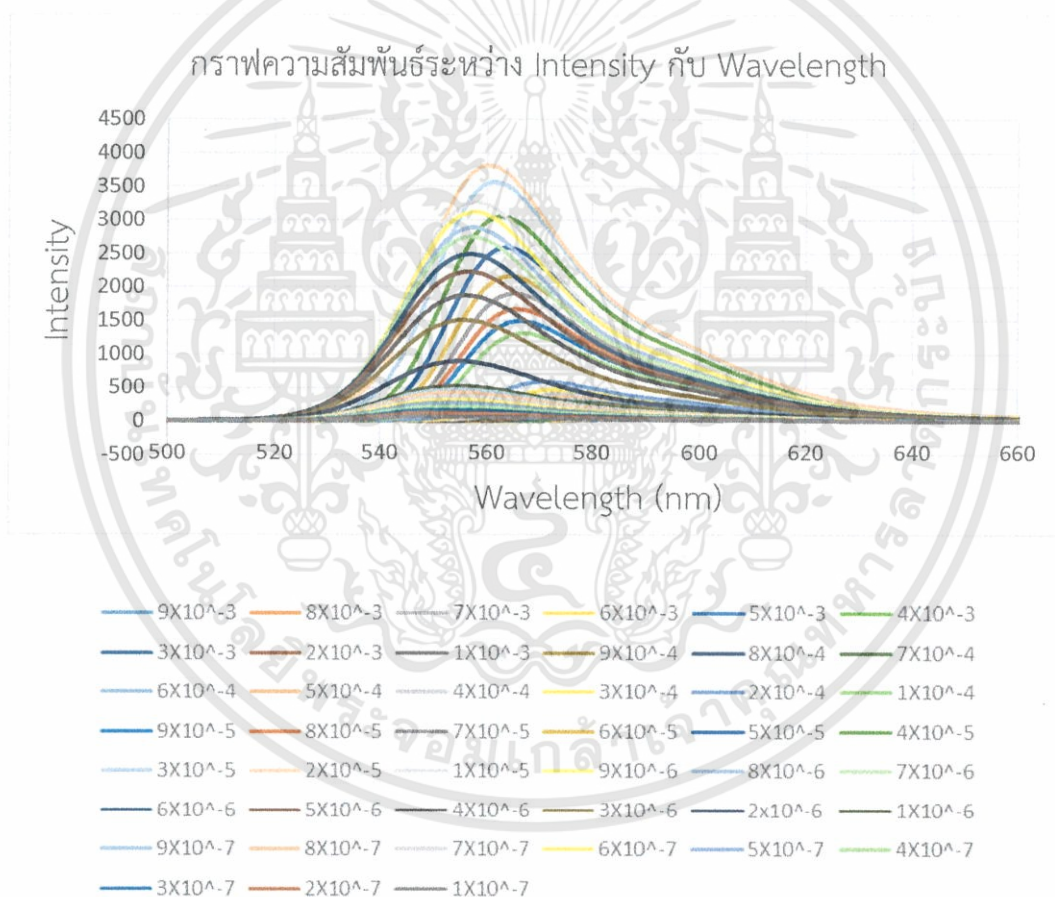


รูปที่ 4.35 Front Panel ครั้งที่ 3

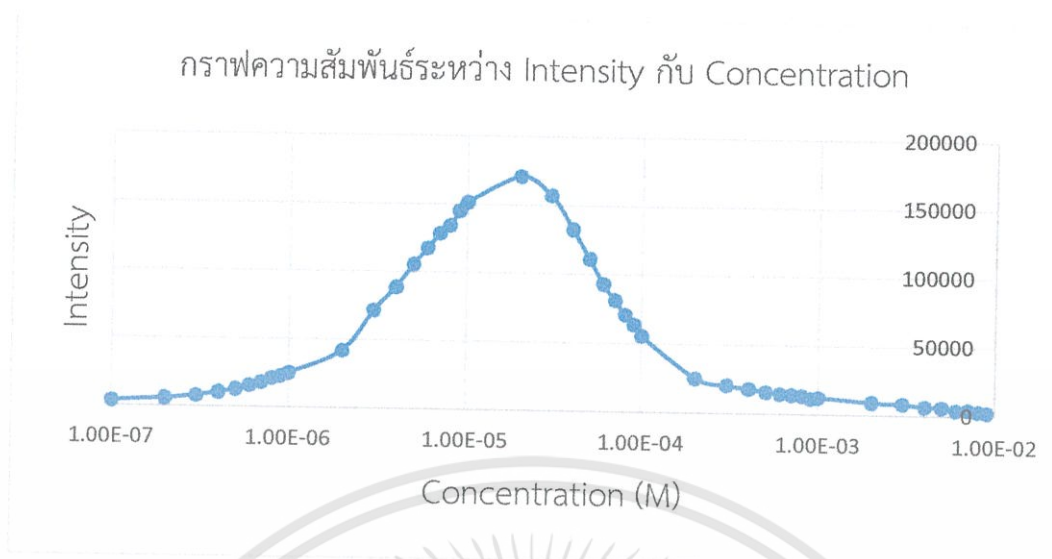
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลการวัดสเปกตรัมสมบัติทางแสงของสารละลายโรดามีน 6จี

จากการทดลองวัดสเปกตรัมการเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี ที่มีค่าความเข้มข้นตั้งแต่  $9 \times 10^{-3} \text{ M}$  จนถึง  $1 \times 10^{-7} \text{ M}$  จะได้กราฟดังรูปที่ 4.36 เมื่อเราทำการอินทิเกรตพื้นที่ใต้กราฟเพื่อหาค่าการเปล่งแสงของละลายโรดามีน 6จี และพิจารณาสเปกตรัมการเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี พบว่ามีค่าการเปล่งแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้นจาก  $1 \times 10^{-7} \text{ M}$  จนถึง  $2 \times 10^{-5} \text{ M}$  และมีความเข้มแสงลดลง เมื่อความเข้มข้นมีค่าสูงกว่า  $2 \times 10^{-5} \text{ M}$  ตามรูปที่ 4.37 ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นมากโอกาสที่แสงถูกปลดปล่อยออกมาจะถูกดูดกลืนซ้ำจากโมเลกุลแวดล้อมมีสูงขึ้นทำให้ปริมาณความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้ลดลง ซึ่งรู้จักกันโดยทั่วไปว่าเกิดกลไกการดูดกลืนซ้ำ (re-absorption)



รูปที่ 4.36 การเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี ที่ความเข้มข้น  $9 \times 10^{-3} \text{ M} - 1 \times 10^{-7} \text{ M}$



รูปที่ 4.37 กราฟผลการอินทิเกรตการเปล่งแสงของสารละลายโรดามีน 6จี

#### 4.4 ผลการทดสอบชุดการทดลองที่พัฒนาขึ้นด้วยโปรแกรม LabView

##### 4.4.1 การวิเคราะห์ด้วยการประมวลผลภาพด้วย Gray scale

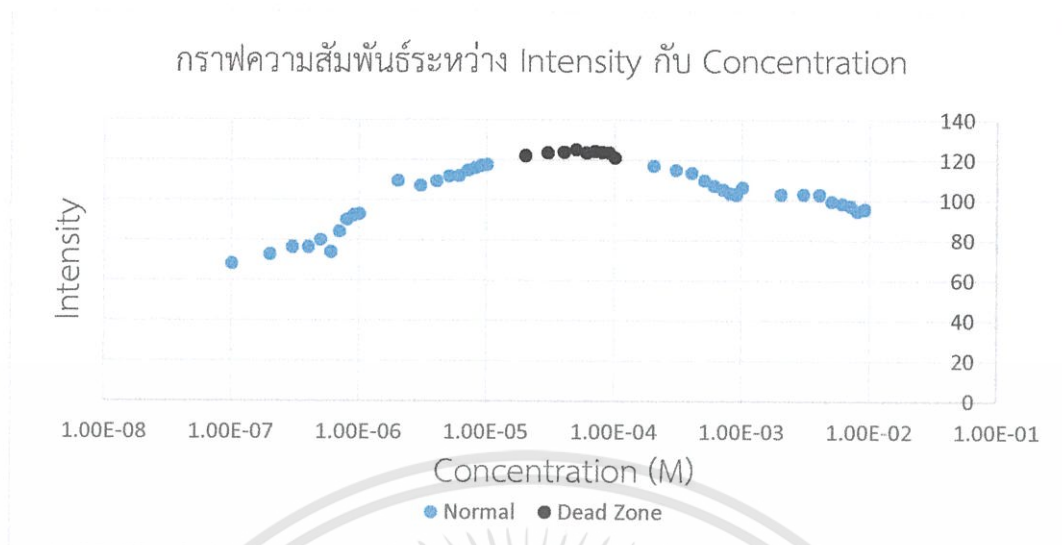
ในการทดลองกับชุดการทดลองที่พัฒนาขึ้นนี้พบว่าค่าความเข้มแสงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้น เป็นไปตามกราฟพหุคูณการเปล่งแสงของสารเรืองแสง แต่ยังมีการแยกความเข้มข้นสารละลายได้ค่อนข้างยากในช่วงที่มีความเข้มแสงใกล้เคียง ๆ กัน ดังนั้นผู้ทำการทดลองจึงได้แบ่งออกเป็นช่วง ๆ เพื่อให้ง่ายต่อการแยกความเข้มข้น ซึ่งในช่วงตรงกลางหรือบริเวณช่วง  $10^{-5}$  M เป็นช่วงที่เราไม่ต้องการเนื่องจากมีความชันของกราฟ (slope) และมีค่าความไว (Sensitivity) ที่น้อย จึงต้องแยกออกเป็นสองช่วงดังรูปที่ 4.38 และสามารถแบ่งสมการของกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration ได้เป็น 2 สมการ ดังรูปที่ 4.39 และ รูปที่ 4.40 โดยกราฟในรูปดังกล่าวจะได้สมการ

$$y = 10.571 \ln(x) + 237.25 \quad (4.1)$$

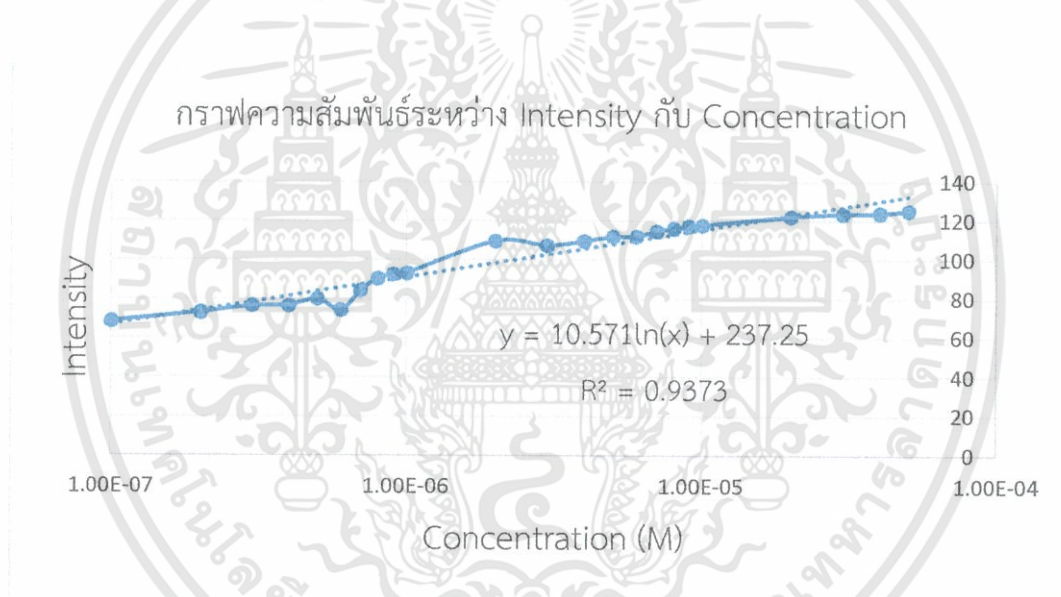
และ

$$y = -5.739 \ln(x) + 67.757 \quad (4.2)$$

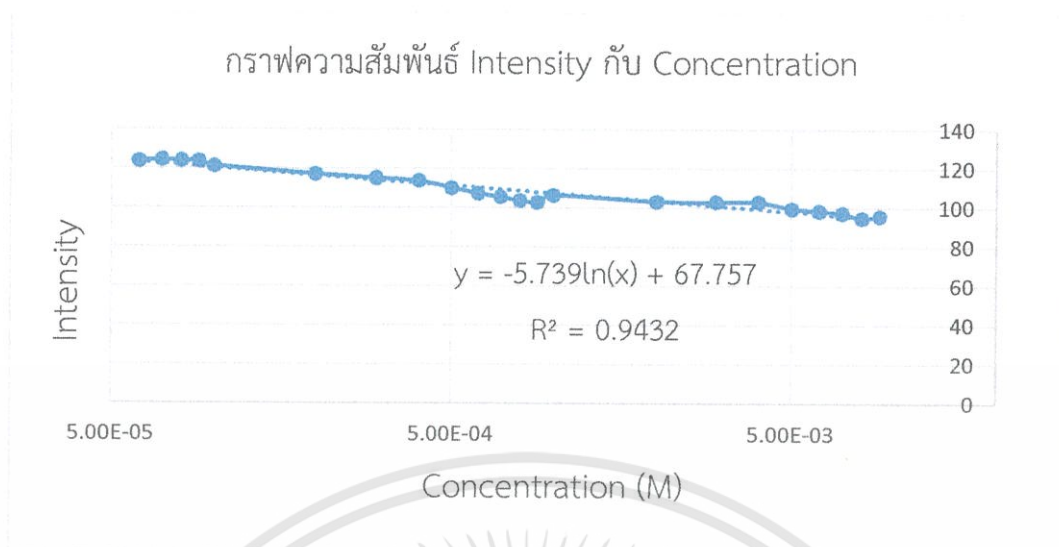
และเราจะเรียกกราฟในรูป 4.39 และ รูปที่ 4.40 ว่ากราฟแสดงสมการในช่วงแรก และกราฟแสดงสมการในช่วงหลัง ตามลำดับ



รูปที่ 4.38 กราฟแสดงค่า Normal curve



รูปที่ 4.39 กราฟแสดงสมการในช่วงแรก



รูปที่ 4.40 กราฟแสดงสมการในช่วงหลัง

จากการหาสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย Gray scale ด้วยสมการที่ 4.1 และ 4.2 มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี ในช่วงความเข้มข้น  $7 \times 10^{-7} \text{ M} - 3 \times 10^{-3} \text{ M}$  พบว่าได้ผลดังตารางที่ 4.1

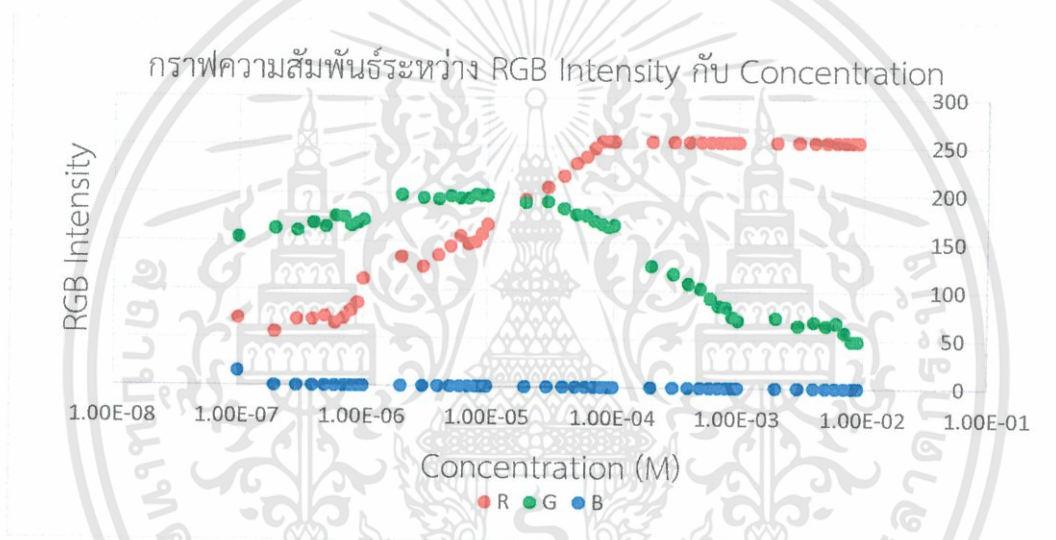
ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นจาก Gray scale

Concentration (M)	Intensity <sub>ทดลอง</sub>	Concentration <sub>สมการ</sub> (M)	% error	หมายเหตุ
$7 \times 10^{-7}$	77.014	$2.612 \times 10^{-7}$	62.7	สมการที่ 4.1
$6 \times 10^{-6}$	111.899	$7.081 \times 10^{-6}$	18	สมการที่ 4.1
$5 \times 10^{-5}$	124.896	$2.422 \times 10^{-5}$	51.6	สมการที่ 4.1
$4 \times 10^{-4}$	114.315	$2.998 \times 10^{-4}$	25.1	สมการที่ 4.2
$3 \times 10^{-3}$	102.690	$2.272 \times 10^{-3}$	24.3	สมการที่ 4.2

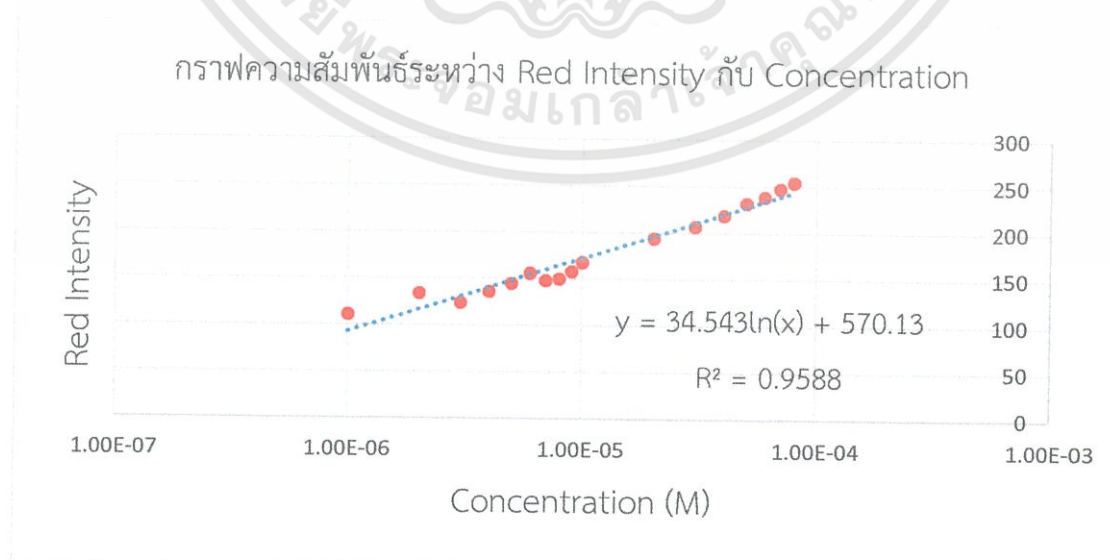
จากตารางที่ 4.1 พบว่าที่ความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี ในช่วงความเข้มข้นต่ำมีค่าความคลาดเคลื่อนที่สูงผู้ทำการทดลองจึงทำการวิเคราะห์ค่า RGB เพื่อลดค่าความคลาดเคลื่อนในช่วงบริเวณดังกล่าวเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของชุดการทดลอง

#### 4.4.2 การวิเคราะห์ด้วย RGB

จากผลที่แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าค่าความเข้มข้นช่วง  $7 \times 10^{-7}$  มีค่าความคลาดเคลื่อนสูงถึง 62.7% ผู้ทำการทดลองจึงการวิเคราะห์ค่า RGB ด้วยการหาสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยค่า Red จากการอ่านค่า RGB เนื่องจากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Intensity กับ Concentration ในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อย ผู้ทำการทดลองจึงได้นำค่ามาวิเคราะห์โดยการแยกคิดเป็น RGB ได้ดังรูป 4.42 โดยพบว่าค่า R ที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงกับค่า C แบบเป็นเชิงเส้นและครอบคลุมบริเวณบริเวณช่วง  $10^{-4} \text{ M} - 10^{-6} \text{ M}$  ดังนั้นผู้ทำการทดลองจึงได้เอาจุดเด่นในส่วนนี้มาเป็นตัววิเคราะห์หาความเข้มข้นสารละลายในช่วงที่เป็นเส้นตรงมีทั้งหมด 3 ช่วงความเข้มข้นของสารละลาย คือ  $10^{-4} \text{ M}$   $10^{-5} \text{ M}$  และ  $10^{-6} \text{ M}$  ซึ่งได้สมการดังรูปที่ 4.42



รูปที่ 4.41 กราฟแสดงค่า RGB



รูปที่ 4.42 แสดงค่า Red Intensity กับ Concentration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นการวิเคราะห์ค่า Red ซึ่งมีความเป็นเชิงเส้น ดังรูปที่ 4.42 จะได้สมการ

$$y = 34.543 \ln(x) + 570.13 \quad (4.3)$$

สมการที่ 4.3 มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี ในช่วงความเข้มข้น  $10^{-6}$  M –  $10^{-5}$  M พบว่าได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นจาก RGB

Concentration (M)	Red <sub>ทดลอง</sub>	Concentration <sub>สมการ</sub> (M)	% error
$6 \times 10^{-6}$	154	$5.597 \times 10^{-6}$	2.27
$5 \times 10^{-5}$	249	$1.116 \times 10^{-4}$	83.5

จากตารางที่ 4.2 พบว่า ค่าความเข้มข้น  $6 \times 10^{-6}$  M มีความคลาดเคลื่อนที่ลดลงจาก 18 % เหลือ 2.27 % คิดเป็น 12.6 % แต่ในความเข้มข้น  $5 \times 10^{-5}$  M มีค่าความคลาดเคลื่อนที่เพิ่ม ดังนั้นผู้ทำการทดลองจึงกลับไปใช้สมการในช่วงแรกและช่วงหลัง สมการ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.3 สรุปผลการทดลองในการเลือกใช้ช่วงความเข้มข้น

Concentration (M)	หมายเหตุ
$1 \times 10^{-7} - 9 \times 10^{-7}$	สมการที่ 4.1
$1 \times 10^{-6} - 9 \times 10^{-6}$	สมการที่ 4.3
$1 \times 10^{-5} - 9 \times 10^{-5}$	สมการที่ 4.1
$1 \times 10^{-4} - 9 \times 10^{-4}$	สมการที่ 4.2
$1 \times 10^{-3} - 9 \times 10^{-3}$	สมการที่ 4.2

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาระบบตรวจวัดการถ่ายภาพลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความเข้มข้นสารละลายโรดามิน 6จี ผู้ทำการทดลองพบว่าแนวโน้มของกราฟเป็นไปตามกราฟทฤษฎีที่ต้องการ เมื่อค่าความเข้มข้นสารละลายเพิ่มมากขึ้นค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันจนถึงค่าความเข้มแสงสูงสุดแล้วค่อยๆลดลง เนื่องจากปรากฏการณ์ดูดกลืนซ้ำ (re-absorption) ของสารละลาย ซึ่งจากการทดลองนี้ผู้ทำการทดลองได้ทำการถ่ายภาพด้วยกล้อง Digital microscope แล้วนำภาพมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม LabView ซึ่งผลที่ได้เมื่อนำมาเขียนกราฟสามารถแบ่งกราฟได้เป็น 2 ช่วง ดังนี้

**ความเข้มข้นสารละลายช่วงแรก** หาสมการจากกราฟ จะได้สมการดังนี้

Equation	$R^2$
$y = 10.571 \ln(x) + 237.25$	0.9373

ดังนั้นเมื่อนำมาแปลงสมการ เพื่อในความเข้มข้นของสารละลายโรดามิน 6 จี ได้ดังนี้

Equation	$R^2$
$C = e^{\frac{I - 237.25}{10.571}}$	

**ความเข้มข้นสารละลายช่วงหลัง** หาสมการจากกราฟ จะได้สมการดังนี้

Equation	$R^2$
$y = -5.739 \ln(x) + 67.757$	0.9432

ดังนั้นเมื่อนำมาแปลงสมการ เพื่อในความเข้มข้นของสารละลายโรดามิน 6 จี ได้ดังนี้

Equation	$R^2$
$C = e^{\frac{I - 67.757}{-5.739}}$	

จากรูปที่ 4.41 ช่วงความเข้มข้น  $10^{-5}$  M เป็นช่วงที่แยกค่าความเข้มของสารละลายได้ยาก ผู้ทำการทดลองจึงได้สังเกตเห็นสีที่แตกต่างของสารละลายจึงนำภาพที่ได้มาหาค่า RGB ซึ่งได้กราฟความสัมพันธ์

ระหว่าง RGB Intensity กับ Concentration พบว่ากราฟของค่า Red มีความเป็นเชิงเส้นมากที่สุด ซึ่งได้สมการดังนี้  $y = 34.543 \ln(x) + 570.13$  ซึ่งเมื่อแปลงสมการแล้วจะได้  $C = e^{\frac{I-570.13}{34.543}}$  แล้วจึงนำไปหาค่าความเข้มข้นสารละลายที่อยู่ในช่วงเชิงเส้นหรือความเข้มข้นสารละลายช่วง  $10^{-6}$  แต่ถ้าเกินในช่วงเชิงเส้นจะกลับไปใช้สมการของความเข้มข้นสารละลายช่วงแรกและช่วงหลัง คือ  $C = e^{\frac{I-237.25}{10.571}}$  และ  $C = e^{\frac{I-67.757}{-5.739}}$  ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ศึกษาระบบระบบตรวจวัดการถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์สำหรับการวัดความเข้มข้นสารละลายโรดามีน 6จี ซึ่งผู้ทำวิจัยได้ทำการทดลอง และพบปัญหาในงานวิจัยด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. การใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็น LED สีเขียว ไม่สามารถควบคุมให้แสงนั้นมีความสม่ำเสมอได้ ทำให้การเรืองของสารไม่สม่ำเสมอเป็นผลให้ค่าที่ได้มีคลาดเคลื่อน
2. ปริมาณสารละลายที่ใช้ในแต่ละการทดลองนั้น ไม่สามารถควบคุมการระเหยได้ ทำให้ค่าที่วัดได้จากผลการทดลองนั้นคลาดเคลื่อนได้ จึงใช้แผ่นพาราฟิล์มเข้ามาช่วยในการลดการระเหย
3. การจัดใส่คิวเวทท์ลงบนฐานวางคิวเวทท์ มีโอกาสทำให้เกิดรอยที่บริเวณคิวเวทท์ได้ เป็นผลทำให้ผลการทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้ ต้องพยายามใส่ให้เบาและใส่ถูกมืออย่าง

## เอกสารอ้างอิง

- [1] ชไมพร แน่นนันท, ฌภัทร คติมนิธร และณัฐพร คำเสน. 2557 “สมบัติทางแสงของสารเรืองแสงที่ผสมกับอนุภาคโลหะที่มีขนาดเล็กระดับนาโน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาฟิสิกส์ประยุกต์ ภาควิชาฟิสิกส์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [2] n.p. n.d. Rhodamine 6G. [Online]. Available : [https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodamine\\_6G](https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodamine_6G).
- [3] สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล “การวัดการดูดกลืน.” [Online]. Available : [http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page2\\_3.html](http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/color-light/page2_3.html).
- [4] รองศาสตราจารย์ชูชาติ อารีตราสนธิ. 2544. “เครื่องมือวิทยาศาสตร์ scientific instruments” ครั้งที่พิมพ์ 3. ขอนแก่น : โรงพิมพ์คลังน่านาวิทยา.
- [5] n.p. n.d. Spectrofluorometer. [Online]. Available : <https://www.directindustry.com/prod/horiba-scientific/product-25366-597007.html>.
- [6] n.p. n.d. เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ Nicolet iS10 FT-IR. [Online]. Available : [www.b2bthai.com/Search/Product/Detail/163722/เครื่องสเปกโตรมิเตอร์NicoletiS10F-IR#prettyPhoto](http://www.b2bthai.com/Search/Product/Detail/163722/เครื่องสเปกโตรมิเตอร์NicoletiS10F-IR#prettyPhoto)
- [7] n.p. n.d. สี. [Online]. Available : <http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%AA%E0%B8%B5>.
- [8] n.p. n.d. สี. [Online]. Available : [http://www.rmutphysics.com/physics/oldfront/62/light1/ligh\\_26.htm](http://www.rmutphysics.com/physics/oldfront/62/light1/ligh_26.htm)
- [9] n.p. n.d. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการประมวลผลภาพดิจิทัล. [Online]. Available : <https://nextsoftwares.wordpress.com>.
- [10] กิจไพบุลย์ ชิวพันธุ์ศรี. 2554. “LabVIEW ซอฟต์แวร์เพื่อการพัฒนาาระบบการวัดและควบคุม” กรุงเทพฯ : บริษัท ซีอีดูเคชั่น จำกัด (มหาชน). [วันที่สืบค้น 13 ก.ย. 2559]
- [11] รองศาสตราจารย์ ดร.ปกรณ์ แก้วตระกูลพงษ์. 2559 “การประยุกต์อัลกอริทึมแมชชีนวิชัน โดยใช้ NI Vision” ครั้งที่พิมพ์ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [12] n.p. n.d. ทฤษฎีและหลักการ. [Online]. Available : [www.research-system.siam.edu/images/coop/DESIGN\\_AND\\_CONSTRUCTION\\_OF\\_ELECTRICAL\\_MEASUREMENT\\_USING\\_LABVIEW\\_PROGRAM/ch2.pdf](http://www.research-system.siam.edu/images/coop/DESIGN_AND_CONSTRUCTION_OF_ELECTRICAL_MEASUREMENT_USING_LABVIEW_PROGRAM/ch2.pdf).
- [13] n.p. n.d. Ethanol. [Online]. Available : <http://www.wikiwand.com/sco/Ethanol>.

- [14] n.p. n.d. **Apple iPhone 5S**. [Online]. Available :  
<http://www.thaimobilecenter.com/spec/Apple-iPhone-5S.asp>.
- [15] n.p. n.d. **The Spectrometer**. [Online]. Available :  
<https://www.boundless.com/physics/textbooks/boundless-physics-textbook/wave-optics-26/applications-of-wave-optics-177/the-spectrometer-647-6066/>.
- [16] n.p. n.d. **เส้นใยแก้วนำแสง**. [Online]. Available :  
[http://mc404-gifted-science.blogspot.com/2012/07/blog-post\\_4655.html](http://mc404-gifted-science.blogspot.com/2012/07/blog-post_4655.html)



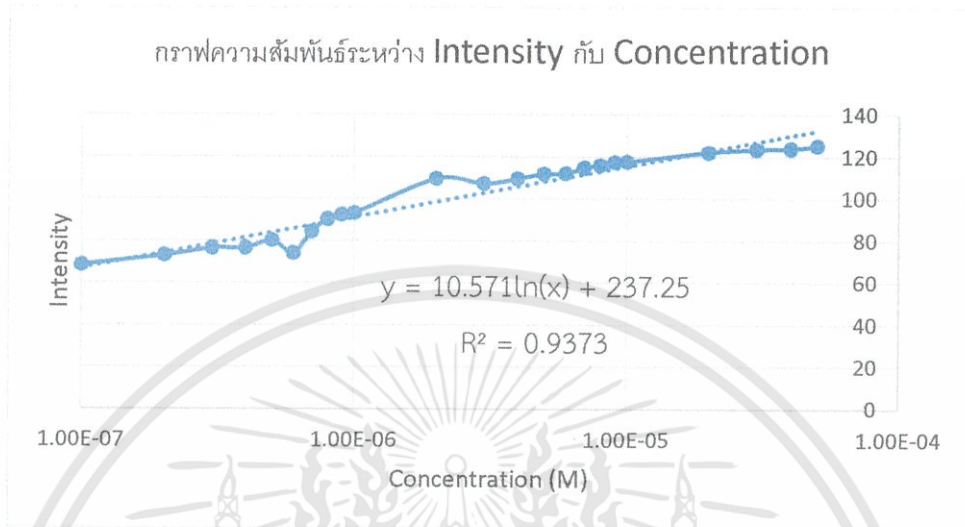
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### วิธีการคำนวณ



รูปที่ ก.1 กราฟผลการทดลองช่วงแรก

ผลการทดลอง พบว่ามีการวัดช่วงแรกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้น จะได้กราฟดังรูปที่ ก.1 ซึ่งได้สมการดังนี้

ผลการทดลอง

Equation

$$y = 10.571\ln(x) + 237.25$$

$R^2$

$$0.9373$$

ซึ่งจากรายผลการทดลองสามารถหาความสัมพันธ์ความเข้มข้นสารได้ ดังนี้

$$y = 10.571\ln(x) + 237.25$$

จะได้

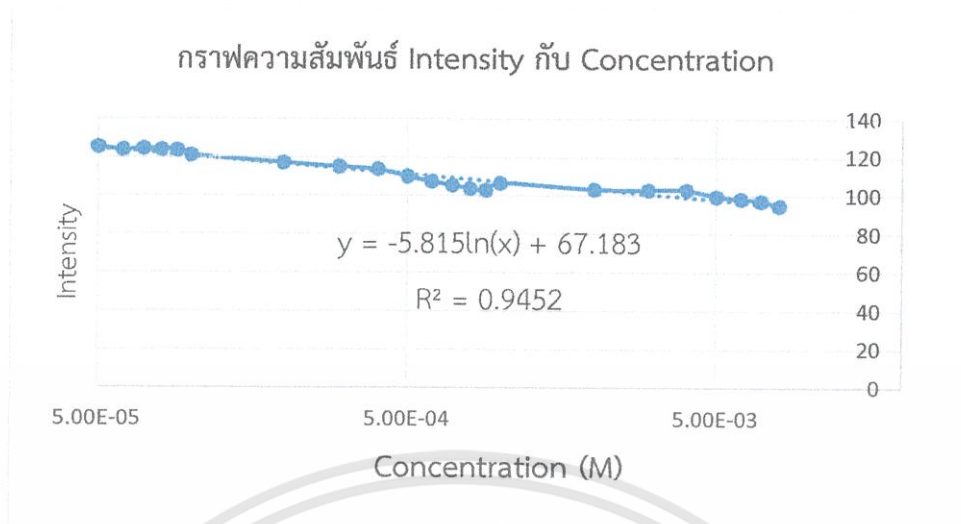
$$I = 10.571\ln(C) + 237.25$$

$$10.571\ln(C) = I - 237.25$$

$$\ln(C) = \frac{I - 237.25}{10.571}$$

$$C = e^{\frac{I - 237.25}{10.571}}$$

ดังนั้นจะได้สมการความเข้มข้นสาร  $C = e^{\frac{I - 237.25}{10.571}}$



รูปที่ ก.2 กราฟผลการทดลองช่วงหลัง

ผลการทดลอง พบว่ามีการวัดช่วงหลังมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสารละลายมากขึ้น ซึ่งเกิดจากปรากฏการณ์สะท้อนกลับหมด จะได้กราฟดังรูปที่ ก.2 ซึ่งได้สมการดังนี้

ผลการทดลอง

Equation	$R^2$
$y = -5.739\ln(x) + 67.757$	0.9432

ซึ่งจากรายการผลการทดลองสามารถหาความสัมพันธ์ความเข้มข้นสารได้ ดังนี้

จะได้

$$y = -5.739\ln(x) + 67.757$$

$$I = -5.739\ln(C) + 67.757$$

$$-5.739\ln(C) = I - 67.757$$

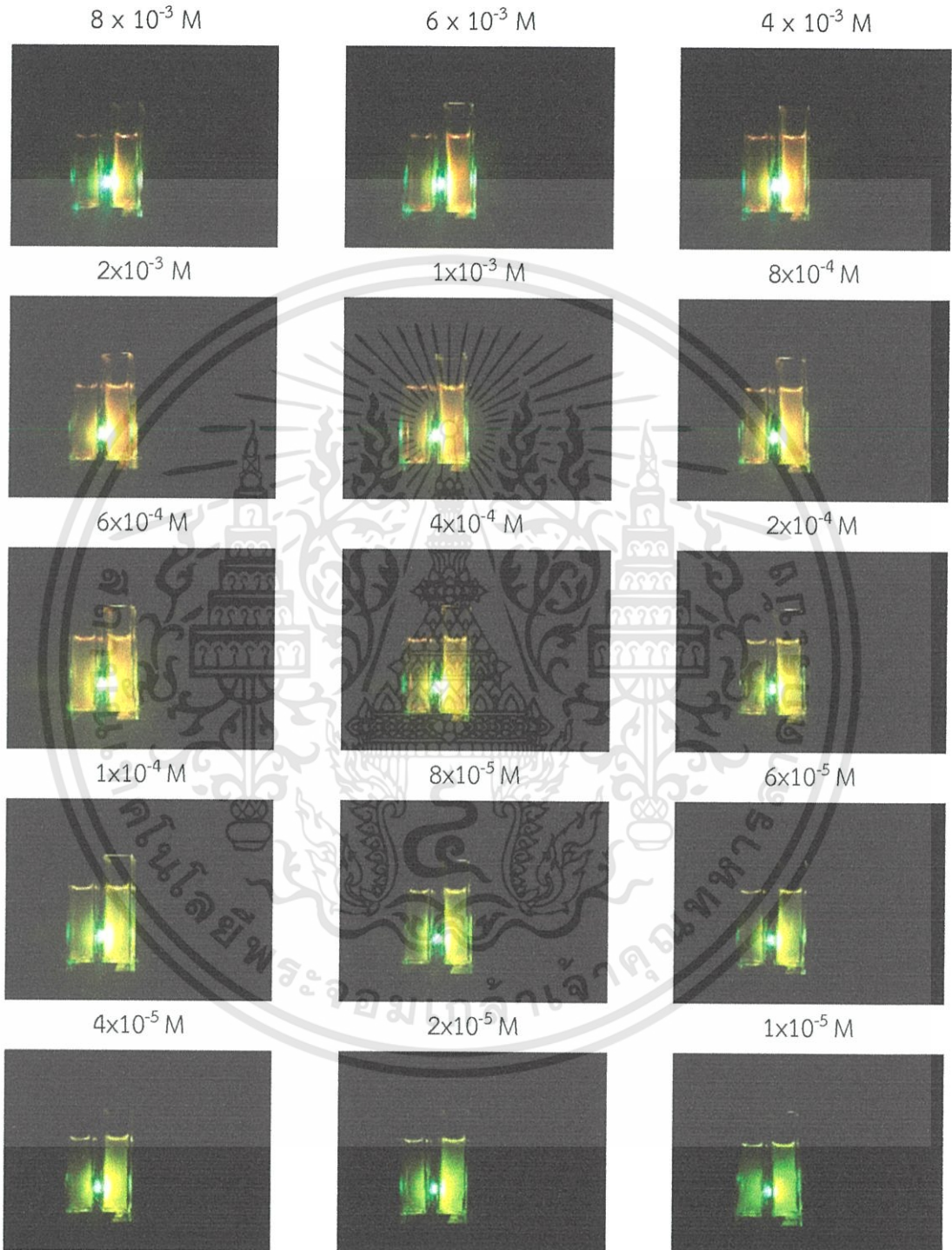
$$\ln(C) = \frac{I - 67.757}{-5.739}$$

$$C = e^{\frac{I - 67.757}{-5.739}}$$

ดังนั้นจะได้สมการความเข้มข้นสาร  $C = e^{\frac{I - 67.757}{-5.739}}$

## ผลการถ่ายภาพ

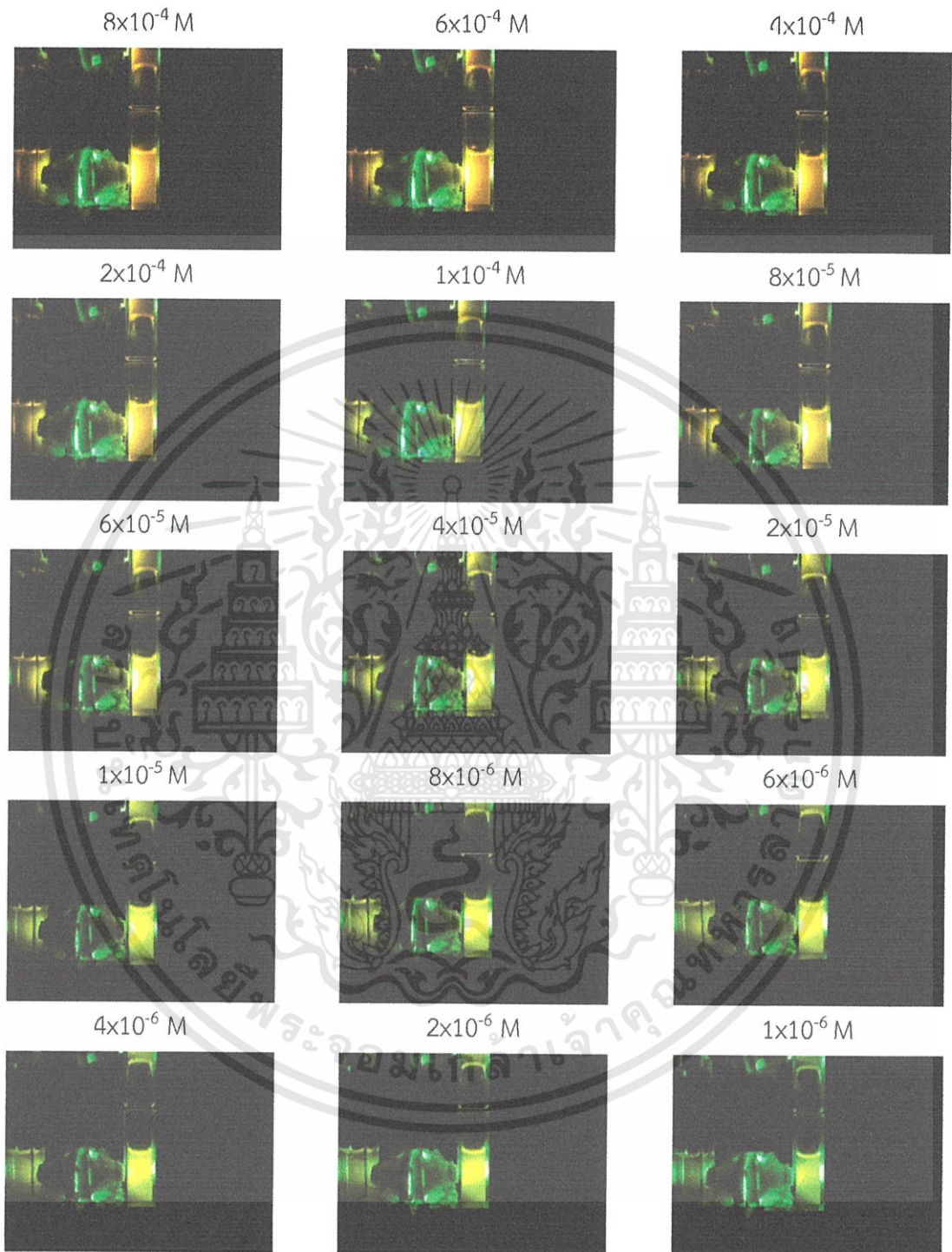
ผลการถ่ายภาพโดยใช้กล้องโทรศัพท์ iPhone 5s โดยไม่ใช้เลนส์รวมแสงให้กับLED



รูปที่ ก.3 ตัวอย่างภาพถ่ายที่ไม่ใช้เลนส์รวมแสงให้กับLED

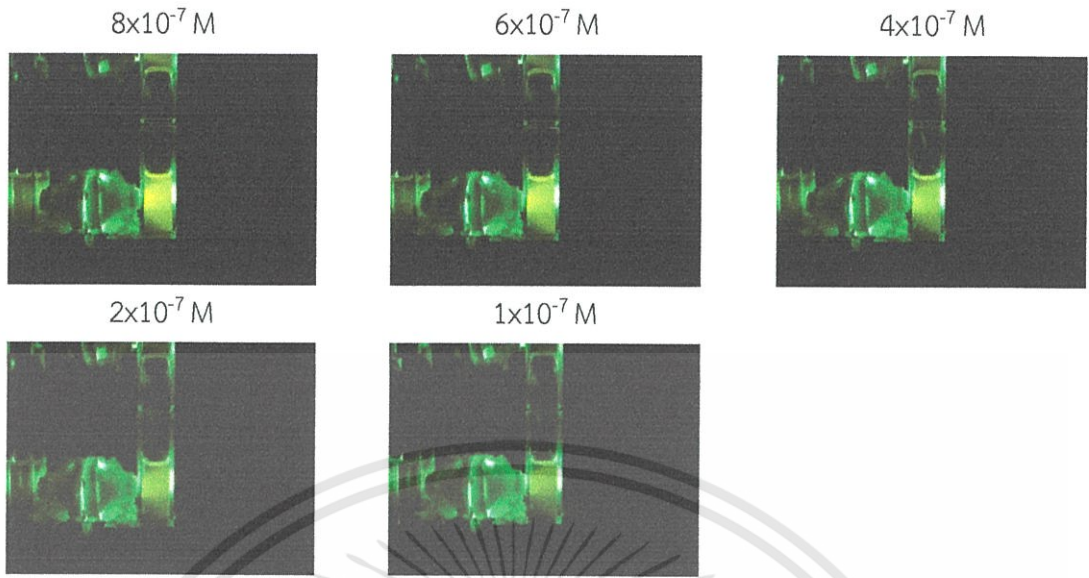
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการถ่ายภาพโดยใช้กล้องโทรศัพท์ iPhone 5s โดยใช้พลาสติกรูปทรงกรวยปิ๊บแสง



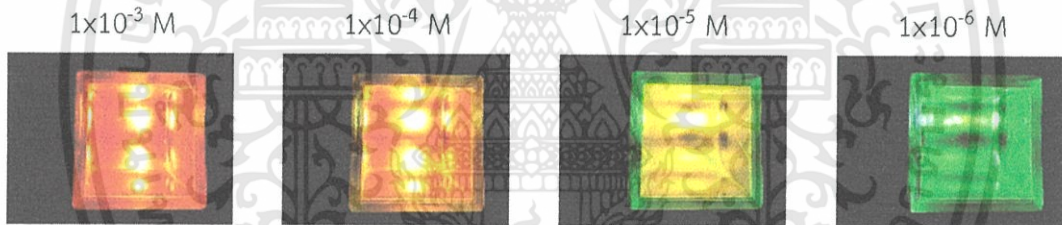
รูปที่ ก.4 ตัวอย่างภาพถ่ายที่ใช้พลาสติกรูปทรงกรวยปิ๊บแสงให้กับLED

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



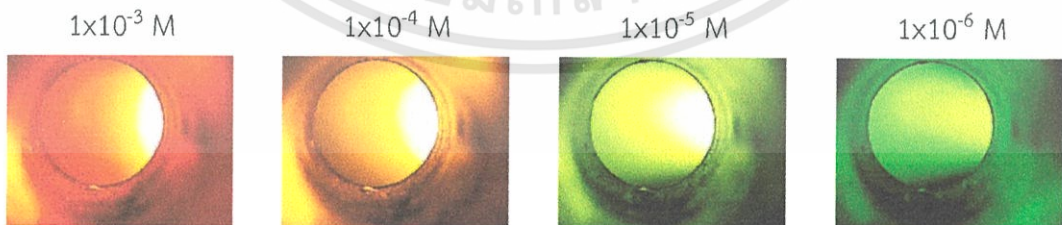
รูปที่ ก.5 ตัวอย่างภาพถ่ายที่ใช้พลาสติกรูปทรงกรวยบีบแสงให้กับLED (ต่อ)

ผลการถ่ายภาพโดยใช้กล้อง Digital microscope ถ่ายภาพจากด้านบน



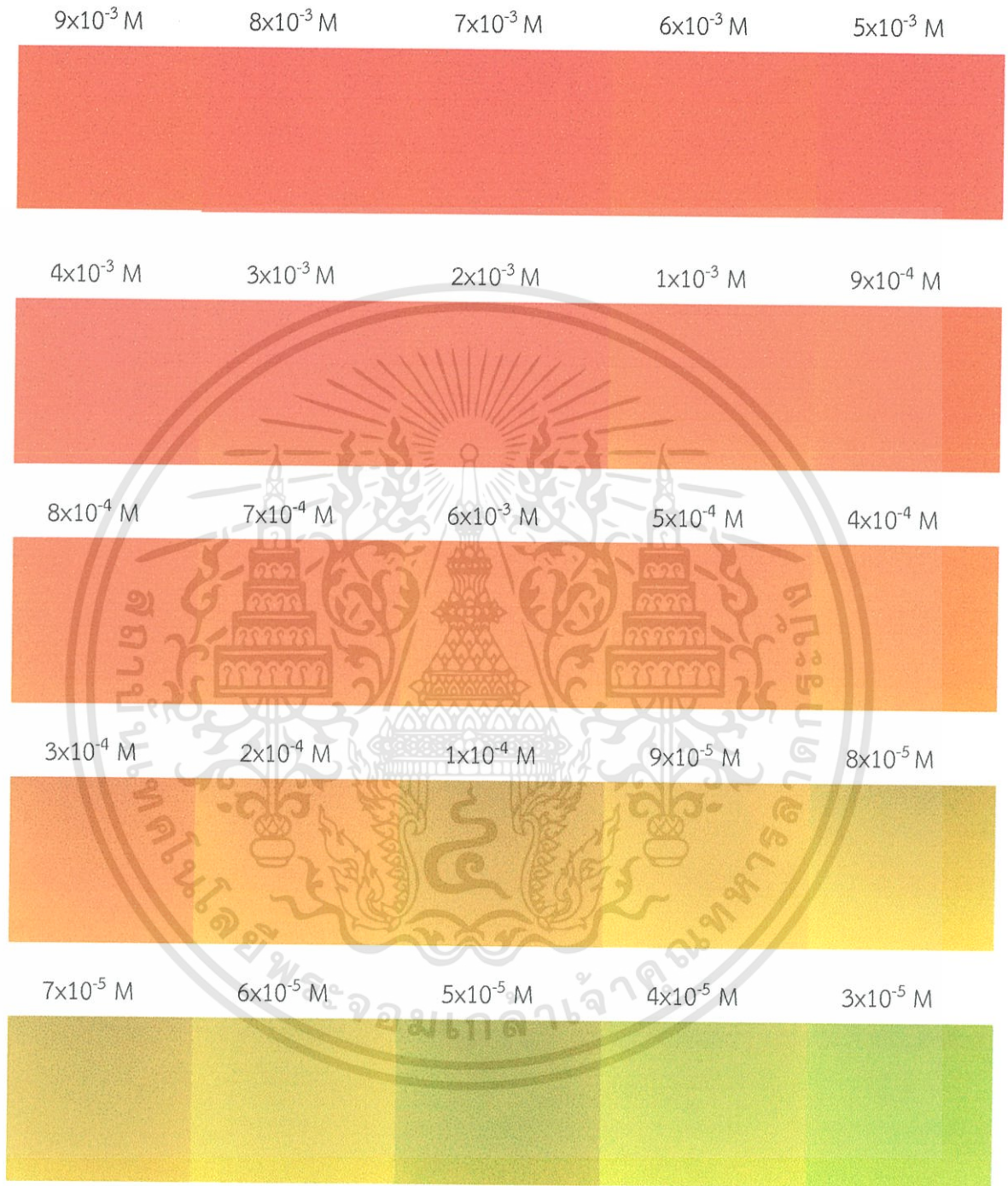
รูปที่ ก.6 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ด้านบน

ผลการถ่ายภาพโดยใช้กล้อง Digital microscope ถ่ายภาพจากด้านข้าง



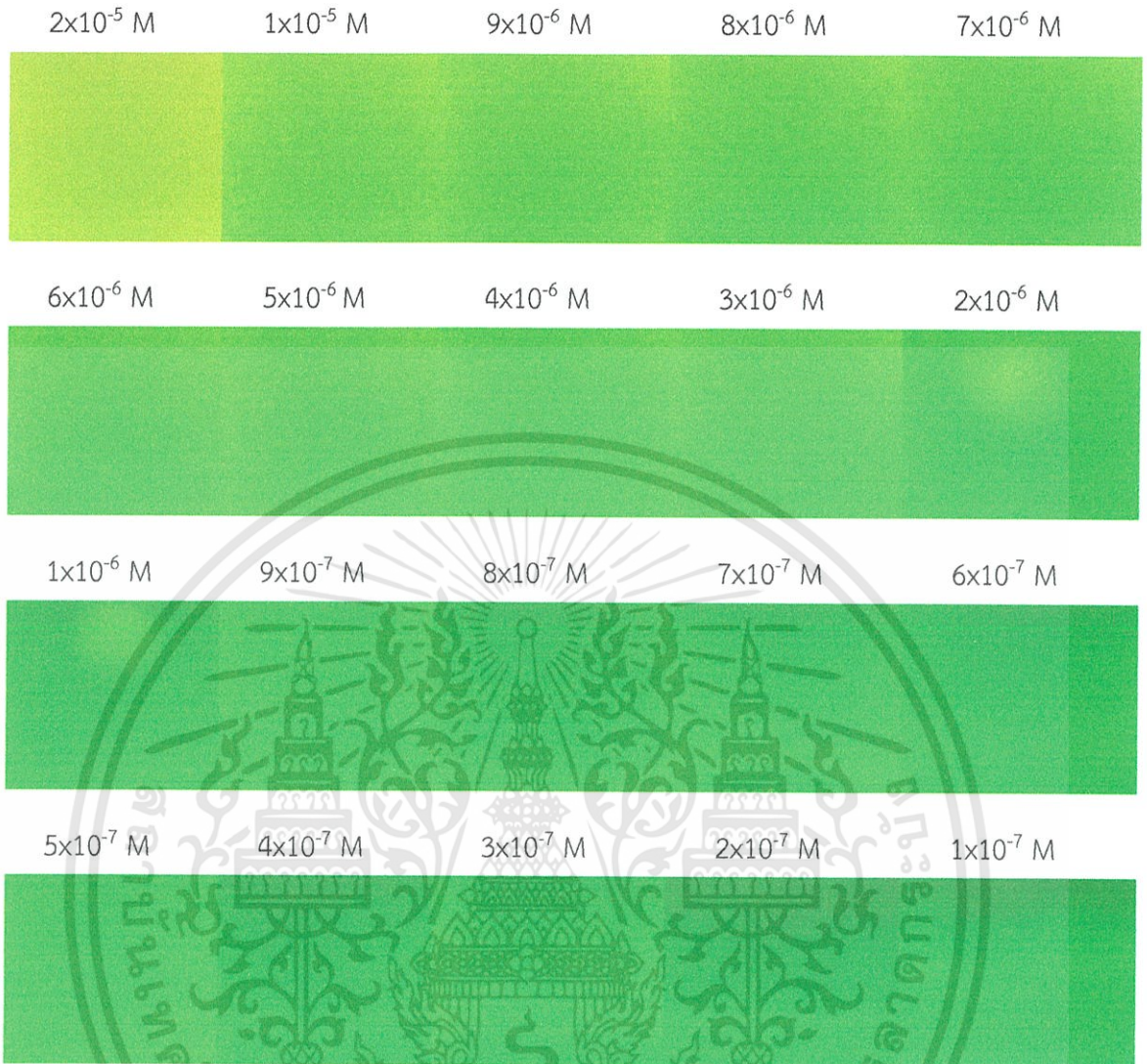
รูปที่ ก.7 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ด้านข้าง

กล้อง Digital microscope ในระบบการทดลองที่ 2



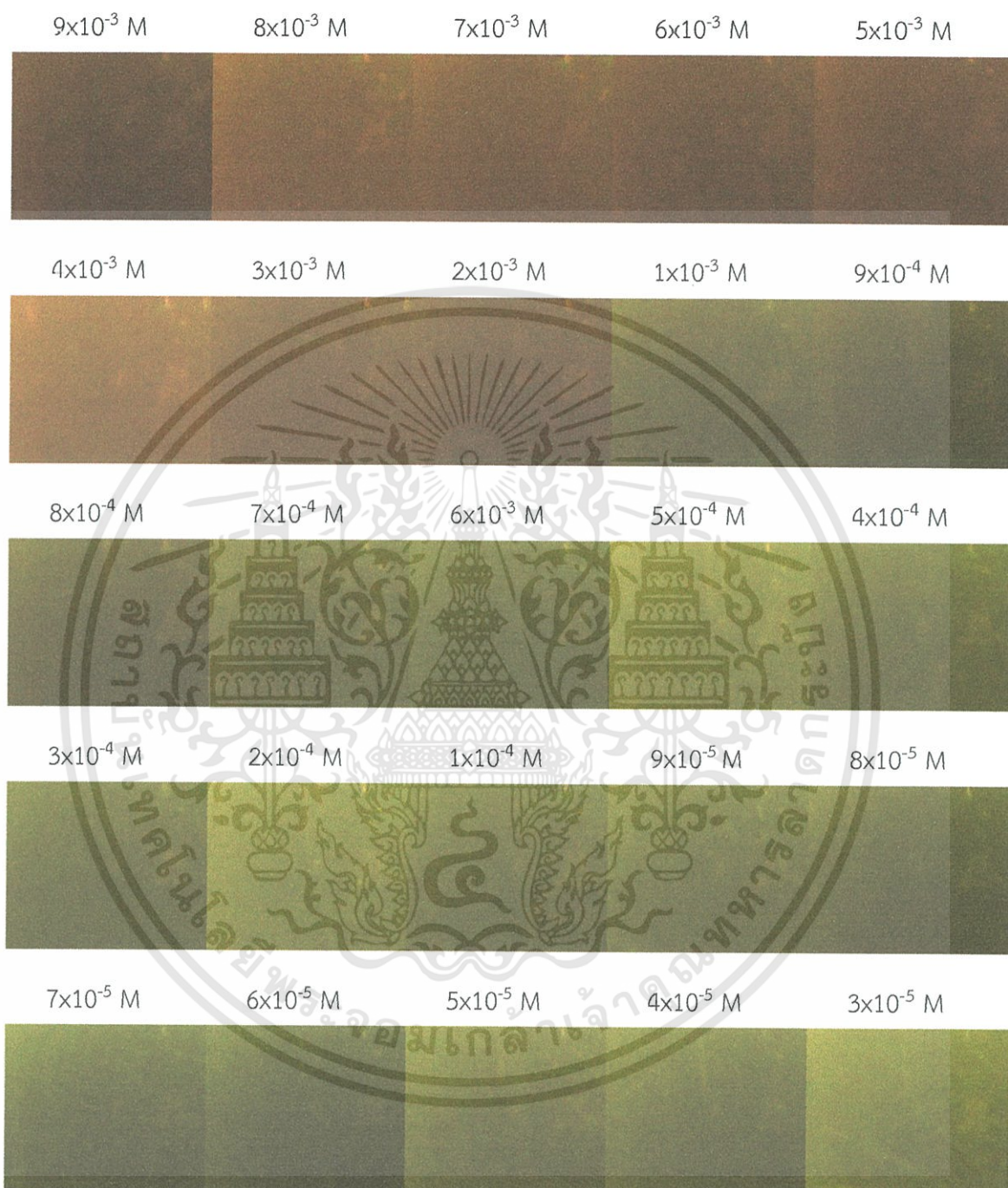
รูปที่ ก.8 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ระบบการทดลองที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



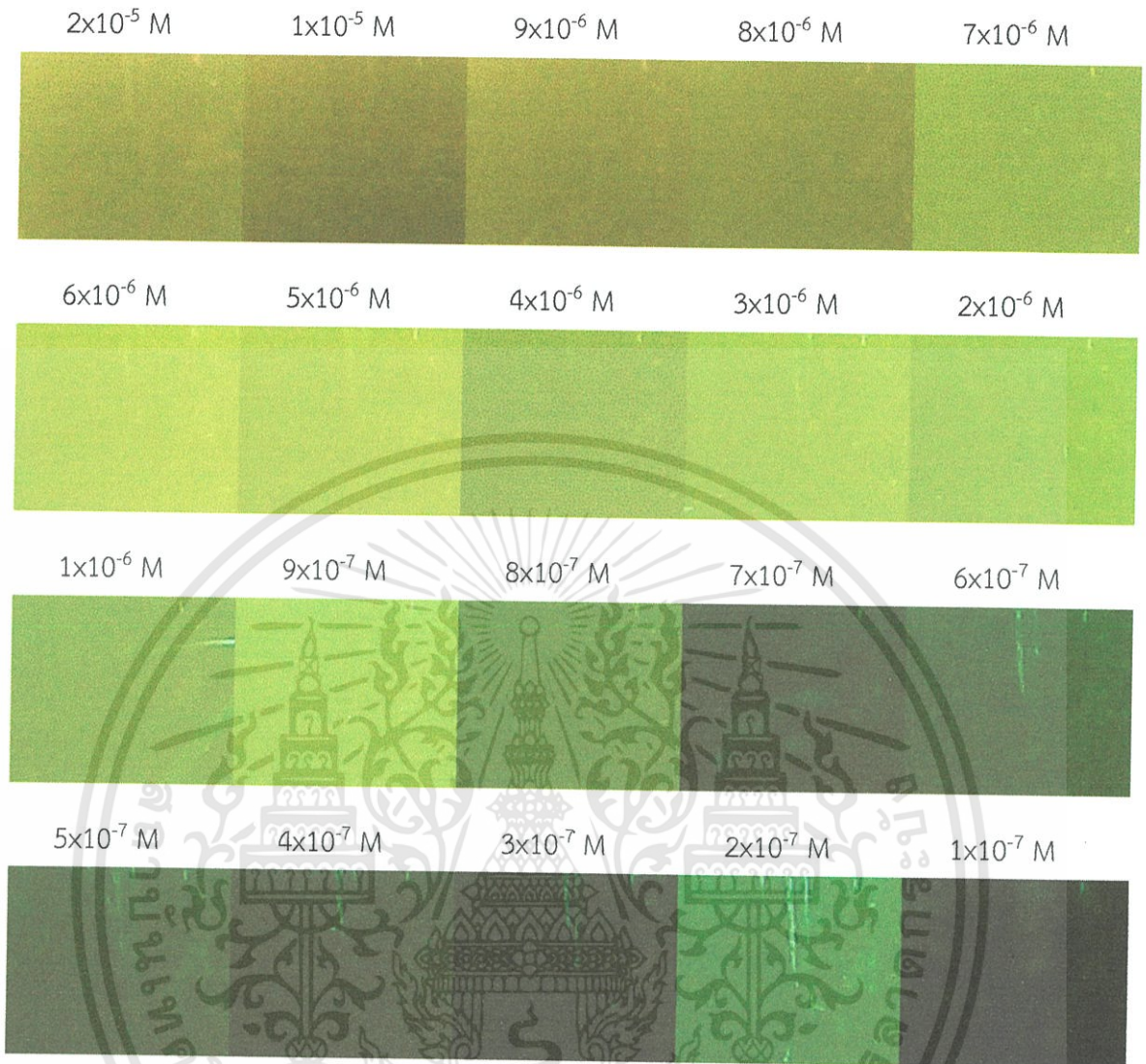
รูปที่ ก.9 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Digital microscope ระบบการทดลองที่ 2 (ต่อ)

## กล้อง Webcam ในระบบการทดลองที่ 2



รูปที่ ก.10 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Webcam ระบบการทดลองที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.11 ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้อง Webcam ระบบการทดลองที่ 2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้