

กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์แบบพกพา
PORTABLE FLUORESCENCE MICROSCOPE



ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์แบบพกพา
PORTABLE FLUORESCENCE MICROSCOPE

โดย
นางสาวเมธวี นวภัสธาวิ

อาจารย์ที่ปรึกษา
ดร.วิบูลย์ ปิยวัฒน์เมธา

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์ ปีการศึกษา 2559

สาขาวิชา วิศวกรรมชีวการแพทย์

คณะ วิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เรื่อง กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์แบบพกพา

Portable Fluorescence Microscope

ผู้จัดทำ นางสาวเมธวี นวภัสธาวี รหัสประจำตัว 56010980

รายงานนี้ผ่านการตรวจสอบโดยอาจารย์ที่ปรึกษาแล้ว



WP

(ดร.วิบูลย์ ปิยวัฒน์เมธา)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title	PORTABLE FLUORESCENCE MICROSCOPE
Student	Miss. Maytawee Nawapattawee Student ID 56010980
Degree	Bachelor of Engineering
Program	Biomedical Engineering
Year	2016
Thesis Advisor	Dr.Wibool Piyawattanametha

ABSTRACT

Optical microscopy is a centuries-old imaging technology that is now indispensable for a wide range of fields, including medical diagnostics, biological sciences, and materials research. Conventional laboratory-grade microscopes also incorporate a large support base, and a turret of high-end objective lenses to permit variable magnification. These additional features enable versatile, high-quality imaging in a stable environment, but also yield microscope systems that are heavy non-portable and costly. These problems come up with the idea of creating the portable fluorescence microscope. Since the universal electronic device people use nowadays is smartphone, this project introduce the Android application software and hardware design of Fluorescence Microscope. Various fields of image processing are provided on Android application. For examples, adjusting image threshold, counting the number of sample, or separating the color of each specimen passing through filters. For the microscope, hardware is designed the portable model which suitable to work with smartphone by SolidWorks and printed by 3D model printer. Moreover, we designed to has high accuracy automated x, y axis slide stages and support different color and wavelength of the filter. The Circulating Tumor Cells are used as an ideal sample for this work. Circulating Tumor cells (CTCs) are cells which have shed into the vasculature from a primary tumor and circulate in the bloodstream. To detect the CTCs, we need three different type of dye color which are red, green and blue. The goal of this research is to support the cell searching development by Portable Fluorescence Microscope

Keywords - Fluorescence, Android, Microscope, Circulating Tumor Cell, Smartphone

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากอาจารย์ ดร.วิบูลย์ ปิยวัฒน์ เมธา อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

อนึ่ง ผู้วิจัยหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ ให้แก่เหล่าคณาจารย์ ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิด และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

เมธวี นวกัสธาวิ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	1
1.3 วิธีการวิจัย.....	1
1.4 ขอบเขตการวิจัย	1
1.5 แผนการดำเนินโครงการ.....	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
1.7 โครงสร้างของปริญญานิพนธ์	3
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ความรู้พื้นฐานด้านการประมวลผลภาพดิจิทัล.....	4
2.1.1 ระบบสี (Color model).....	4
2.1.2 แบบจำลองสีอื่นๆที่เกี่ยวข้อง.....	12
2.1.3 การแบ่งบริเวณรูปภาพ (Image Segmentation).....	13
2.1.4 Morphological Operation.....	25
2.1.5 การกรองข้อมูลภาพ.....	29
2.2 ความรู้พื้นฐานด้านกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์.....	35
2.2.1 Fluorescence Phenomenon.....	35
2.2.2 Fluorescence spectroscopy.....	36
2.2.3 Fluorescence microscope.....	37
2.2.4 Mechanical Design.....	40
2.2.5 ตัวกรอง.....	41
2.3 ฟิลเตอร์ (Filter).....	42
2.3.1 ชนิดของฟิลเตอร์.....	43
2.3.2 ฟิลเตอร์ที่ใช้ในการถ่ายภาพ.....	47
2.4 LED Light sources.....	48
2.4.1 ประวัติความเป็นมาของ LED.....	48
2.4.2 LED ในปัจจุบันและอนาคต.....	49
2.4.3 หลักการทำงานของ LED.....	50
2.4.4 ชนิดของ LED.....	51

2.4.5 การต่อวงจร.....	53
2.4.6 การระบายความร้อน.....	54
2.4.7 CRI.....	55
2.4.8 ค่าลูเมนต่อวัตต์ lm/w.....	55
2.4.9 โทนสี LED Warm white /Cool white / Daylight	55
2.5 เลนส์.....	56
2.5.1 เลนส์นูน (Convex Lens).....	57
2.5.2 เลนส์เว้า (concave lens)	57
2.5.3 Ball lens.....	58
2.5.4 Tunable Lens.....	58
2.5.5 ภาพที่เกิดจากเลนส์.....	59
2.5.6 ส่วนประกอบของเลนส์.....	61
2.5.7 การเขียนทางเดินของแสงผ่านเลนส์.....	62
2.5.8 ความสว่างบนพื้นที่รับแสง.....	62
2.5.9 ไดออปเตอร์.....	63
2.5.10. มุมวิฤติ.....	64
2.6. 3D Printer	65
2.6.1 หลักการทำงาน.....	65
2.6.2 ประเภทของ 3D Printer.....	66
2.6.3 การนำไปใช้.....	69
2.6.4 ข้อดีของเครื่องพิมพ์สามมิติ ระบบ FDM/FFF.....	71
2.6.5 ข้อเสียของเครื่องพิมพ์สามมิติ ระบบ FDM/FFF	71
2.7 มะเร็งระยะแพร่กระจาย.....	72
2.7.1 ขั้นตอนการเกิดโรคและตำแหน่งของมะเร็ง.....	72
2.7.2 ยีนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของมะเร็ง.....	73
2.7.3 การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง.....	74
2.7.4 การแพร่กระจายกับการพักตัวของเซลล์มะเร็ง.....	75
2.7.5 การใช้มาร์กเกอร์ (Marker) ในการหาแหล่งเซลล์ต้นกำเนิด.....	83
2.8 Fluorescein isothiocyanate Isomer I.....	86
บทที่ 3 แผนระเบียบวิจัย.....	87
3.1 แผนการดำเนินงาน	87
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	87
3.3 การออกแบบงานวิจัย.....	87
3.3.1 ส่วนAnalyzeและSimulate.....	87
3.3.2 ส่วนของฮาร์ดแวร์.....	89
3.3.3 ส่วนซอฟต์แวร์.....	92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	99
4.1 การทดสอบในส่วนของการซิมูเลชัน (Simulation).....	99
4.1.1 การออกแบบ Light system.....	99
4.2 การทดสอบในส่วนของฮาร์ดแวร์.....	105
4.2.1 การออกแบบตัวกล่อง.....	105
4.3 การทดสอบในส่วนของซอฟต์แวร์.....	114
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ.....	121
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	121
5.2 ข้อเสนอแนะในการพัฒนาต่อไป.....	121
เอกสารอ้างอิง.....	122



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

ตารางที่ 1.1	แผนดำเนินโครงการตั้งแต่ช่วงเดือนสิงหาคม 2559 จนถึง เดือนเมษายน 2560.....	2
ตารางที่ 4.1	แสดงการนับวัดผลที่ทำการประมวลผลโดยเทอร์คอตที่ระดับ 40 และการทำมอลโฟโลยี.....	120
ตารางที่ 4.2	แสดงการนับวัดผลที่ทำการประมวลผลโดยเทอร์คอตที่ระดับ 80 และการทำมอลโฟโลยี.....	120



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา VII ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 ระบบสี RGB.....	5
รูปที่ 2.2 ความแตกต่างระหว่างโมเดลสี RGB และ CMY.....	7
รูปที่ 2.3 ความแตกต่างระหว่างโทนสีของ RGB และ CMY.....	7
รูปที่ 2.4 ระบบสี HSV.....	8
รูปที่ 2.5 ระบบสี HLS.....	9
รูปที่ 2.6 ระบบสี LAB.....	11
รูปที่ 2.7 ตัวอย่าง Sampling ของ Luma และ Chroma.....	11
รูปที่ 2.8 ระบบสี Gray scale.....	13
รูปที่ 2.9 Bimodal image histogram.....	15
รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของการ Spilt region.....	19
รูปที่ 2.11 การทำเทรตไซด์แบบต่างๆ.....	23
รูปที่ 2.12 การทำเทรตไซด์แบบวิธี OTSU.....	24
รูปที่ 2.13 รูปเปรียบเทียบระหว่างภาพต้นแบบ และ Edge detection.....	24
รูปที่ 2.14 ค่าของ SE (Structuring Element).....	25
รูปที่ 2.15 การทำงานของ Dilation.....	25
รูปที่ 2.16 ภาพการทำ Dilation (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Dilation.....	26
รูปที่ 2.17 การทำงานของ Erosion.....	26
รูปที่ 2.18 ภาพการทำ Erosion (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Erosion.....	27
รูปที่ 2.19 การทำงานของ Opening.....	27
รูปที่ 2.20 ภาพการทำ Opening (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Opening.....	28
รูปที่ 2.21 การทำงานของ Closing.....	28
รูปที่ 2.21 ภาพการทำ Closing (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Closing.....	29
รูปที่ 2.23 ภาพเปรียบเทียบระหว่าง (a) ภาพต้นฉบับ (b) Erosion (c) Dilation (d) Opening (e) Closing.....	29
รูปที่ 2.24 การกรองข้อมูลภาพ.....	30
รูปที่ 2.25 ผลลัพธ์การทำคอนโวลูชัน.....	32
รูปที่ 2.26 ผลของการเติมค่าศูนย์รอบภาพเริ่มต้นก่อนทำการคอนโวลูชัน.....	33
รูปที่ 2.27 ภาพ Bone Osteosarcoma Cells ที่ได้จากการถ่ายด้วยเทคนิค Fluorescence มาซ้อนกัน.....	36
รูปที่ 2.28 แสดงลักษณะการเกิดการปลดปล่อยแสงแต่ละชนิด.....	37
รูปที่ 2.29 องค์ประกอบหลักๆของกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์.....	38
รูปที่ 2.30 คอนเซ็ปต์ของกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์ที่ใช้ Dichroic Mirror.....	39
รูปที่ 2.31 หลักการทำงานร่วมกับการใช้ filter.....	39
รูปที่ 2.32 การออกแบบกลไกการปรับระยะ.....	40
รูปที่ 2.33 Filter set ที่ใช้ในกล้องจุลทรรศน์.....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา VIII ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.34	ฟิลเตอร์แบบวงแหวน.....	43
รูปที่ 2.35	ฟิลเตอร์แบบแผ่น.....	43
รูปที่ 2.36	ฟิลเตอร์สี.....	46
รูปที่ 2.37	ฟิลเตอร์ลักษณะต่างๆ.....	47
รูปที่ 2.38	สัญลักษณ์ LED.....	49
รูปที่ 2.39	สัญลักษณ์ไดโอด.....	49
รูปที่ 2.40	Chip On Board.....	51
รูปที่ 2.41	Surface Mounted Device (SMD)	52
รูปที่ 2.42	ภาพแสดง High Brightness.....	53
รูปที่ 2.43	ภาพแสดง ความยาวคลื่นของ LED สีต่างๆ.....	53
รูปที่ 2.44	วงจรการต่อ LED.....	54
รูปที่ 2.45	Heat Sink.....	54
รูปที่ 2.46	ภาพแสดง Ball lens.....	58
รูปที่ 2.47	แสดงรายละเอียดของ Tunable Lens รุ่นต่าง ๆ	59
รูปที่ 2.48	ภาพที่เกิดจากเลนส์นูน.....	60
รูปที่ 2.49	ภาพที่เกิดจากเลนส์เว้า.....	60
รูปที่ 2.50	ส่วนประกอบของเลนส์นูนและเลนส์เว้า.....	61
รูปที่ 2.51	มุมตกกระทบที่ทำให้เกิดมุมหักเหจากตัวกลางที่มีความหนาแน่นต่างกัน.....	64
รูปที่ 2.52	เครื่องพิมพ์สามมิติ วัสดุ และ โมเดลที่พิมพ์เสร็จสมบูรณ์.....	66
รูปที่ 2.53	เครื่องพิมพ์สามมิติแบบ Cartesian.....	67
รูปที่ 2.54	เครื่องพิมพ์สามมิติของ Prusa.....	68
รูปที่ 2.55	เครื่องพิมพ์สามมิติแบบ Delta.....	69
รูปที่ 2.56	ชิ้นงานที่เกิดจากการพิมพ์โดย FDM 3D Printer.....	69
รูปที่ 2.57	ชิ้นงานScaleที่เกิดจากการพิมพ์ โดย FDM 3D Printer.....	70
รูปที่ 2.58	คอมไฟ ที่เกิดจากการออกแบบด้วยเครื่องพิมพ์ 3มิติ.....	70
รูปที่ 2.59	มือสำหรับผู้พิการที่เกิดจากการพิมพ์โดย FDM 3D Printer.....	71
รูปที่ 2.60	การดำเนินของโรคและโอกาสในการแพร่กระจายของยีนมะเร็ง.....	72
รูปที่ 2.61	Fluorescent Tags ไปจับกับ Cell receptor.....	84
รูปที่ 2.62	การจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดแบบ Fluorescent-activated cell sorting.....	85
รูปที่ 2.63	สารประกอบ FITC (จาก Sigma Aldrich)	86
รูปที่ 3.1	หน้าสเปรดชีทของตัวโปรแกรม Zemax.....	89
รูปที่ 3.2	Part Mode ใน Solidwork.....	90
รูปที่ 3.3	Assembly Mode ใน Solidwork.....	91
รูปที่ 3.4	หน้าต่างเริ่มต้นของโปรแกรม Android Studio.....	92
รูปที่ 3.5	หน้าต่างเริ่มต้นของโปรแกรม Android Studio ส่วน Quick Start.....	93
รูปที่ 3.6	หน้าต่างเริ่มต้นของโปรแกรม Android Studio.....	94
รูปที่ 3.7	การตั้งชื่อแอปพลิเคชันที่ต้องการ.....	95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา IX ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.8 การกำหนดเวอร์ชันแอนดรอยด์ขั้นต่ำที่จะให้รองรับ.....	95
รูปที่ 3.9 Template แบบต่างๆ.....	96
รูปที่ 3.10 การตั้งชื่อให้กับ Activity หลัก.....	97
รูปที่ 3.11 หน้าจอโปรแกรม Android Studio.....	97
รูปที่ 4.1 แบบจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ Tunable lens EL-10-30-TC และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens.....	101
รูปที่ 4.2 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ Tunable lens EL-10-30-TC กับ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens.....	101
รูปที่ 4.3 แบบจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens.....	101
รูปที่ 4.4 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens.....	103
รูปที่ 4.5 แบบจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens.....	103
รูปที่ 4.6 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens ที่ระยะ do1 ต่ำสุด.....	104
รูปที่ 4.7 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 6.0mm Dia. X 6.0 EFL Plano convex lens.....	105
รูปที่ 4.8 แสดงโมเดลกล้องจุลทรรศน์ตัวแรก.....	106
รูปที่ 4.9 แสดงส่วนประกอบของ Stage กล้องจุลทรรศน์.....	106
รูปที่ 4.10 แสดงส่วนประกอบของกล้องและการปรับระยะแกนต่าง ๆ.....	106
รูปที่ 4.11 แบบแสดงกล้องจุลทรรศน์ หลังการพิมพ์สามมิติ ในส่วนของ stage.....	107
รูปที่ 4.12 แบบแสดงกล้องจุลทรรศน์ หลังการพิมพ์สามมิติ ในส่วนของ cover.....	107
รูปที่ 4.11 แบบแสดงกล้องจุลทรรศน์ตัวที่สอง.....	108
รูปที่ 4.12 แสดงโมเดลกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์.....	108
รูปที่ 4.13 แสดงด้านหน้าของโมเดลกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์.....	109
รูปที่ 4.14 Filter box.....	109
รูปที่ 4.15 Lens box.....	110
รูปที่ 4.16 Fluorescence LED housing.....	110
รูปที่ 4.17 Lens Case สำหรับเลนส์ขนาด 6.0mm Dia.....	110
รูปที่ 4.18 แสดงโมเดลเลนส์ Lens Case และ Lens box มาประกอบกัน.....	111
รูปที่ 4.19 cover ของตัวกล้องจุลทรรศน์.....	111
รูปที่ 4.20 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens.....	112
รูปที่ 4.21 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens.....	112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.22 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 6.0mm Dia. X 6.0 EFL Plano convex lens.....	112
รูปที่ 4.23 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 2.0mm Dia. X 2.0 EFL Plano convex lens.....	112
รูปที่ 4.24 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ (ไม่ได้ผ่าน filter)	113
รูปที่ 4.25 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ ผ่าน Longpass Filter, Cut-On wavelength: 450 nm.....	113
รูปที่ 4.26 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ ผ่าน Bandpass Filter, Cut-On wavelength: 440 nm.....	113
รูปที่ 4.27 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ ผ่าน Bandpass Filter, Cut-On wavelength: 520 nm.....	114
รูปที่ 4.28 ไอคอนของแอปพลิเคชัน.....	114
รูปที่ 4.29 หน้าจอแอปพลิเคชันของแต่ละ Fragment ต่างๆกัน สามารถเปลี่ยนแต่ละหน้าจอได้โดยการสไลด์ไปด้านข้าง.....	115
รูปที่ 4.30 หน้าจอแอปพลิเคชันของ Fragment แรก หลังจากการถ่ายรูปเซลล์เยื่อหุ้ม และบันทึกเสร็จสิ้น.....	115
รูปที่ 4.31 หน้าจอแอปพลิเคชันของ Fragment ที่สอง หลังจากการปรับแต่งรูป ครอบรูปภาพเซลล์เยื่อหุ้มให้มีขนาดที่เหมาะสม และบันทึกเสร็จสิ้น.....	116
รูปที่ 4.32 หน้าจอแอปพลิเคชันของ Fragment ที่สาม หลังจากการปรับแต่งรูป Grayscale ของภาพเซลล์เยื่อหุ้ม.....	116
รูปที่ 4.33 ภาพสไลด์การทดลองต้นแบบที่ใช้โดยมีวัตถุคือเชื้อ E. coli.....	117
รูปที่ 4.34 ภาพสไลด์การทดลองเชื้อ E. coli หลังจากการ Threshold ที่ 40 และ binary.....	117
รูปที่ 4.35 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 40 และทำการอีโรชั่น.....	118
รูปที่ 4.36 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 40 และทำการดิเลชั่น.....	118
รูปที่ 4.37 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 40 และทำการโอเพนนิ่ง.....	118
รูปที่ 4.38 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 40 และทำการโคลสซิ่ง.....	118
รูปที่ 4.39 ภาพสไลด์การทดลองเชื้อ E. coli หลังจากการ Threshold ที่ 80 และ binary.....	119
รูปที่ 4.40 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 80 และทำการอีโรชั่น.....	119
รูปที่ 4.41 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 80 และทำการดิเลชั่น.....	119
รูปที่ 4.42 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 80 และทำการโอเพนนิ่ง.....	119
รูปที่ 4.43 ภาพจากการทำเทรตซอร์ดที่ระดับ 80 และทำการโคลสซิ่ง.....	119

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

ในปัจจุบันพื้นที่ที่มีความห่างไกลจากตัวเมืองมักมีการเกิดโรคต่างๆระบาดขึ้นมาได้โดยง่าย เนื่องจากการเข้าถึงทางการแพทย์มีความล่าช้า บางครั้งต้องใช้เวลาเก็บและส่งเชื้อโรคเข้ามาวิเคราะห์ชนิดซึ่งใช้เวลาหลายวัน หากมีอุปกรณ์ที่ช่วยคัดกรองได้เบื้องต้น ก็อาจจะช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์และรักษาเบื้องต้นได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

ในโครงการนี้คณะผู้จัดทำมีวัตถุประสงค์เพื่อ

- 1.2.1 ศึกษาหลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนซ์
- 1.2.2 ศึกษาการใช้โปรแกรมซีแมกซ์ในการคำนวณค่าต่างๆที่เกี่ยวข้องกับเลนส์ทางแสง
- 1.2.3 ศึกษาการออกแบบชิ้นงานผ่านโปรแกรมโซลิดเวิร์ค ร่วมกับการปรี้นชิ้นงานสามมิติ
- 1.2.4 ศึกษาการวิเคราะห์ภาพร่วมกับแอปพลิเคชันระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์

1.3 วิธีการวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับหลักการพื้นฐานของกล้องจุลทรรศน์ รวมถึงการใช้งาน
- 1.3.2 ศึกษาและคำนวณค่าต่างๆที่สำคัญผ่านทางโปรแกรมซีแมกซ์
- 1.3.2 ศึกษาการออกแบบชิ้นงานผ่านโปรแกรมSolid work ร่วมกับการปรี้นที่ชิ้นงานสามมิติ
- 1.3.3 ศึกษาการเขียนแอปพลิเคชันบนระบบปฏิบัติการบนแอนดรอยด์ โปรแกรมAndroid studio
- 1.3.4 ทดสอบการใช้งานของชิ้นงานที่ออกแบบร่วมกับซอฟต์แวร์ที่ออกแบบ

1.4 ขอบเขตการวิจัย

กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์แบบพกพา ที่ใช้งานร่วมกับการประมวลผลภาพผ่านซอฟต์แวร์บนระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ในการวิเคราะห์ภาพเพื่อดูจำนวนของเชื้อโรค

1.5 แผนการดำเนินงาน

การดำเนินโครงการเริ่มต้นจาก ช่วงเดือน สิงหาคม พ.ศ. 2559 จนถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2560 โดยแผนการดำเนินงานโครงการสามารถแสดงได้ดังตารางที่ 1.1

แผนการ	2559				2560			
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ษ.
1. ศึกษาความรู้และหลักการที่เกี่ยวข้องกับกล้องจุลทรรศน์แบบ Fluorescent								
2. ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์								
3. ศึกษาการสร้างชิ้นงานผ่านโปรแกรม Solid work และเขียนแอปพลิเคชันระบบแอนดรอยด์ผ่านโปรแกรม Android studio								
4. ศึกษาการใช้งานของโปรแกรม Zemax								
5. ปรับปรุงชิ้นงาน								
6. ทำเล่มรายงาน								
7. ออกแบบกล้องใหม่สำหรับการเปลี่ยนฟิลเตอร์								
8. ทำการออกแบบ และปรับ 3D สำหรับกล้องอันใหม่ เก็บผลหลังผ่านฟิลเตอร์								
9. เขียนแอปพลิเคชันระบบแอนดรอยด์ผ่านโปรแกรม Android studio								
10. Morphology ใน Software								
11. ปรับปรุง Software								
12. เก็บผลการทดลองหลังผ่านฟิลเตอร์								
13. จัดทำรูปเล่ม								

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.6.1 ได้รับความรู้เกี่ยวกับหลักการของกล้องจุลทรรศน์
- 1.6.2 ได้รับความรู้และเพิ่มทักษะการใช้งานโปรแกรม Solid work ในการออกแบบชิ้นงานร่วมกับการใช้งานการปริ้นท์สามมิติ
- 1.6.3 ได้รับความรู้และทักษะในการเขียนแอปพลิเคชันระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ผ่านโปรแกรม Eclipse
- 1.6.4 จากการสร้างชิ้นงานสามารถนำทักษะต่างๆไปประยุกต์ใช้งานร่วมกับงานอื่นๆในภายภาคหน้าได้

1.7 โครงสร้างของปฏิญานิพนธ์

ปฏิญานิพนธ์เล่มนี้ ได้แบ่งเนื้อหาออกเป็น 5 บทด้วยกัน คือ

- บทที่ 1 บทนำ
- บทที่ 2 ทฤษฎีและข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
- บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย
- บทที่ 4 การทดลอง
- บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้พื้นฐานด้านการประมวลผลภาพดิจิทัล

การประมวลผลภาพ หรือ Image Processing หมายถึง การนำภาพมาประมวลผลหรือคิดคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เรากำลังต้องการทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ โดยมีขั้นตอนต่าง ๆ ที่สำคัญ คือ การทำให้ภาพมีความคมชัดมากขึ้น การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ การแบ่งส่วนของวัตถุที่เราสนใจออกมาจากภาพ เพื่อนำภาพวัตถุที่ได้ไปวิเคราะห์หาข้อมูลเชิงปริมาณ เช่น ขนาด รูปร่าง และทิศทางการเคลื่อนของวัตถุในภาพ จากนั้นเราสามารถนำข้อมูลเชิงปริมาณเหล่านี้ไปวิเคราะห์ และสร้างเป็นระบบ เพื่อใช้ประโยชน์ในงานด้านต่างๆเช่น ภาพถ่ายดาวเทียม ภาพจากทีวีสแกนของหุ่นยนต์อุตสาหกรรม ภาพสำหรับการโฆษณา สามารถประยุกต์ใช้กับการแพทย์ได้โดยผ่านการใช้อัลกอริทึมหรือขั้นตอนวิธีการประมวลผลภาพ (Image Processing Algorithms) ซึ่งแต่ละวิธีก็มีประโยชน์แตกต่างกันไป ไม่ว่าจะเป็นการนำเอาสีแต่ละจุด (Pixel) มาคิด (Color), การคิดคำนวณเป็นบริเวณหลายๆจุดรวมๆกัน(Area) เช่น การดูลวดลาย(Pattern, Texture), การวิเคราะห์หารูปร่าง (Shape) และการวิเคราะห์แบบอื่นๆ

การประมวลผลภาพดิจิทัล จะเกี่ยวข้องกับการแปลงข้อมูลภาพให้อยู่ในรูปแบบข้อมูลดิจิทัล เพื่อที่จะสามารถนำเอาข้อมูลนี้ไป ผ่านกระบวนการต่างๆด้วยคอมพิวเตอร์ได้ ซึ่งการทำงานของคอมพิวเตอร์ ระบบการรับข้อมูลเข้าหรือส่งข้อมูลออกจะอยู่ในรูปแบบดิจิทัลเท่านั้น ในการประมวลผลภาพดิจิทัล เมื่อระบบได้รับข้อมูลภาพเข้าไปแล้วจะทำการคำนวณและส่งออกมาเป็นข้อมูลที่ใช้แทนข้อมูลภาพดิจิทัลเหล่านั้น การเก็บข้อมูลภาพลงหน่วยความจำของคอมพิวเตอร์ สามารถทำได้โดยการจองหน่วยความจำของเครื่องไว้ในรูปของตัวแปรอาเรย์ โดยค่าในแต่ละช่องจะแสดงถึงคุณสมบัติของจุดภาพ (pixel) และตำแหน่งของช่องอาเรย์เป็นตัวกำหนดตำแหน่งของจุดภาพ ส่วนพิกัดของระบบภาพดิจิทัล 1/4 ของแบบ double array การแปลงภาพเป็นภาพขาวดำ มีขั้นตอนคือ แปลงภาพสีเป็น Gray scale แล้วแปลงภาพ Gray scale เป็นภาพขาวดำอีกที การแปลงภาพ Gray scale เป็นภาพขาวดำ จำเป็นต้องกำหนดค่า Threshold เพื่อให้ได้ภาพขาวดำที่เหมาะสม ค่า Threshold มีไว้สำหรับกำหนดว่าค่าความสว่างของรูปในแต่ละ Pixel เมื่อแปลงเป็นภาพขาวดำแล้ว Pixel ดังกล่าวควรจะเป็น สีดำ หรือสีขาว ตัวอย่างเช่น เรากำหนดค่า Threshold ไว้ที่ 128 แล้วอ่านค่าความสว่างใน Pixel แรกของรูปได้ 200 ดังนั้นเมื่อทำการแปลงเป็นภาพขาวดำแล้ว Pixel แรกนี้จะต้องเป็นสีขาว เป็นต้น โดยปกติคนมักจะเข้าใจผิดว่าภาพ Gray scale เป็นภาพขาวดำแต่ความจริงแล้วไม่ใช่ ภาพ Gray scale เป็นภาพที่มีระดับของความสว่างอยู่ โดยทั่วไปจะอยู่ที่ 0-255 ภาพ Gray scale ก็คือภาพที่มีค่าสี R,G,B เท่ากันหมด ส่วนภาพขาวดำมีแค่ 0 กับ 1

2.1.1 ระบบสี (Color model)

แบบจำลองสี (Color Model) เป็นสิ่งที่ใช้อ้างอิงถึงสีต่าง ๆ สำหรับคอมพิวเตอร์แล้วจะไม่ใช่แบบจำลองที่เป็น Analytical Model เหมือนกับที่ใช้ในทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งใช้วิธีการวัดซึ่งอยู่ในรูปของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลังงานตลอดช่วงของสเปกตรัม (Spectrum)

2.1.1.1 ระบบสี RGB

ระบบสี RGB คือระบบสีที่ประกอบด้วยแม่สี 3 สี คือสีแดง สีเขียว และ สีน้ำเงิน เมื่อนำมาผสมผสานกันทำให้เกิดสีต่าง ๆ โดย

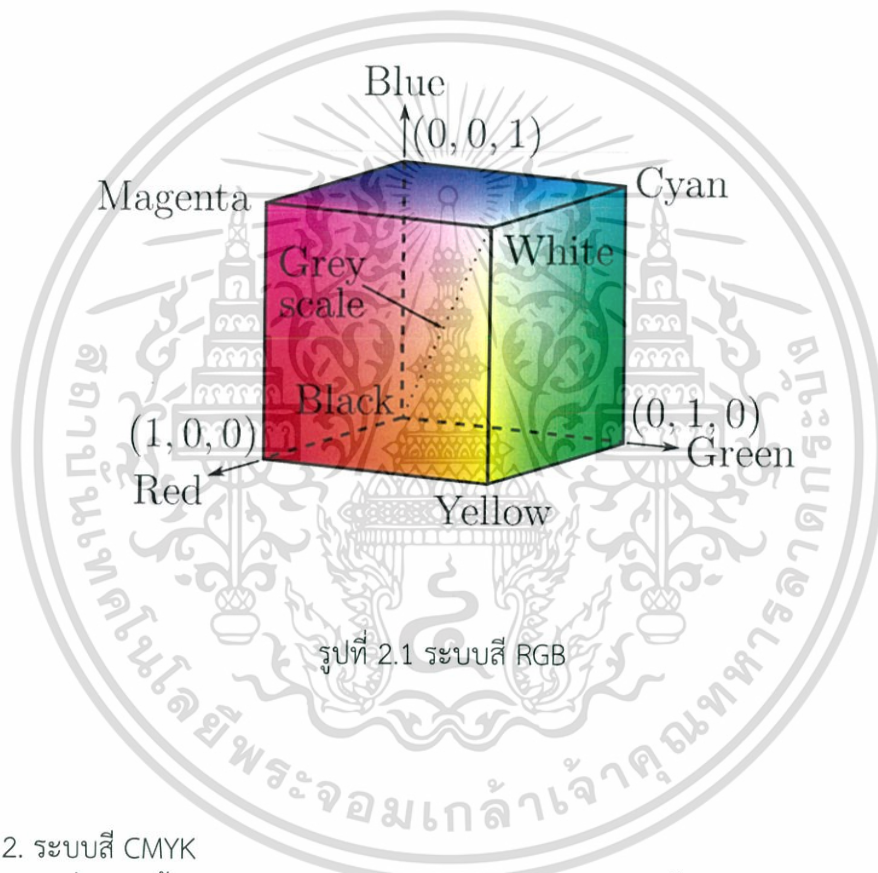
แดง จะมีช่วงค่าสีตั้งแต่ 0-255

เขียว จะมีช่วงค่าสีตั้งแต่ 0-255

น้ำเงิน จะมีช่วงค่าสีตั้งแต่ 0-255

สีมีความเข้มมาก เมื่อนำมาผสมกันจะทำให้เกิดเป็นสีขาว จึงเรียกระบบสีนี้ว่าแบบ Additive ดังรูป

2.1



2.1.1.2. ระบบสี CMYK

เป็นระบบสีที่พัฒนาขึ้นมามีใช้สำหรับการพิมพ์ภาพสี ประกอบด้วยสีพื้นฐาน คือ สีฟ้า (Cyan), สีม่วงแดง (Magenta), สีเหลือง (Yellow), และเมื่อนำสีทั้ง 3 สีมาผสมกันจะเกิดสีเป็น สีดำ (Black) เมื่อนำมาผสมกันจะเกิดสีเป็นสีดำ แต่จะไม่ดำสนิทเนื่องจากหมึกพิมพ์มีความไม่บริสุทธิ์ โดยเรียกระบบสีทั้ง 3 สีข้างต้นว่า “Subtractive Color”

หลักการเกิดสีของระบบนี้คือ หมึกสีหนึ่งจะดูดกลืนสีจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีต่างๆ

แสงสีน้ำเงิน + แสงสีเขียว = สีฟ้า (Cyan)

แสงสีน้ำเงิน + แสงสีแดง = สีแดง(Magenta)

แสงสีแดง + แสงสีเขียว = สีเหลือง (Yellow)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีแบบลบ (Subtractive Color) เป็นสีที่เกิดจากการดูดกลืนแสงสะท้อนจากวัตถุ คือ เมื่อมีลำแสงสีขาวตกกระทบวัตถุสีต่างๆ คลื่นแสงบางส่วนจะดูดกลืนไว้ และสะท้อนเพียงบางสีออกมา จึงเรียกการผสมสีแบบนี้ว่า การผสมสีแบบลบ (Subtractive Color Mixing)

ระบบสีแบบ CMY สามารถหาได้โดยการนำเอาสีในระบบ RGB ลบกับสีขาวดังนี้คือ

$$C = 1 - R \quad (2.1)$$

$$M = 1 - G \quad (2.2)$$

$$Y = 1 - B \quad (2.3)$$

ระบบสี CMY จะนำไปใช้สำหรับการพิมพ์ภาพสีแต่ยังไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากไม่ยังไม่สามารถสร้างสีดำได้อย่างถูกต้อง ดังนั้นจึงมีการใช้ระบบ CMYK แทนโดย $K = \min(C, M, Y)$ โดยที่ K เป็นสีที่ 4 แทนสีดำ

$$C = C - K \quad (2.4)$$

$$M = M - K \quad (2.5)$$

$$Y = Y - K \quad (2.6)$$

โดยระบบสี CMY จะแบ่งได้อีกเป็น 2 รูปแบบสี คือ

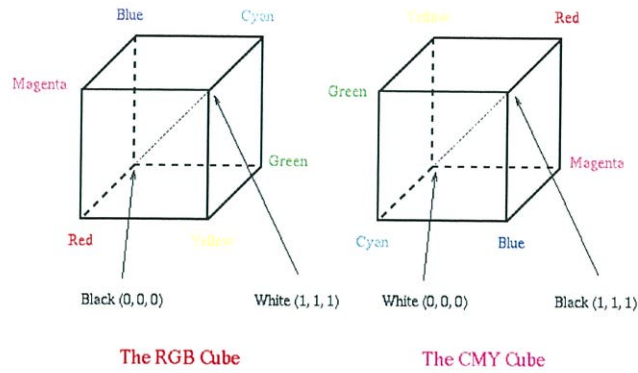
1. สีแบบลบ (สีโปร่งแสง) หรือ ระบบสี CMYK

เป็น Subtractive Color: The CMYK Primaries (Transparent Pigments) การผสมสีแบบโปร่งแสงนี้ นำไปใช้ในการผสมสีในการพิมพ์ การเตรียมภาพในสิ่งพิมพ์จึงต้องเตรียมภาพในโหมด CMYK (CMYK Mode)

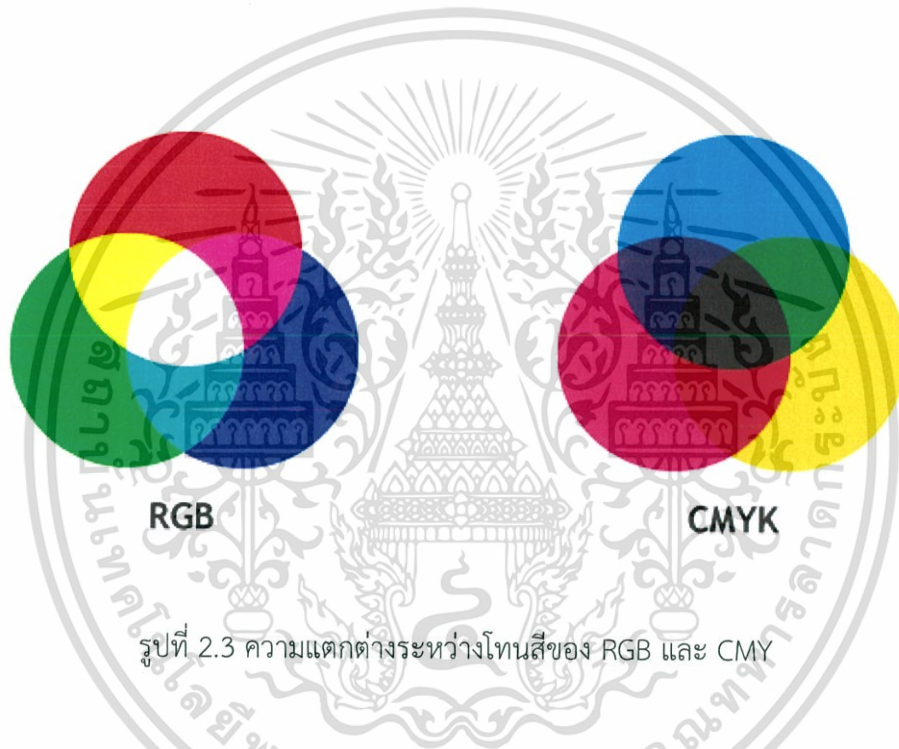
2. สีแบบลบ (สีทึบแสง) หรือ ระบบสี RYB

เป็น Subtractive Color: The RYB Primaries (Opaque Pigments) คือระบบสีแบบทึบที่ใช้ในงานช่างเขียน ระบบสีนี้ใช้เป็นพื้นฐานการทำงานศิลปะและการออกแบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งงานจิตรกรรม การจัดโครงสร้างในงานออกแบบ ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 ความแตกต่างระหว่างโมเดลสี RGB และ CMY



รูปที่ 2.3 ความแตกต่างระหว่างโทนสีของ RGB และ CMY

2.1.1.2 ระบบสี HSB

HSB (Hue Saturation Brightness) หรือที่รู้จักกันในชื่อ HSV (Hue Saturation Value) โมเดลของ HSB ถูกค้นพบ ในปีค.ศ. 1978 โดย Alvy Ray Smith เป็นการแปลงที่เป็น Nonlinear ของระบบสี RGB หรือ อีกนัยหนึ่งคือเป็นสีที่ไม่ได้กำหนดเป็นระบบสีผสม เช่น addition และ subtraction ของระบบสีพื้นฐาน แต่เป็นการแปลงระบบสีทางคณิตศาสตร์

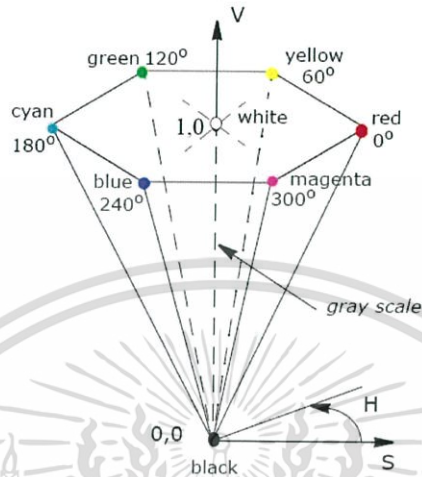
ระบบสี HSV (Hue Saturation Value) เป็นการพิจารณาโดยใช้ Hue Saturation และ Value ซึ่ง Hue คือค่าสีของสีหลัก(แดง เขียวและน้ำเงิน)ในทางปฏิบัติจะอยู่ระหว่าง 0 และ 255 ซึ่งถ้า Hue มีค่าเท่ากับ 0 จะแทนสีแดงและเมื่อ Hue มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ สีก็จะเปลี่ยนแปลงไปตามสเปกตรัมของสีจนถึง 256 จึงจะกลับมาเป็นสีแดงอีกครั้ง ซึ่งสามารถแทนให้อยู่ในรูปขององศาได้ดังนี้คือ สีแดง = 0 องศา สีเขียวเท่ากับ 120 องศา สีน้ำเงินเท่ากับ 240 องศา โดย ค่า Hue สามารถคำนวณได้จากระบบสี RGB ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{red}_k = \text{red} - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue}) \quad (2.7)$$

$$\text{green}_k = \text{green} - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue}) \quad (2.8)$$

$$\text{blue}_k = \text{blue} - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue}) \quad (2.9)$$



รูปที่ 2.4 ระบบสี HSV

Hue คือ สีต่างๆ ที่สะท้อนออกมาจากวัตถุเข้ามายังตาของเรา ทำให้เราสามารถมองเห็นวัตถุเป็นสีต่างๆ ได้ ซึ่งแต่ละสีจะแตกต่างกันตามความยาวของคลื่นแสงที่มากกระทบวัตถุและสะท้อนกลับที่ตาของเรา Hue ถูกวัดโดยตำแหน่งการแสดงสีบน Standard Color Wheel ซึ่งถูกแทนด้วยองศา 0 ถึง 360 องศา แต่โดยทั่วๆ ไปแล้วมักจะเรียกการแสดงสีนั้นๆ เป็นชื่อของสีเลย เช่น สีแดง สีม่วง สีเหลือง ถ้าทั้งสามสีมีค่าเท่ากับ 0 แล้วจะทำให้ไม่มีค่าของ Hue หรือสีที่ได้จะมีค่าเท่ากับสีขาว

$$\frac{(240 \times \text{blue}_k) + (120 \times \text{green}_k)}{\text{blue}_k + \text{green}_k} \quad (2.10)$$

Saturation คือ สัดส่วนของสีเทาที่มีอยู่ในสีนั้น โดยวัดค่าสีเทาในสีหลักเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้คือ จาก 0% (สีเทาผสมอยู่มาก) จนถึง 100% (สีเทาไม่มีเลย หรือเรียกว่า “Full Saturation” คือสีมีความอิ่มตัวเต็มที่) โดยค่า Saturation นี้จะบ่งบอกถึงความเข้มข้นและความจางของสี ถ้าถูกวัดโดยตำแหน่งบน Standard Color Wheel ค่า Saturation จะเพิ่มขึ้นจากจุดกึ่งกลางจนถึงเส้นขอบ โดยค่าที่เส้นขอบจะมีสีที่ชัดเจนและอิ่มตัวที่สุด โดยค่าความสดของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนด Saturation ที่ 0 แล้วสีที่ได้จะไม่มีค่าความสด ซึ่งจะกลายเป็นสีขาว แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสดมาก เนื่องจากไม่มีสีขาวผสมอยู่เลย ซึ่งค่า Saturation สามารถคำนวณได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

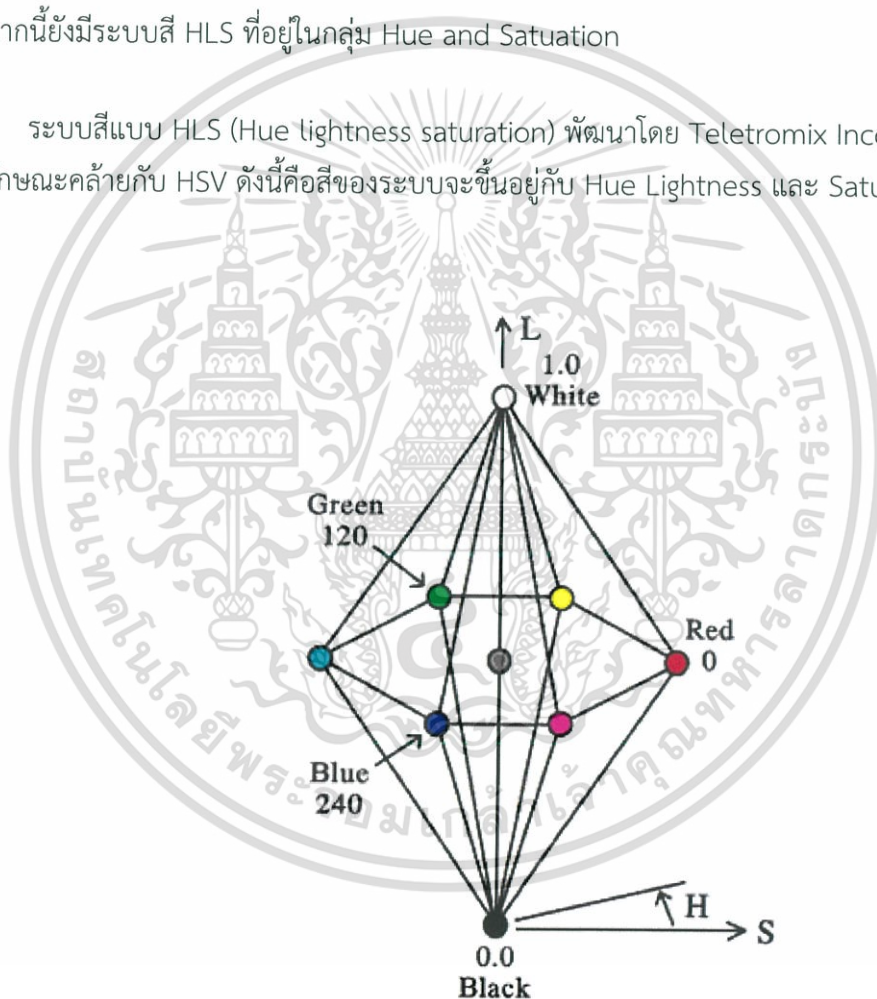
$$\text{Saturation} = \frac{\max(\text{red}, \text{green}, \text{blue}) - \min(\text{red}, \text{green}, \text{blue})}{\max(\text{red}, \text{green}, \text{blue})} \quad (2.11)$$

Brightness หรือ Value คือความสว่างของสี ซึ่งสามารถวัดได้โดยค่าความเข้มของความสว่างของแต่ละสีที่ประกอบกัน โดยค่าความสว่างของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนดที่ 0 ความสว่างจะน้อยซึ่งจะเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสว่างมากที่สุด สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.6

$$\text{Value} = \max(\text{red}, \text{green}, \text{blue}) \quad (2.12)$$

นอกจากนี้ยังมีระบบสี HLS ที่อยู่ในกลุ่ม Hue and Saturation

ระบบสีแบบ HLS (Hue lightness saturation) พัฒนาโดย Teletromix Incorporated จะมีลักษณะคล้ายกับ HSV ดังนั้นชื่อของระบบจะขึ้นอยู่กับ Hue Lightness และ Saturation



รูปที่ 2.5 ระบบสี HLS

Hue คือค่าของสีหลักซึ่งมีสีน้ำเงินอยู่ที่ 0 องศา สีเขียวอยู่ที่ 120 องศา และสีแดงอยู่ที่ 240 องศา Lightness คือค่าความสว่างซึ่งจะมีค่าเปลี่ยนแปลงตามแนวแกน L โดยที่ L = 0 จะเป็นสีดำ L = 1 จะเป็นสีขาว สามารถคำนวณได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Lightness = \frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{2} \quad (2.13)$$

Saturation คือความบริสุทธิ์ของสีสามารถหาได้ดังนี้คือ

$$Saturation \begin{cases} \frac{\max(red, green, blue) + \min(red, green, blue)}{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)} & \text{if } L \leq 0.5 \\ \frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{2 - \max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)} & \text{if otherwise} \end{cases} \quad (2.14)$$

$$\frac{\max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)}{2 - \max(red, green, blue) - \min(red, green, blue)} & \text{if otherwise} \quad (2.15)$$

2.1.1.3 ระบบสีแบบ Lab

ระบบสีแบบ Lab เป็นค่าสีที่ถูกกำหนดขึ้นโดย CIE (Commission Internationale d' Eclairage) เพื่อให้เป็นสีมาตรฐานกลางของการวัดสีทุกรูปแบบ ครอบคลุมทุกสีใน RGB และ CMYK Lab color ใช้วิธีบันทึกค่าแสงแตกต่างจาก RGB หรือ CMYK โดยแทนที่จะเก็บค่าสีแต่ละสีไว้ Lab color

ระบบสีใน LAB แบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ

L หรือ Luminance เป็นการกำหนดความสว่างซึ่งมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนดที่ 0 จะกลายเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 จะกลายเป็นสีขาว

$$L = 100 \sqrt{Y/Y_n} \quad (2.16)$$

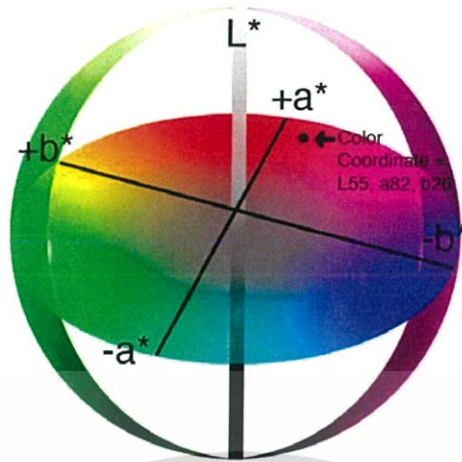
A เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีเขียวไปสีแดง

$$a = K_a \left(\frac{X/X_n - Y/Y_n}{\sqrt{Y/Y_n}} \right) \quad (2.17)$$

B เป็นค่าของสีที่ไล่จากสีน้ำเงินไปสีเหลือง

$$b = K_b \left(\frac{Y/Y_n - Z/Z_n}{\sqrt{Y/Y_n}} \right) \quad (2.18)$$

ประโยชน์อีกอย่างของ Lab color คือ การเพิ่มคอนทราสต์ให้กับภาพ โดยปกติใน RGB เมื่อเราทำการเปลี่ยนแปลง contrast จะทำให้สีของภาพเปลี่ยนแปลงไปด้วย แต่ใน Lab color สิ่งที่เปลี่ยนแปลงไปคือ Lightness channel เท่านั้น ทำให้เราสามารถเพิ่มหรือลดคอนทราสต์ได้ โดยที่สีของภาพยังคงเดิม เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



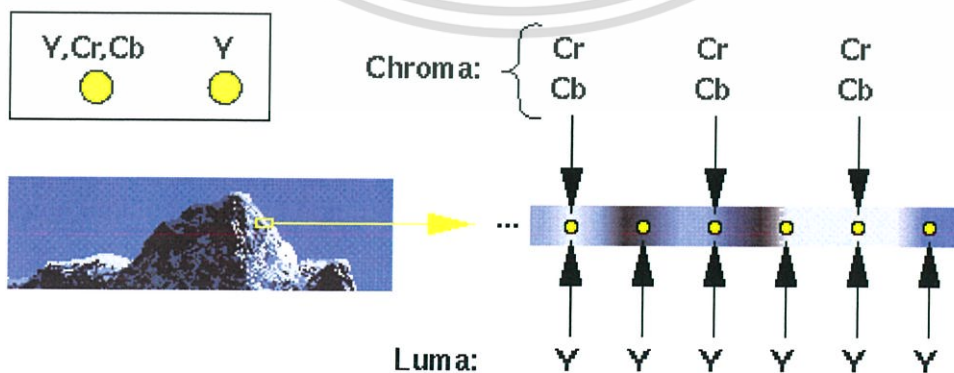
รูปที่ 2.6 ระบบสี LAB

2.1.1.4 ระบบสี Luma Plus Chroma/Chrominance

เป็นสัญญาณที่ใช้ในกล้องวิดีโอระบบการสื่อสารข้อมูลเกี่ยวกับสีของภาพ เพื่อให้แยกจากกัน การใช้งานที่มาพร้อมกับส่วนประกอบ Luma (สัญญาณหรือ Y สำหรับในระยะสั้น) โดยปกติสีที่แสดงจะเป็นสีที่แตกต่างกันสองคอมโพเนนต์ : $U = B' - Y'$ (สีน้ำเงิน - luma) และ $V = R' - Y'$ (สีแดง - luma) แต่ละคอมโพเนนต์ของความแตกต่างเหล่านี้อาจมีปัจจัยการปรับขนาดและค่าชดเชยที่ถูกนำไปใช้ตามทีระบุไว้ในมาตรฐานวิดีโอที่เกี่ยวข้องได้

ในทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้เงื่อนไขความสว่างของแสงที่วัดได้จะเป็นเงื่อนไขของความสว่าง คำว่า ' ความสว่าง (Luminance) ' จะกำหนดโดย CIE ในความสัมพันธ์กับวิสัยทัศน์ของมนุษย์ ซึ่งจะแสดงด้วยตัวอักษร Y ให้อยู่ในระยะไกลที่สุดเท่าที่เกี่ยวข้อง

Chrominance เป็นการให้ข้อมูลสีในการส่งสัญญาณ เมื่อสีมาถึงแล้วแทนที่จะเริ่มจากการแยกสีที่แตกต่าง พวกเขาพบว่ามีวิธีในการใช้วิธีดังกล่าวให้ย้อนกันกับแสง Luma ที่เราได้ในความแตกต่างระหว่าง CIE XYZ และ xyY ได้ จากเราจะทราบว่า การเป็นตัวแทนของทั้งสองจะได้รับการตั้งชื่อตามชื่อของสี Cb และ Cr



รูปที่ 2.7 ตัวอย่าง Sampling ของ Luma และ Chroma

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้แบนด์วิดท์ เพื่อลดค่าความสว่างจะกลายเป็นแสง จาก Luminance ไป Luma ความลึกบิตจะถูกลดเหลือ 8 bit และจะถูกลดเหลือครึ่งหนึ่งหรือน้อยกว่าครึ่งของช่วงของสายตามนุษย์โดยใช้อัลกอริธึมการบีบอัด ซึ่งการบีบอัดข้อมูลที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในช่วงเวลาที่มีการบันทึกในการประมวลผล การสูญเสียข้อมูลย่อยคือสิ่งที่เกิดขึ้นไม่ใช่ว่าอย่าง 1 : 1 นั่นคือวัตถุประสงค์เพื่อลดการใช้แบนด์วิดท์ได้ โดยแบ่งสีในกลุ่ม Luma Plus Chroma/Chrominance ได้อีก คือ

2.1.1.4.1 ระบบสี YUV

ระบบสีแบบ YUV ใช้สำหรับโทรทัศน์แบบ PAL และ SECAM ซึ่งยังมีใช้อยู่ในหลาย ๆ ประเทศ โดย Y คือค่าความสว่างของภาพ ส่วนสัญญาณ U และ V เป็นสัญญาณที่เก็บค่าสีของภาพ ต่อมาได้มีระบบ YIQ มาใช้แทนเนื่องจากพบว่าสัญญาณ I และ Q สามารถลด Bandwidth ได้มากกว่าสัญญาณ U และ V ในขณะที่ได้ภาพที่มีคุณภาพเท่ากัน

2.1.1.4.2 ระบบสี YIQ

ระบบสี YIQ เป็นระบบที่ใช้ใน TV Broadcasting สำหรับ NTSC ประโยชน์หลักก็เพื่อให้ใช้งานได้กับโทรทัศน์แบบขาว-ดำ โดยที่ y คือความสว่างของภาพ ส่วน I และ Q จะเป็นสัญญาณที่เข้ารหัสสีของภาพไว้ดังนั้นสำหรับโทรทัศน์ขาว-ดำ นั้นสามารถใช้ค่า Y ค่าเดียวก็สมารถได้ภาพที่สมบูรณ์

2.1.1.4.3 ระบบสี xyz

ระบบสี xyz เป็น ระบบสีที่ CIE ได้กำหนดให้มีขึ้นเป็นมาตรฐานเนื่องจากในระบบสี RGB ยังไม่สามารถสร้างสีที่เป็นไปได้ทั้งหมดดังนั้นจึงได้มีตั้งระบบสี XYZ ซึ่งเป็นระบบสีที่สมมุติขึ้น

2.1.2 แบบจำลองสีอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

2.1.2.1 ระบบสีเทา (Gray scale)

ระบบสีนี้จะมีเพียงสองสีคือ สีขาวและสีดำแต่จะมีระดับความเข้มของสีดำ 255 ระดับ รวมกับสีขาวอีกหนึ่งสี ในโหมดนี้จะมีเพียง 256 สี ภาพระดับสีเทาเป็นภาพซึ่งค่าในแต่ละจุดภาพคือค่าความเข้มของสี แต่ละตำแหน่งของจุดภาพนั้น ซึ่งค่าที่เป็นไม่ได้ของภาพระดับสีเทาทั้งหมดขึ้นอยู่กับจำนวนบิตที่ใช้ ตัวอย่างเช่น ภาพระดับสีเทา 8 บิตที่ระดับสีทั้งหมด 256 ระดับ โดยนิยมระบุในช่วง 0-1 หรือ 0-255 แสดงระดับสีเทาดังในรูปที่ 2.8 โดยภาพระดับสีเทาจะมีการไล่ระดับความอ่อนแก่ของสีซึ่งอยู่ระหว่างสีขาวและสีดำ Halftone Image อย่างต่อเนื่อง โดยที่ค่าแต่ละพิกเซล ของภาพจะหมายถึงความเข้มแสงแต่ละตำแหน่งของพิกเซล ที่อยู่ในรูประดับสีเทา การเปลี่ยนภาพจากระบบสีอาร์จีบี (RGB) เป็นระดับสีเทา (Gray Scale) จะใช้สมการดังนี้ในการเปลี่ยน

$$Y = 0.3R+0.59G+0.11B \quad (2.19)$$

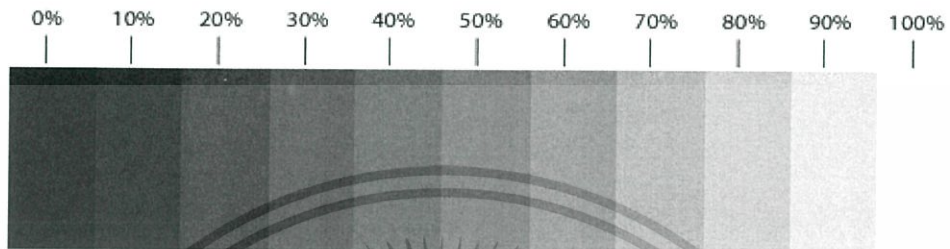
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย Y แทน ค่าระดับสีเทา ณ จุด พิกเซล ที่เราต้องการหา

R แทน ค่าสีแดง ณ จุด ที่ต้องการหา

G แทน ค่าสีเขียว ณ จุด ที่ต้องการหา

B แทน ค่าสีน้ำเงิน ณ จุด ที่ต้องการหา



รูปที่ 2.8 ระบบสี Gray scale

การแปลงภาพสี RGB ให้เป็นภาพระดับเทา (RGB to Gray) ภาพที่รับเข้ามาในขั้นตอนแรก เป็นภาพที่อยู่ในระบบปริภูมิสีแบบ RGB ดังนั้นแต่ละพิกัด ของภาพจะประมาณด้วยค่าของเซตที่ แสดงถึง ค่าของ R ค่าของ G และค่าของ B ระบบจะทำการ เปลี่ยนให้เป็นภาพระดับสีเทา (Gray scale) เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ภาพได้ง่ายขึ้น เพราะเมื่อ แปลงภาพเป็นระดับสีเทาแล้วจะทำให้ แต่ละจุดภาพของภาพจะเหลือเพียงค่าความเข้มของสีมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 255

2.1.3 การแบ่งบริเวณรูปภาพ (Image Segmentation)

การแบ่งข้อมูลภาพออกเป็นส่วนย่อย ๆ เป็นการแบ่งส่วนภาพ (image) ออกเป็นหลายพื้นที่ (region) หรือวัตถุ (object) หลายชนิด ตามลักษณะของการเป็นเนื้อเดียวกันหรือมีความสัมพันธ์กัน จะทำให้สามารถ แยกภาพส่วนที่ต้องการออกจากส่วนอื่น ๆ ซึ่งการแยกบริเวณนั้นจะทำให้ได้ภาพที่เป็นวัตถุที่สนใจออกจากพื้น หลัง ที่จะทำให้ทราบว่าในภาพมีวัตถุอยู่ที่ขึ้นและพิกเซลใดเป็นของวัตถุชิ้นใด ซึ่งกระบวนการดังกล่าวถือเป็น พื้นฐานของการประมวลผลขั้นสูงที่จะนำไปสู่วิธีการทางเทคโนโลยีทางการแพทย์ต่างๆ

การแบ่งภาพออกเป็นส่วนๆ โดยการแบ่ง เราจะใช้คุณสมบัติพิเศษ (Feature) ของแต่ละภาพ เช่น ค่า ความเข้มแสง, สี, การเปลี่ยนแปลงความเข้มแสง (Gradient), ลักษณะของพื้นผิว (Texture) โดยมี กระบวนการที่สำคัญได้แก่ การหาขอบของภาพ (Discontinuity) และการหาส่วนที่เหมือนกันของภาพ (Similarity)

2.1.3.1 การหาขอบของภาพ (Discontinuity)

เราสามารถหาขอบของภาพด้วยวิธีการที่มีชื่อเรียกต่างๆดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.1.1. First-Second Derivative (ไม่มี noise)

เรียกอีกอย่างว่า Sharp Edge ถือเป็นกรณีอุดมคติ คือภาพต้นฉบับไม่มี noise และมีการแบ่งระหว่างความเข้มแสงมากกับความเข้มแสงน้อยอย่างชัดเจน ทำให้สามารถหาขอบได้ง่าย

2.1.3.1.2. First-Second Derivative (มี noise)

ใช้กับภาพต้นฉบับที่เกิดจากการถ่ายภาพปกติ จะมี noise คือไม่มีการแบ่งระหว่างความเข้มแสงมากกับน้อยอย่างชัดเจน แต่จะเป็นการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงจากมากค่อยๆลดเป็นน้อย หรือกรณีความเข้มแสงจากน้อยค่อยๆเพิ่มเป็นมาก เราสามารถหาขอบได้จากการเปลี่ยนแปลงนี้

2.1.3.2 การหาส่วนที่เหมือนกันของภาพ (Similarity)

ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่างๆของรูปภาพออกจากกันตามลักษณะสำคัญที่เราพิจารณา ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนสำคัญของการวิเคราะห์ภาพ ซึ่งมีประโยชน์ดังนี้

1. ลดจำนวนข้อมูลในรูปภาพที่ไม่จำเป็นในการวิเคราะห์
2. จัดระเบียบข้อมูลในรูปภาพให้เป็นกลุ่มได้ดีขึ้น
3. แสดงข้อมูลในรูปที่เข้าใจง่ายขึ้น

แนวคิดหลักของการทำ segmentation คือการจัดส่วนของข้อมูลหรือภาพที่มีลักษณะ homogeneous เข้าด้วยกัน โดยอาศัยกระบวนการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าข้อมูล มีหลายวิธีและใช้อัลกอริทึมที่ต่างกันไปวิธีการพื้นฐานสำหรับการแยกภาพออกเป็น ส่วน ๆ นอกจากนี้ขอบของภาพและลักษณะของ Texture ก็เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่จะทำให้สามารถทำการแบ่งแยกภาพได้สะดวกยิ่งขึ้น โดยทั่วไปการแยกภาพออกเป็น ส่วน ๆ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

2.1.3.3 Amplitude Segmentation Method

วิธีนี้เป็นวิธีการแยกองค์ประกอบของภาพโดยดูจากความเหมือนกันของคุณสมบัติของพิกเซลภายในพื้นที่เป็นการพิจารณาความเข้มของจุดต่าง ๆ ภายในภาพ (pixel) ซึ่งผลของการ segment จะขึ้นอยู่กับวิธีการ Threshold ของส่วนประกอบที่เป็นความเข้มหรือสีของภาพเพียงอย่างเดียว เช่นวิธีการ Intensity thresholding เป็นการแยกแยะวัตถุจากฉากหลังโดยดูจาก Intensity ของพิกเซลเป็นหลัก ข้อดีคือมีขั้นตอนในการทำงานที่ไม่ซับซ้อนทำงานได้รวดเร็ว แต่ข้อเสียคือไม่สามารถใช้กับภาพที่มีสัญญาณรบกวนมาก หรือภาพที่มีความสว่างไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้อังยังมีอยู่หลายวิธีด้วยกันดังนี้คือ

2.1.3.3.1 Bilevel Luminance Thresholding

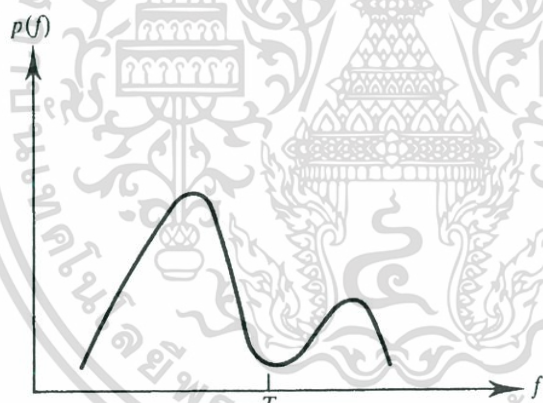
สำหรับภาพบางชนิดจะมีลักษณะวัตถุที่เราสนใจซึ่งมีความเข้มที่คงที่เมื่อเทียบกับพื้นหลัง ตัวอย่างได้แก่ ภาพของตัวอักษร (Text) เป็นต้น ซึ่งภาพเหล่านี้จะมีความเข้มของวัตถุที่เราสามารถ

แยกออกพื้นหลังได้อย่างชัดเจน (มีความเข้มข้นสองระดับได้แก่ความเข้มของวัตถุและความเข้มของพื้นหลัง)

การทำ การ Segmentation สามารถทำได้โดยการกำหนดค่า Threshold ซึ่งเป็นค่าความเข้มให้มีค่าที่สามารถแยกความแตกต่างของวัตถุและพื้นหลังได้ด้วยตัวอย่างเช่น ภาพของตัวอักษรที่มีความเข้มของตัวอักษรเป็น 0 (สีดำ) และมีความเข้มของพื้นหลังเป็น 255 (สีขาว) ดังนั้นค่า Threshold จึงควรจะมีค่าเท่ากับ 128 เพื่อให้สามารถแยกวัตถุออกจากพื้นหลังได้ โดยปกติแล้ว การเลือกค่า Threshold จะขึ้นอยู่กับ Histogram ของภาพ ตามรูปที่ 2.4 แสดงการหาค่า Threshold โดยค่า Threshold ควรที่จะเลือกค่า histogram ที่อยู่ที่จุดต่ำสุดที่อยู่ระหว่างจุดสูงสุด (peaks)

$$g(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } (x, y) > T \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2.20)$$

เมื่อ $g(x, y)$ เป็นข้อมูลภาพ ณ ตำแหน่งที่ x, y
 T เป็นค่า Threshold



รูปที่ 2.9 Bimodal image histogram

2.1.3.3.2 Multilevel Luminance Thresholding

สำหรับภาพที่จะประกอบด้วยหลาย ๆ วัตถุสามารถทำการ Segmentation ได้โดยการใช้ค่า Threshold หลาย ๆ ค่า สำหรับภาพที่มี N วัตถุโดยที่แต่ละวัตถุจะมีช่วงกว้างของความเข้มเท่ากับ R_i (กำหนดได้ด้วยค่า Threshold 2 ค่าคือ T_{i-1}, T_i) สามารถทำการ Segment ได้ดังนี้

$$g(x, y) = R_i \quad \text{if } (T_{i-1} \leq f(x, y) \leq T_i), \quad i = 1, \dots, N \quad (2.21)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า Threshold สามารถหาได้จาก histogram ของภาพ แต่ในหลาย ๆ กรณีที่การเปลี่ยนแปลงของ histogram ไม่สามารถบอกการเปลี่ยนแปลงระหว่างวัตถุได้อย่างชัดเจน วิธีการที่ง่ายที่สุดที่จะทำให้ histogram สามารถหาค่า Threshold ได้ง่ายขึ้นก็คือการใช้วิธี Edge Detection เพื่อพิจารณาพิกเซลต่าง ๆ ของภาพให้ว่าเป็นขอบของวัตถุ

2.1.3.2 Region Segmentation Method

วิธีนี้เป็นวิธีการแยกองค์ประกอบของภาพโดยดูจากตำแหน่งของพิกเซลและ ความเหมือนกันของคุณสมบัติของพิกเซลภายในพื้นที่เป็นหลัก โดยถ้าพิกเซลที่อยู่ติดกันและมีคุณสมบัติเหมือนกันจะถูกจัดให้เข้ากลุ่มเดียวกัน

2.1.3.2.1. Region Growing

วิธีการ Region Growing จะนำพิกเซลข้างเคียงมาพิจารณาซึ่งทำการจัดกลุ่ม (Region) ของพิกเซลเหล่านี้เข้าไว้ด้วยกันโดยการพิจารณาถึงความเข้มของพิกเซล ในการ Segmentation จะต้องมี การกำหนดกลุ่ม (Region) ที่ต้องการจะแบ่ง R_i โดยที่แต่ละกลุ่มจะต้องมีการกำหนดค่าความเข้มของพิกเซลเริ่มต้น $S_i, i = 1, \dots, N$ (ค่าเหล่านี้จะถูกเลือกไว้โดยผู้ที่ต้องการ segmentation : supervised mode) ซึ่งมีไว้เพื่อใช้สำหรับการขยายตัวของกลุ่ม (Growth) ในการขยายตัวของกลุ่มนี้จำเป็นจะต้อง มีกฎ เพื่อใช้เป็นวิธีการขยายตัวของกลุ่มรวมทั้งกฎของการตรวจสอบความเป็นอันหนึ่งอันเดียวกันของ กลุ่ม (homogeneity) ของทุกระยะของการขยายตัวในแต่ละระยะของการขยายตัวของกลุ่ม $R_i(k), i = 1, \dots, N$ จะมีการตรวจสอบว่ามีพิกเซลที่ยังไม่ได้จัดกลุ่มหรือไม่ (เป็นพิกเซลทั้ง 8 ที่เชื่อมต่อ (8-neighbourhood) อยู่กับพิกเซลที่อยู่บริเวณขอบของกลุ่ม) และก่อนที่จะมีการกำหนดพิกเซลใดๆ (x) เข้าสู่กลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง จะต้องมีการตรวจสอบอีกว่ากลุ่มที่จะขยายนั้นยังคงมีความเป็นอันหนึ่งอัน เดียวกันอีกหรือไม่ (homogeneity)

$$P(R_i(k) \cup \{x\}) = \text{TRUE} \quad (2.22)$$

ประสิทธิภาพของการ Segmentation วิธีนี้จะขึ้นอยู่กับ การเลือกค่าความเข้มของพิกเซล เริ่มต้นของในแต่ละกลุ่มซึ่งกำหนดให้โดยผู้ใช้ ซึ่งกระบวนการนี้สามารถหาได้อัตโนมัติจาก histogram ของภาพโดยการพิจารณาค่าสูงสุดของ histogram (ค่า peak) มาใช้เป็นค่าความเข้มของพิกเซล เริ่มต้นของกลุ่มได้ ซึ่งโดยปกติแล้วจะมีค่าความเข้มเริ่มต้นมากกว่าหนึ่งค่าต่อหนึ่งกลุ่มดังนั้นจึงต้องมี วิธีการ merging เพื่อที่จะใช้ในการรวมกลุ่มที่มีลักษณะทาง statistical (พิจารณาค่าเฉลี่ยและค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน) ใกล้เคียงกัน

$$m_i = \frac{1}{n} \sum_{(k,l) \in R_i} f(k,l) \quad (2.23)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\sigma_i = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{(k,l) \in R_i} (f(k,l) - m_i)^2} \quad (2.24)$$

เมื่อ m_i เป็นค่าเฉลี่ยของค่าความเข้มในกลุ่มที่ i ที่มีจำนวนพิกเซลเท่ากับ n พิกเซล ค่าเหล่านี้จะใช้ในการจะนำไปในการตัดสินใจว่าจะสามารถรวมกลุ่ม R_1, R_2 เข้าไว้ด้วยกันได้หรือไม่

$$|m_1 - m_2| < k\sigma_i \quad i = 1, 2 \quad (2.25)$$

ถ้าหากค่าเฉลี่ยของกลุ่ม m_1, m_2 มีค่าใกล้เคียงกันก็สามารถรวมกันได้โดยใช้วิธีที่เรียกว่า Split and Merge

2.1.3.2.2. Merge Region

เป็นวิธีการ segmentation วิธีหนึ่งซึ่งจะมี algorithm ดังนี้ คือถ้าสมมติว่ามี การสแกนไปยัง พิกเซลต่างๆภายในภาพจากพิกเซลแรกไปยังพิกเซลสุดท้ายของภาพไปตามแถวและหลักตามลำดับ ในช่วงระหว่างการสแกนก็จะมีกำหนดพิกเซลนั้นไปยังกลุ่มต่างๆ สมมติปัจจุบันอยู่ที่พิกเซล (k, l) ดังนั้นพิกเซลแรกถึงพิกเซล $(k-1, l)$ ได้ถูกกำหนดให้อยู่ในกลุ่มต่างๆหมดแล้ว ดังนั้นพิกเซลที่ (k, l) จึงเปรียบเสมือนเป็นอีกกลุ่มหนึ่งที่พยายามที่จะรวมเข้ากับกลุ่มที่มีอยู่ก่อนหน้านั้น (กลุ่มที่มีทั้งหมด R_i แต่จะเลือกเอาเฉพาะกลุ่มที่อยู่ข้างเคียงเท่านั้น ได้แก่ กลุ่มที่มีพิกเซล ณ ตำแหน่ง $(k-1, l), (k+1, l), (k, l-1)$ และ $(k, l+1)$ เป็นสมาชิกอยู่ หากพบว่าไม่สามารถทำการรวมเข้ากับกลุ่มใดได้ ก็ให้สร้าง กลุ่มใหม่ขึ้นมา ซึ่งประสิทธิภาพของวิธีนี้จะขึ้นอยู่กับกฎของการรวมกลุ่ม $(P(R_i \cup (k, l)))$ ของ พิกเซล (k, l) เข้ากับกลุ่ม R_i กฎของการรวมจะขึ้นอยู่กับค่าเฉลี่ยของกลุ่ม m_i และค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน S_i แต่สำหรับการรวมกันของ $R \cup (k, l)$ จะมีการเปลี่ยนแปลงการหาค่าเฉลี่ย และค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$m'_i = \frac{1}{n+1} (f(k,l) + nm_i) \quad (2.26)$$

$$\sigma'_i = \sqrt{\frac{1}{n+1} \left(n\sigma_i^2 + \frac{n}{n+1} [f(k,l) - m_i]^2 \right)} \quad (2.27)$$

การรวมกันสามารถทำได้เมื่อค่าความเข้มของพิกเซล $f(k, l)$ มีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ย m_i ดังต่อไปนี้ คือ

$$|f(k, l) - m_i| \leq T_i(k, l) \quad (2.28)$$

เมื่อ T_i เป็นค่า Threshold ที่มีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่างกลุ่ม R_i กับความเข้มของพิกเซล $f(k, l)$ ซึ่งสามารถหาได้จาก

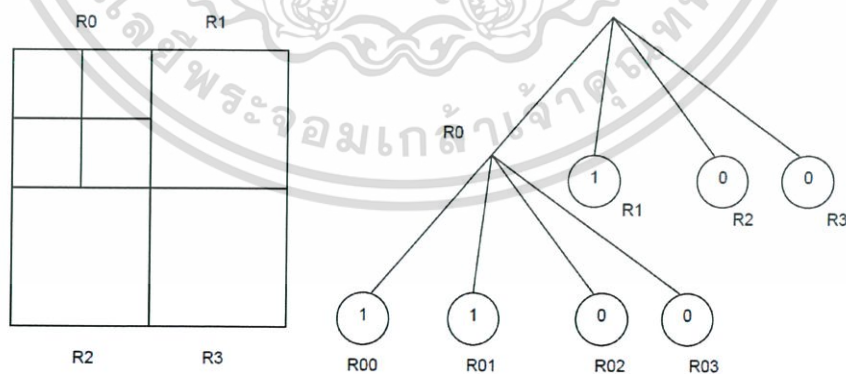
$$T_i(k, l) = \left(1 - \frac{\sigma'_i}{m_i} \right) T \quad (2.29)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าหากไม่มีกลุ่มใดเลยที่พิกเซลที่ (k, l) สามารถรวมเข้าด้วยกันได้ก็ให้สร้างกลุ่มใหม่ขึ้นมา ถ้าหากมีมากกว่าหนึ่งกลุ่มที่พิกเซลที่ (k, l) สามารถรวมเข้าด้วยกันได้ก็ให้รวมเข้าด้วยกันกับกลุ่มที่มีความแตกต่าง $|f(k, l) - m_i|$ ที่มีค่าน้อยที่สุด การขยายตัวของกลุ่มจะขึ้นอยู่กับค่า Threshold (T) ซึ่งถ้ามีค่าน้อย ๆ ก็จะทำให้ค่า $T_i(k, l)$ มีค่าน้อยด้วย (สำหรับทุก ๆ กลุ่ม) และการรวมกันก็จะทำได้เรื่อยๆ ขึ้น แต่ถ้าค่า Threshold มีค่ามาก ๆ ก็จะทำให้ในแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างของสมาชิกภายในกลุ่มมากขึ้น (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่ามากขึ้น) นอกจากนี้ค่า Threshold $T_i(k, l)$ ยังจะขึ้นอยู่กับค่าอัตราส่วน $\frac{\sigma_i}{m_i}$ ถ้าในกลุ่มมีสมาชิกที่มีความเข้มที่แตกต่างกันน้อยก็จะทำให้ค่าอัตราส่วนนี้มีค่าเข้าใกล้ศูนย์และค่า $T_i(k, l)$ จะมีค่าเข้าใกล้ T ดังนั้น T จึงเป็นค่าความแตกต่างของ $|f(k, l) - m_i|$ ที่มากที่สุดที่สามารถยอมรับได้ และถ้าความแตกต่างของความเข้มของสมาชิกในกลุ่มยังมีค่าสูงขึ้น (less homogeneous) ค่าอัตราส่วน $\frac{\sigma_i}{m_i}$ ก็จะมีค่าสูงขึ้นด้วย

2.1.3.2.3. Split Region

เป็นลักษณะของการ segmentation อีกวิธีหนึ่งที่มีลักษณะตรงข้ามกับ Merge region (เป็นลักษณะ Topdown Approach) โดยเริ่มต้นจะมีการสมมติว่าทั้งภาพจะมีเพียงหนึ่งกลุ่มเท่านั้น (Region) โดยถ้าหากว่าไม่เป็นความจริงก็ให้ทำการแยกกลุ่มนี้ออกเป็นสี่กลุ่มย่อย และจะมีการพิจารณาลักษณะนี้เรื่อยๆ จนกระทั่งได้กลุ่มของภาพที่มีสมาชิกของกลุ่ม ที่มีค่าใกล้เคียงกัน ในระดับที่สามารถยอมรับได้ (homogeneous)



รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของการ Split region

การตรวจสอบว่ากลุ่มใดสามารถยอมรับได้หรือไม่ ทำได้โดยการคำนวณผลต่างของค่าความเข้มของพิกเซล ที่ได้จากค่าความเข้มสูงสุดลบกับพิกเซลที่มีความเข้มน้อยสุด แล้วนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่า Threshold ว่ามีค่าน้อยกว่าหรือไม่ คุณสมบัติของ Split region คือถ้าภาพเริ่มต้นมีขนาดเป็น $N \times N$ ก็จะทำให้ขนาดเท่ากับเป็นกำลังของ $2(N = 2^n)$ ทุกกลุ่มที่ถูกสร้างด้วย Split Algorithm จะเป็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สี่เหลี่ยมเป็นขนาดเท่ากับ $M \times M$ เมื่อ M เป็นกำลังของ 2 ($M = 2^m$), $m \leq n$ และเนื่องจาก Algorithm นี้จะเป็นลักษณะของการเรียกตัวเอง ดังนั้นจึงสามารถแสดงเป็นลักษณะของรูปต้นไม้ได้ ซึ่งแต่ละโหนด จะมีการแตกออกมาเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งเรียกว่า Quadtree

2.1.3.2.3. Split and merge

การใช้เฉพาะอัลกอริทึมของ Split จะมีข้อเสียคือวิธีการนี้จะทำให้มีการสร้างกลุ่มขึ้นมาใหม่ R_i, R_j ซึ่งกลุ่มเหล่านี้จะสามารถรวมเป็นกลุ่มเดียวกันได้ $P(R_i \cup R_j) = TRUE$ ซึ่งในความเป็นจริงแล้วควรที่จะมีการรวมทั้งสองกลุ่มเข้าด้วยกันดังนั้นจึงได้มีการนำเอาการ merge เข้ามาใช้ด้วย และเรียกว่า Split and merge algorithm ซึ่งจะมีลักษณะการทำงานดังนี้คือ

1. ถ้ากลุ่ม R เป็นกลุ่มที่ไม่สามารถยอมรับได้ (inhomogeneous) ก็ให้ทำการแยกออกเป็น 4 กลุ่มย่อยเรื่อย ๆ
2. ถ้าหากกลุ่มสองกลุ่ม สามารถรวมเข้าด้วยกันได้ (homogeneous) ($P(R_i \cup R_j) = TRUE$) ก็ให้ทำการรวมเข้าด้วยกัน

อัลกอริทึมนี้จะหยุดก็ต่อเมื่อไม่สามารถที่จะทำการแยกเป็นกลุ่มย่อย ๆ ได้อีกรวมทั้งไม่สามารถรวมกลุ่มต่าง ๆ เข้าไว้ด้วยกันได้อีกแล้ว

ข้อดีของการทำเช่นนี้จะได้พื้นที่ต่อเนื่องกัน ปัญหาอุปสรรคของวิธีการนี้คือ การกำหนดกฎเกณฑ์ที่เหมาะสมที่ใช้ตรวจสอบว่าพิกเซลนั้นที่มีคุณสมบัติเหมือนกัน เพื่อใช้ในการรวมกลุ่มเข้าด้วยกันทำได้ยาก และวิธีการเหล่านี้อาศัยอัลกอริทึมและโครงสร้างข้อมูลที่ซับซ้อน การประมวลผลใช้เวลานาน ตัวอย่างเช่น การแปลงภาพระดับสีเทาให้เป็นภาพขาว-ดำ

2.1.3.3 การแปลงภาพระดับสีเทาให้เป็นภาพขาวดำ

การแปลงภาพระดับสีเทาให้เป็นภาพขาวดำ โดยการแปลงภาพระดับสีเทาจากภาพจริงซึ่งค่าในแต่ละจุดภาพคือค่าความเข้มของสีแต่ละตำแหน่งของจุดภาพนั้น ซึ่งค่าต่างๆของภาพระดับสีเทาทั้งหมดขึ้นอยู่กับจำนวนบิตที่ใช้ ตัวอย่างเช่น ภาพระดับสีเทา 8 บิตที่ระดับสีทั้งหมด 256 ระดับ โดยนิยมระบุในช่วง 0-1 หรือ 0-255 ของระดับสีเทา สามารถทำได้โดยการใช้ค่า Threshold หรือ ระดับกัน เป็นตัวกำหนดการแปลงภาพระดับสีเทา ดังรูปที่ 2.10 ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-255 ให้เป็นภาพที่มีค่าเพียงสองระดับ หรือ Binary Image โดยมีเงื่อนไขว่า ถ้าความเข้มแสงของจุดภาพใดมีค่าต่ำกว่าค่าหรือเท่ากับค่า threshold ให้จุดภาพนั้นมีค่าเป็น 0 หรือเป็นสีดำ และจุดภาพใดที่มีค่าสูงกว่าค่า threshold ให้จุดภาพนั้นมีค่าเป็น 1 หรือสีขาว โดยวิธีนี้เป็นการทำงานของพิกเซลมีค่าเพียง 2 สถานะคือขาวและดำ มีสูตรดังนี้

ภาพสเกลสีเทาสามารถพิจารณาว่าเป็นการตั้งค่าแบบสามมิติที่ต่อเนื่องตัวแรกขององค์ประกอบต่างๆได้รับการกำหนดพิกัดแกน X และ Y ของพิกเซลและองค์ประกอบที่สามคือค่าสเกลสีเทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้กับองค์ประกอบการออกแบบโครงสร้างสเกลสีเทาได้ พร้อมด้วยแนวความคิดนี้ให้เป็นระดับสีเทาจากช่องเปิดขนาดเล็กสามารถกำหนดดังนี้

ระดับสีเทาของการ dilation ของ f b กำหนดให้เป็น

$$(f \oplus b)(s, t) = \max \{f(s - x, t - y) - \frac{b(x, y)}{(s - x)}, (t - y) \in D_f; (s, y) \in D_b\}, \quad (2.30)$$

ระดับสีเทาของการ erosion ของ f b กำหนดให้เป็น

$$(f \ominus b)(s, t) = \max \{f(s - x, t + y) - \frac{b(x, y)}{(s + x)}, (t + y) \in D_f; (s, y) \in D_b\}, \quad (2.31)$$

2.1.3.4 การแปลงภาพโดยการเทรชโธลด์ (Threshold)

เทคนิคการทำ Thresholding มีอยู่หลายแบบที่มีการใช้งานเกี่ยวกับงานด้านคอมพิวเตอร์อย่างกว้างขวาง เช่น Threshold แบบเดียวที่ให้ผลลัพธ์ที่น่าพอใจกับหลายๆ รูปภาพนอกจากนี้ยังมี Threshold ที่เป็นแบบตัวแปรหรือ รูปแบบที่มีหลายระดับ และยังใช้สถิติมาช่วยใช้ร่วมด้วย

2.1.3.4.1. Global Thresholding

เป็นกระบวนการที่ใช้ในการแยกวัตถุ ที่มีความแตกต่างจากภาพพื้นหลังของภาพ การจำแนกแต่ละกลุ่มของพิกเซลว่าเป็นวัตถุเดียวกันหรือว่าเป็นภาพพื้นหลัง สามารถกำหนดค่าให้กับภาพต้นฉบับได้ ถ้าอยู่ในช่วงที่กำหนด การทำ Threshold ทั่วไป จะเป็นแบบตรงไปตรงมา กำหนดให้ $a \in R_x$ ของภาพต้นแบบ และให้ช่วงที่ต้องการทำ Threshold เป็น $[h, k]$ Threshold ของภาพ $b \in \{0, 1\}^x$ ให้

$$b(x) = 1 \quad \text{ถ้า } h \leq a \leq k \quad (2.32)$$

$$b(x) = 0 \quad \text{ถ้าอยู่ในช่วงอื่น} \quad (2.33)$$

ที่ค่า k แทนค่า Threshold ที่ต้องการ

ทุกค่าของ x มีสองกรณีที่ต้องให้ความสนใจ คือ ค่าของภาพ b มีค่าสูงเพียงอย่างเดียวหรือมีค่าต่ำเพียงอย่างเดียว ในกรณีแรกของ Threshold ภาพ b

นอกจากนี้ยังมีสมการพีชคณิตของภาพ กำหนดให้ $a \in R_x$ เป็นภาพต้นแบบ และ $[h, k]$ เป็นช่วงของค่า Threshold ผลลัพธ์ของ Threshold คือภาพ $b \in \{0, 1\}^x$ คำนวณได้จาก

$$b := x[h, k] \quad (2.34)$$

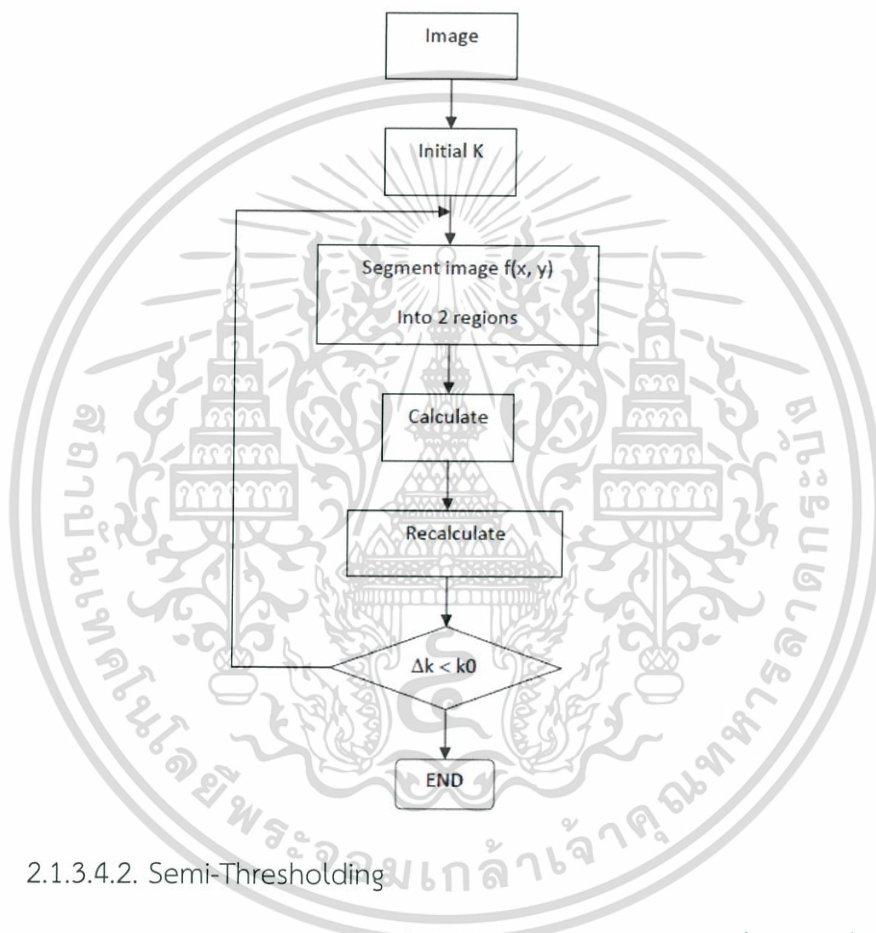
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการที่มีลักษณะพิเศษ

$$b := k \leq x(a) \quad (2.35)$$

และ

$$b = k \geq x(a) \quad (2.36)$$



2.1.3.4.2. Semi-Thresholding

Semi Thresholding นำประโยชน์ของ Global Thresholding ที่มีการเปลี่ยนแปลงมาใช้ งาน ค่าของแต่ละพิกเซลจะอยู่ภายใน ช่วงของค่า Threshold จะเก็บค่าพิกเซลเดิมไว้ หรือถ้าค่าของ พิกเซลไม่อยู่ในช่วงของ Threshold จะถูกเปลี่ยนค่าให้เป็น “0” ให้ภาพต้นฉบับเป็น $a \in R_x$ ช่วง ของThreshold เป็น $[h, k]$ ภาพที่เป็น semi thresholding คือ

$b \in R_x$ โดยให้

$$b(x) = a(x) \quad \text{ถ้า } h \leq a(x) \leq k \quad (2.37)$$

$$b(x) = 0 \quad \text{ถ้าอยู่ในช่วงอื่นอื่น}$$

สำหรับทุกค่าของ x

สำหรับพื้นที่ที่มีค่าพิกเซลค่าสูงแยกเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} b(x) &= a(x) && \text{ถ้า } a \geq k \\ b(x) &= 0 && \text{ถ้าอยู่ในช่วงอื่นอื่น} \end{aligned}$$

สำหรับพื้นที่ที่มีค่าพิกเซลค่าต่ำแยกเป็น

$$\begin{aligned} b(x) &= a(x) && \text{ถ้า } a \leq k \\ b(x) &= 0 && \text{ถ้าอยู่ในช่วงอื่นอื่น} \end{aligned}$$

2.1.3.4.3 Multi-Level Thresholding

จากวิธีการของ Thresholding ที่กล่าวมาทั้งสองวิธีนั้น การทำเซกเมนต์กับภาพจะทำให้ได้ข้อมูลที่มีขอบเขตหรือว่าพื้นที่นั้นจะถูกแบ่งออกเป็นสองส่วน การทำงานที่เกี่ยวกับภาพนั้นก็มีความจำเป็นที่จะต้องแบ่งเซกเมนต์ภาพออกมามากกว่าสองส่วน

Multilevel Threshold จะทำให้เราแบ่งภาพหรือจัดกลุ่มได้มากกว่า ยกตัวอย่างเช่น ฮิสโตแกรม (histogram) ของภาพที่มีจุดสูงสุดสามจุด สามารถแบ่งจุดเพื่อทำ Threshold ได้ 2 จุดโดยช่วงที่แบ่งไม่ทับซ้อนซึ่งกันและกัน กำหนดให้ $a \in R_x$ และ k_1, \dots, k_n เป็นค่า Threshold ที่ $k_1 > k_2 > k_3 > \dots > k_n$ แบ่ง R ออกเป็น $n+1$ ที่สัมพันธ์กับค่าผลลัพธ์ของ $V_1, V_2, V_3, \dots, V_n$ โดยทั่วไปค่าที่ได้จะเป็น $1, \frac{n-1}{n}, \dots, \frac{1}{n}, 0$ Threshold ของภาพ $b \in R_x$ กำหนดโดย

$$b(x) = \begin{cases} v_i & \text{ถ้า } k < a(x) \\ v_i & \text{ถ้า } k < a(x) \leq k_{i-1} \\ v_{n+1} & \text{ถ้า } a(x) \leq k \end{cases} \quad (2.38)$$

2.1.3.4.4 Variable Thresholding

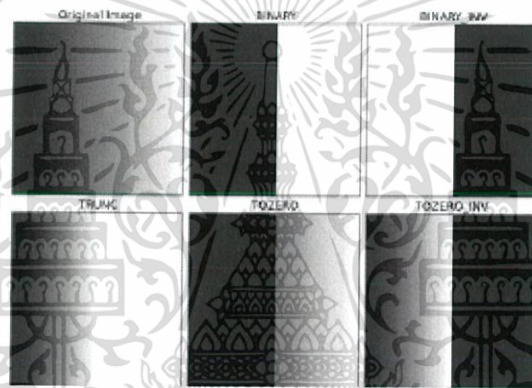
การทำ Threshold ที่เป็นแบบเดียวกันทำให้ผลลัพธ์ที่ทำภาพนั้นยังไม่ค่อยดี Variable Thresholding จะทำให้ผลการทำ Threshold กับภาพนั้นมีความแตกต่างกันหลายระดับขึ้น

ภาพที่มีระดับความเข้มของวัตถุ และพื้นหลังสูง แต่มีความสว่างของภาพไม่สม่ำเสมอเช่นนั้น ภาพวัตถุและพื้นหลังนั้นจะมีค่าต่ำที่อีกด้านหนึ่งของภาพมากกว่าอีกข้างตัวอย่างเช่น ภาพอาจจะถูกแบ่งเป็นพื้นที่เล็ก ๆ ย่อยลงไป ความแน่นอนของการทำ Threshold ขณะนั้นของเขตและเป้าหมายของภาพที่ต้องการที่เป็นพื้นที่ย่อยนั้นรวมกันเป็นสิ่งเดียวกันได้

กำหนดให้ $a \in R_x$ เป็นภาพต้นฉบับ และภาพ $d \in R_x$ แสดงถึงการทำ Threshold ที่ค่า x ต่าง $d(x)$ คือค่าที่ได้จากการทำ Threshold ที่ x ต่างการทำ Threshold ภาพ $b \in \{0,1\}$ กำหนดให้

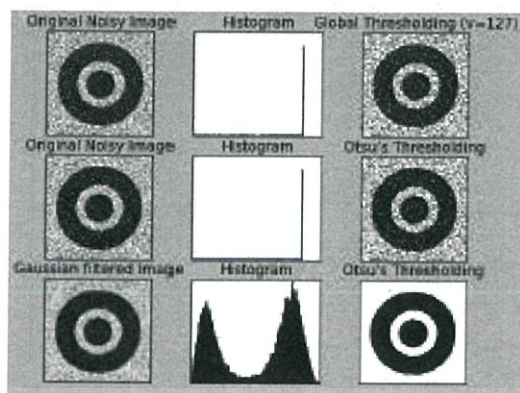
$$b(x) = \begin{cases} 1 & \text{ถ้า } a(x) \geq d(x) \\ 0 & \text{ถ้า } a(x) < d(x) \end{cases} \quad (2.39)$$

นอกจากนี้ในการทำการแปลงภาพแบบเทรชโอดทั่วไประยะแบ่งได้ 5 แบบ ได้แก่ ไบนารี (Threshold Binary) ซึ่งใช้วิธีตามที่ได้กล่าวข้างต้น อินเวอร์สไบนารี (Threshold binary, inverted) ซึ่งจะใช้ตัวระดับกันสร้างภาพขาวดำในทางตรงข้ามกับวิธีแรก ซึ่งทั้งสองวิธีนี้จะให้ภาพในระดับขาวดำ เทราซแคต (Truncate) เป็นการสร้างภาพโดยให้ส่วนที่เท่ากับหรือมากกว่าระดับกันมีสถานะเป็นสีขาวและในส่วนที่เหลือให้คงสถานะเดิมไว้ ทูซีโร่ (Threshold to zero) เป็นการสร้างภาพโดยใช้ระดับกันเป็นตัวแบ่งสถานะ หากมีค่าต่ำกว่าจะแปลงเป็นสีดำ และในส่วนที่เหลือให้คงสถานะเดิมไว้ และสุดท้าย ทูซีโร่แบบอินเวอร์ส (Threshold to zero, inverted) ซึ่งมีวิธีทำภาพตรงกันข้ามกับแบบทูซีโร่ สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 การทำเทรชโอดแบบต่างๆ

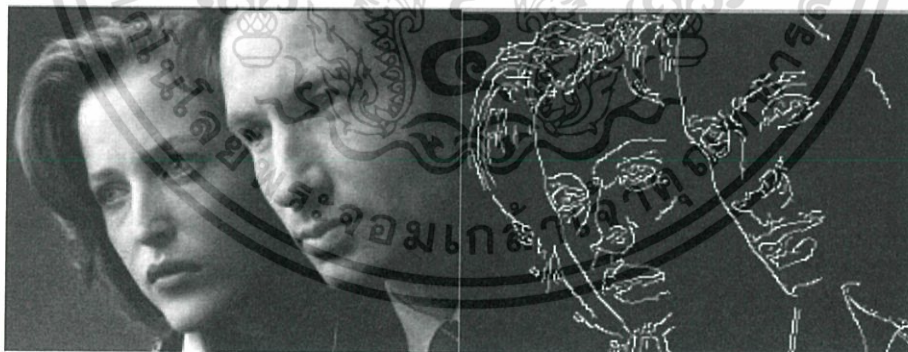
นอกจากนี้ในการทำ Threshold ยังสามารถทำได้อีกสองแบบซึ่งเกิดจากการประยุกต์จากวิธีต่างๆขึ้นมา เช่น การทำเทรชโอดแบบอแดปทีฟ (Adaptive Thresholding) ซึ่งวิธีนี้จะกำหนดค่าเทรชโอดขึ้นมาจากค่าพิกเซลส่วนใหญ่ ซึ่งอาจมาจากค่าจำนวนค่าเฉลี่ยของพิกเซลรอบข้างเป็นจำนวนตามไซส์ที่กำหนดไว้ ซึ่งสามารถใช้ได้ดีกับรูปที่มีความต่างของวัตถุขนาดเล็กกับสิ่งอื่นที่ชัดเจน การทำเทรชโอดแบบโอทีเอสยู (Otsu Threshold) ซึ่งเป็นการทำเทรชโอดจากการใช้ฮิสโตแกรม ซึ่งสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.12 ซึ่งวิธีนี้เหมาะกับภาพแบบไบโมเดลหรือรูปที่มีค่าฮิสโตแกรมโดดเด่นเพียง 2 พีค



รูปที่ 2.12 การทำเทรชโลดแบบวิธี OTSU

2.1.3.4 Edge Segmentation Method

เป็นวิธีการแยกองค์ประกอบของภาพ โดยอาศัยความไม่ต่อเนื่องของคุณสมบัติของพิกเซลที่บริเวณขอบของวัตถุ ดังนั้นวิธีการนี้จึงมุ่งที่จะตรวจหาขอบของวัตถุเป็นข้อดีของวิธีการนี้คือมีความรวดเร็วในการประมวลผล เพราะวิธีการนี้ใช้เฉพาะข้อมูลบริเวณขอบของวัตถุเท่านั้น ส่วนข้อเสียของวิธีการนี้ คือผลลัพธ์ที่ได้จะอยู่ในรูปของ “ขอบ” ของวัตถุซึ่งอาจจะต้องผ่านกระบวนการอื่นอีกต่อหนึ่ง จึงสามารถใช้งานได้ นอกจากนี้ขอบของวัตถุที่ได้อาจไม่ต่อเนื่องถ้าวัตถุมีสีที่ไม่สม่ำเสมอ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจจับชิ้นงานได้ด้วย การนำไปใช้ Edge Detection คือ การประมวลผลภาพโดยการตรวจสอบหรือการค้นหาเส้นรอบวัตถุที่อยู่ในภาพ ซึ่งวัดจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มหรือความสว่างของภาพเพื่อทำการคำนวณหา พื้นที่หรือขนาดของวัตถุที่อยู่ในภาพ



รูปที่ 2.13 รูปเปรียบเทียบระหว่างภาพต้นแบบ และ Edge detection

ซึ่งในการใช้วิธีต่างๆจะมีลักษณะที่แตกต่างกันในการใช้งาน ซึ่งแต่ละวิธีสามารถนำมาประยุกต์กับการตรวจจับและตรวจสอบชิ้นงาน ซึ่งข้อมูลที่ได้จากวิธีต่างๆสามารถนำไปคำนวณลักษณะ (Feature) ต่างๆของวัตถุได้ง่ายขึ้น และสามารถนำไปพัฒนาการนับจำนวนวัตถุต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 Morphological Operation

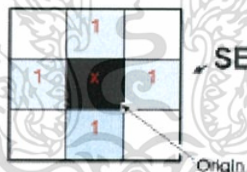
Mathematical morphology เป็นเครื่องมือที่ใช้งานด้าน Digital image processing สำหรับตัดต่อ หรือแต่งเติมส่วนขอบของภาพ โครงสร้างของภาพ โดยใช้ทฤษฎีของเซต ซึ่งเซตใน Morphology จะแทนรูปร่างหรือรูปทรงของวัตถุในภาพ เช่น กลุ่มของสีดำทั้งหมดในภาพไบนารี สำหรับการทำให้ Morphological สามารถใช้ในการกำจัดสัญญาณรบกวน ขยายพื้นที่ของวัตถุ และกำจัดส่วนเกินของวัตถุได้

2.1.4.1 Dilation and Erosion

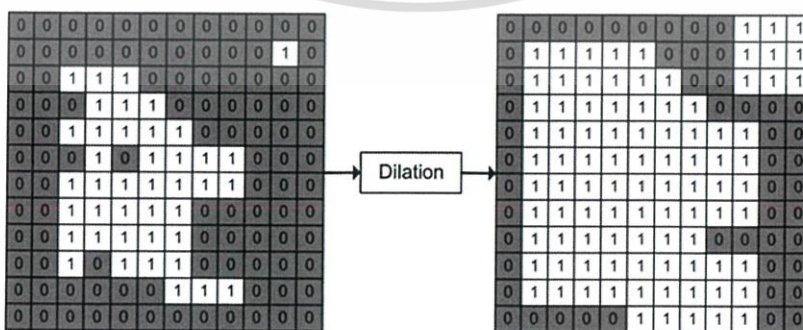
Dilation คือ การขยายพิกเซลของภาพ โดยการสแกนค่าของ SE (Structuring Element) ดังรูปที่ 2.14 บนแต่ละค่าของพิกเซลภาพ โดยทำการสแกนจากตำแหน่งบนซ้ายไปยังตำแหน่งล่างขวา ซึ่งจะเปลี่ยนค่าของพิกเซลที่มีค่าเป็น 0 ให้มีค่าเป็น 1 เมื่อค่าของพิกเซลใด ๆ พิกเซลหนึ่งบน SE มีค่าตรงกับค่าของพิกเซลภาพ และจะมีค่าคงเดิม เมื่อทุกค่าของ SE มีค่าตรงกับทุกค่าของพิกเซลภาพ แสดงดังรูปที่ 2.15 โดยมีสมการดังนี้

$$A \oplus B = \bigcup_{x \in B} A_x \tag{2.40}$$

เรียก B ว่าเป็น Structuring element in dilation ความหมายคือทุก ๆ พิกเซล ทำการเคลื่อนย้าย ไปยัง A โดยการยุเนี่ยนไปตามพิกัดของ x



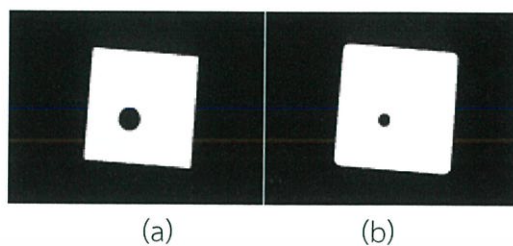
รูปที่ 2.14 ค่าของ SE (Structuring Element)



รูปที่ 2.15 การทำงานของ Dilation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 2.15 เมื่อค่าของพิกเซลใน SE ตรงกับค่าของพิกเซลใด ๆ พิกเซลหนึ่งของภาพพิกเซลที่ ตำแหน่ง Origin จะเปลี่ยนเป็น 1 ผลลัพธ์ของ Dilation แสดงดังรูปที่ 2.16

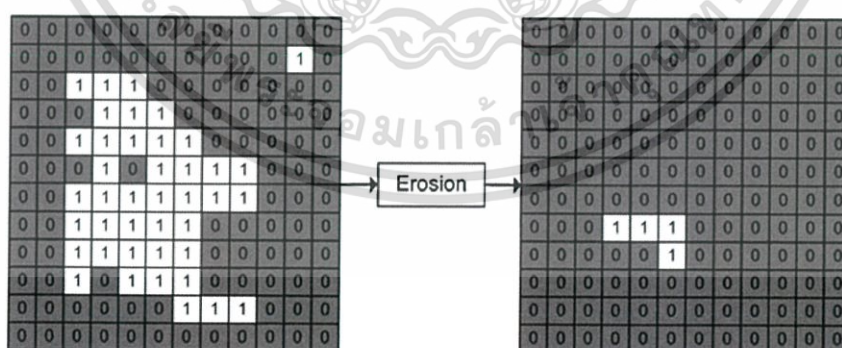


รูปที่ 2.16 ภาพการทำ Dilation (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Dilation

Erosion เป็นวิธีการที่ตรงข้ามกับ Dilation คือจะลดขนาดของพิกเซล โดยการสแกนค่าของ SE บนแต่ละค่าของพิกเซลภาพ โดยทำการสแกนจากตำแหน่งบนซ้ายไปยังตำแหน่งล่างขวา ซึ่งจะเปลี่ยนค่าของพิกเซลที่มีค่าเป็น 1 ให้มีค่าเป็น 0 เมื่อพิกเซลใดพิกเซลหนึ่งบน SE มีค่าตรงกับค่าของพิกเซลภาพ และจะมีค่าคงเดิม เมื่อทุกพิกเซลของ SE มีค่าตรงกับค่าของพิกเซลภาพแสดงดังรูปที่ 2.17 โดยมีสมการดังนี้

$$A \ominus B = \{w : B_w \subset A\} \quad (2.41)$$

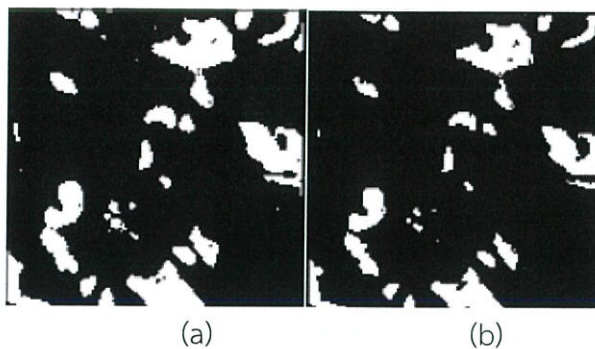
เรียก B ว่าเป็น Structuring element in Erosion ความหมายคือ B_w เป็นสับเซตของ A โดยที่ค่า ของ B จะต้องประกอบด้วยทุก ๆ พิกเซลของ w มีพิกัดเป็น (x, y) ซึ่งค่า B_w จะต้องอยู่ใน A



รูปที่ 2.17 การทำงานของ Erosion

จากรูปที่ 2.17 เมื่อค่าของพิกเซลใน SE ทุก ๆ พิกเซลมีค่าตรงกับค่าของพิกเซลในภาพทุกตำแหน่ง พิกเซลที่ตำแหน่ง Origin จะมีค่าคงเดิม และจะมีค่าเป็น 0 เมื่อค่าของ SE ตรงกับค่าของพิกเซลใด พิกเซลหนึ่งของภาพ ผลลัพธ์ของ Erosion แสดงดังรูปที่ 2.18 (b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



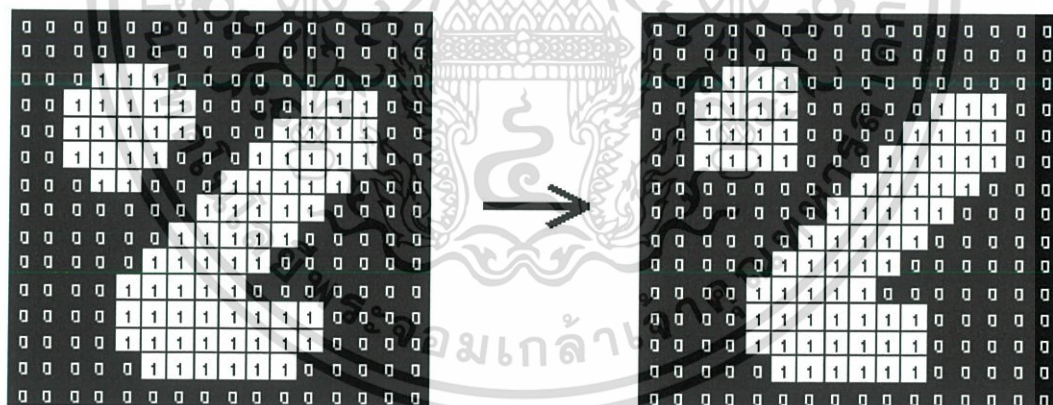
รูปที่ 2.18 ภาพการทำ Erosion (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Erosion

2.1.4.2 Opening and Closing

Opening ใช้เพื่อกำจัดรายละเอียดขนาดเล็กของภาพ และการทำ Opening จะทำให้พิกเซลของภาพจะถูกเปิดกว้างมากขึ้นดังรูปที่ 2.19 และวิธีการของ Opening คือการทำ Erosion ก่อน จากนั้นจึงทำ Dilation ดังสมการ

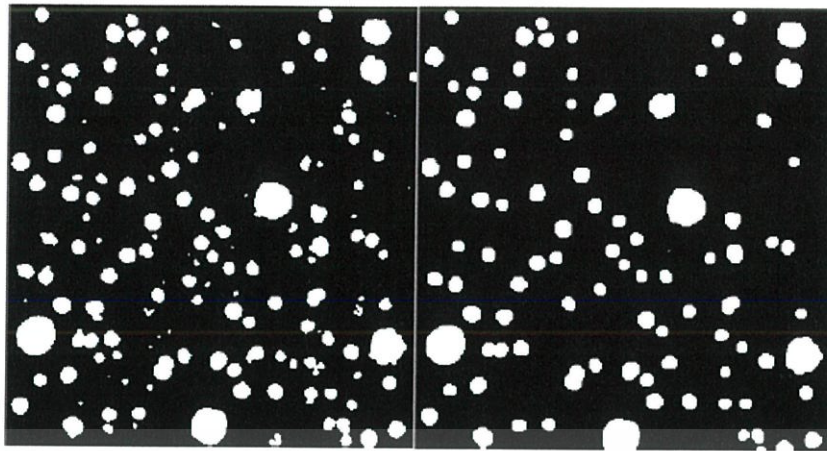
$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \quad (2.42)$$

เรียก B ว่าเป็น Structuring element



รูปที่ 2.19 การทำงานของ Opening

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a)

(b)

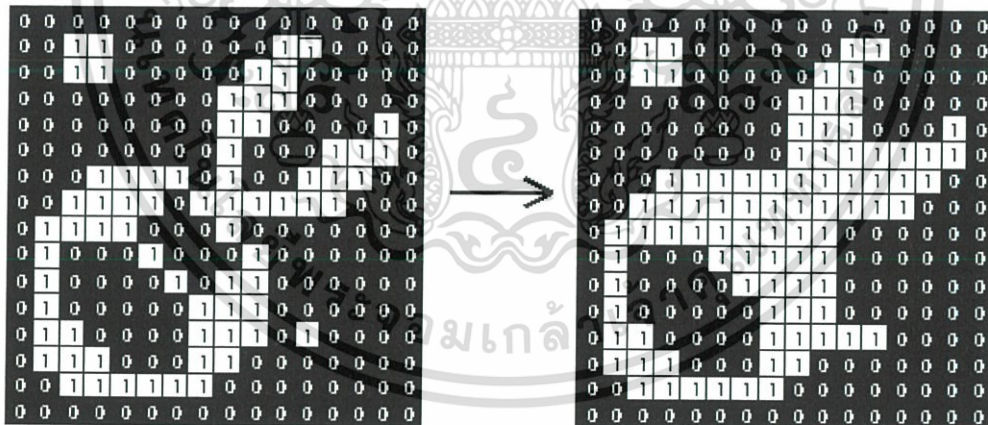
รูปที่ 2.20 ภาพการทำ Opening (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Opening

Closing ทำในวิธีตรงข้ามกับ Opening จะเป็นการทำให้ภาพมีการเชื่อมต่อกันมากขึ้นและ การทำ Closing จะทำให้พิกเซลของภาพจะถูกปิดเชื่อมต่อกันมากขึ้นดังรูปที่ 2.21 วิธีการทำ Closing คือการทำ Dilation ก่อน จากนั้นจึงทำ Erosion ดังสมการ

$$A \cdot B = (A \oplus B) \ominus B$$

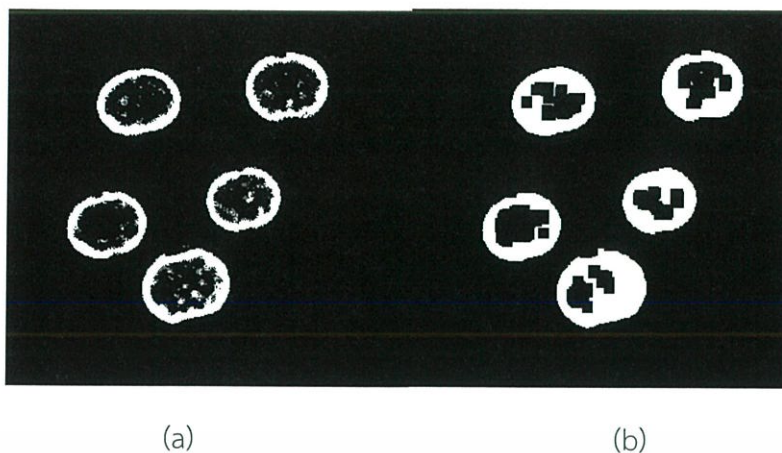
(2.43)

เรียก B ว่าเป็น Structuring element

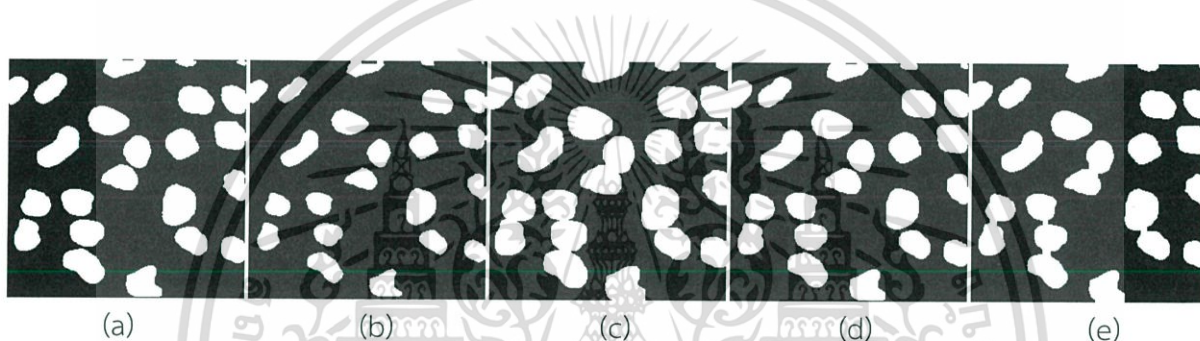


รูปที่ 2.21 การทำงานของ Closing

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.22 ภาพการทำ Closing (a) ภาพต้นฉบับ (b) ผลลัพธ์จากการทำ Closing

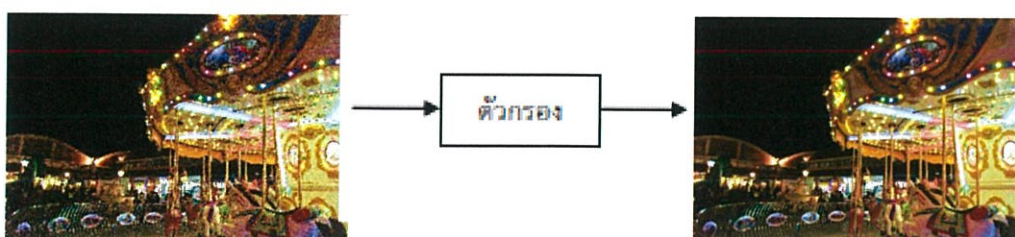


รูปที่ 2.23 ภาพเปรียบเทียบระหว่าง (a) ภาพต้นฉบับ (b) Erosion (c) Dilation (d) Opening (e) Closing

2.1.5 การกรองข้อมูลภาพ

การกรองข้อมูลภาพ (Image Filtering) คือการนำภาพไปผ่านตัวกรองสัญญาณเพื่อให้ได้ภาพผลลัพธ์ออกมา ภาพผลลัพธ์ที่ได้จะมีคุณสมบัติแตกต่างจากภาพเริ่มต้น วัตถุประสงค์หลักของการกรองข้อมูลภาพคือการเน้น (enhance) หรือลดทอน (attenuate) คุณสมบัติบางประการของภาพ เพื่อให้ได้ภาพที่มีคุณสมบัติตามต้องการ

การกรองข้อมูลภาพคือการประมวลผลภาพอย่างหนึ่งที่สำคัญมาก เนื่องจากในการใช้งานจริง ภาพที่ได้มามักมีสัญญาณรบกวน หรือสัญญาณไม่พึงประสงค์อื่นๆ ปะปนอยู่ด้วย การกรองข้อมูลภาพสามารถปรับปรุงให้ภาพมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น เหมาะแก่การประมวลผลในขั้นต่อไป โดยการกรองข้อมูลภาพสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.24



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.24 การกรองข้อมูลภาพ

องค์ประกอบสำคัญของการกรองข้อมูลภาพคือตัวกรอง หากเปรียบเทียบเป็นสัญญาณไฟฟ้าที่มีความถี่ต่างๆ ผสมกันอยู่ ตัวกรองก็คือวงจรไฟฟ้าที่ทำหน้าที่เลือกหรือกรองให้สัญญาณไฟฟ้าที่มีความถี่ในช่วงที่ต้องการผ่านออกไปได้ คุณสมบัติของตัวกรองคือตัวกำหนดคุณสมบัติของภาพผลลัพธ์ ซึ่งอาจมองข้อมูลของภาพๆ หนึ่งให้เป็นสัญญาณๆ หนึ่งได้ ด้วยการกำหนดให้ระดับความเข้มแสงของแต่ละจุดคือขนาด (amplitude) ของสัญญาณ ณ ตำแหน่งนั้นๆ ข้อแตกต่างระหว่างสัญญาณไฟฟ้ากับภาพคือ ขนาดของสัญญาณไฟฟ้าคือค่าแรงดันหรือกระแส แต่ขนาดของข้อมูลภาพคือระดับความเข้มแสงของจุดภาพ การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณไฟฟ้าเป็นการเปลี่ยนแปลงเทียบกับเวลา ความถี่ของสัญญาณไฟฟ้าถูกกำหนดโดยอัตราการเปลี่ยนแปลงของขนาดของสัญญาณในหนึ่งช่วงเวลา แต่การเปลี่ยนแปลงของข้อมูลภาพเป็นการเปลี่ยนแปลงเทียบกับตำแหน่งของจุดภาพ ความถี่ของการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับอัตราการเปลี่ยนระดับความเข้มแสงของจุดที่อยู่ติดกันไป สัญญาณไฟฟ้าเป็นสัญญาณมิติเดียว (amplitude vs time) แต่ภาพเป็นสัญญาณ 2 มิติ (intensity vs X & Y)

ตัวกรองคือระบบ ๆ หนึ่งซึ่งรับสัญญาณเข้า (input) ประมวลผลสัญญาณ และส่งสัญญาณออก (output) โดยทั่วไปตัวกรองจะถูกสร้างให้เป็นระบบเชิงเส้น (linear system) เนื่องจากออกแบบได้ง่าย และมีประสิทธิภาพดี ปัจจุบันมีทฤษฎี และเทคนิคมากมายเกี่ยวกับการออกแบบตัวกรองสัญญาณแบบเชิงเส้น โดยในการกรองข้อมูลภาพ เรามักพิจารณาว่าภาพคือสัญญาณ 2 มิติที่ประกอบขึ้นจากสัญญาณความถี่ต่างๆ ผสมกันอยู่ในสัดส่วนที่ต่างกัน การออกแบบตัวกรองจึงเป็นการกำหนดว่าเราต้องการกำจัดสัญญาณความถี่ใดออกไป (หรือต้องการเลือกสัญญาณความถี่ใดบ้าง) หากผู้อ่านมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการกรองสัญญาณไฟฟ้า ก็จะสามารถทำความเข้าใจเกี่ยวกับการกรองข้อมูลภาพได้ไม่ยาก เพราะการกรองข้อมูลภาพคือส่วนขยายของความรู้เดิมให้รองรับการประมวลผลสัญญาณ 2 มิติ

2.1.5.1 ประเภทของตัวกรอง

ตัวกรองแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทตามลักษณะการเลือกความถี่คือ

1. ตัวกรองความถี่ต่ำผ่าน (Low-pass Filter)
2. ตัวกรองความถี่สูงผ่าน (High-pass Filter)
3. ตัวกรองแถบความถี่ผ่าน (Band-pass Filter)
4. ตัวกรองหยุดแถบความถี่ (Band-stop Filter)

ค่าพารามิเตอร์หลักในการกำหนดคุณสมบัติของตัวกรองคือ ค่าความถี่คัตออฟ (cut-off frequency) ความถี่คัตออฟคือความถี่ที่ระบุจุดตัดของสัญญาณว่าจะให้ผ่าน หรือไม่ผ่าน ตัวอย่างเช่น ตัวกรองความถี่ต่ำผ่านที่มีค่าความถี่คัตออฟเท่ากับ 1,000 เฮิร์ตซ์จะยอมให้สัญญาณที่มีความถี่ต่ำกว่า 1,000 เฮิร์ตซ์ผ่านไปได้ แต่จะไม่ยอมให้สัญญาณที่มีความถี่สูงกว่า 1,000 เฮิร์ตซ์ผ่าน สำหรับตัวกรองความถี่สูงผ่านจะทำงานตรงข้ามกับตัวกรองความถี่ต่ำผ่าน คือไม่ยอมให้สัญญาณที่มีความถี่ต่ำกว่าความถี่คัตออฟผ่านไปได้ แต่จะยอมให้ความถี่ที่สูงกว่าความถี่คัตออฟผ่านได้ วงจรกรองแถบความถี่ผ่านยอมให้สัญญาณในช่วงความถี่หนึ่งผ่านไปได้ หากสัญญาณมีความถี่อยู่นอกช่วงจะถูกลดทอนหรือไม่ยอมให้ผ่านไป สำหรับวงจรหยุดแถบความถี่จะมีลักษณะการทำงานที่ตรงข้ามกันคือจะลดทอนสัญญาณที่มีความถี่ในช่วงที่กำหนดลง และจะผ่านความถี่ที่อยู่นอกช่วง ซึ่งในการกรองสัญญาณใดๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เราจะต้องทราบความถี่ หรือช่วงความถี่ของสัญญาณที่เราต้องการและสัญญาณที่เราไม่ต้องการ จากนั้นเราจะเลือกตัวกรองที่เหมาะสมมาใช้เพื่อกำจัดสัญญาณที่ไม่ต้องการออก หรือ เน้นสัญญาณที่ต้องการให้เด่นชัดยิ่งขึ้น ตัวอย่างเช่นสัญญาณรบกวน

2.1.5.2 การกรองโดยการเฉลี่ยจากหลายภาพ

หากเรามีชุดของภาพคุณภาพต่ำหลาย ๆ ภาพซึ่งถ่ายจากมุมกล้องเดียวกัน เราสามารถสร้างภาพใหม่ที่มีคุณภาพสูงกว่าจากชุดภาพนั้นได้ หากสัญญาณรบกวนเกิดขึ้นแบบสุ่ม ภาพที่เก็บแต่ละครั้งย่อมมีลักษณะแตกต่างกัน หากความเข้มแสงของจุดในภาพหนึ่งถูกรบกวน เราสามารถนำข้อมูลความเข้มแสงของจุด จากภาพอื่น ณ ตำแหน่งเดียวกันมาแทน แต่ละจุดในภาพผลลัพธ์ที่ได้จะเกิดจากการเฉลี่ย (หรือเลือก) จากจุดที่ตรงกันของภาพต่าง ๆ ในชุดภาพ เช่น การทำ Gaussian filter ซึ่งมักใช้ในการทำภาพเบลอ โดยใช้ Gaussian filter แบบ 2 มิติดัง สมการ 2.20

$$G_{\sigma}(x,y) = e^{-\frac{r^2}{2\sigma^2}} = e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (2.44)$$

เมื่อ σ คือ ค่า Standard deviation ของ สมการภาพระฆังคว่ำ (ความกว้างของการกระจาย)

r คือ รัศมีจากจุดศูนย์กลางของ filter โดย pixel ที่อยู่ตรงกลาง จะได้รับ น้ำหนักจาก filter มากที่สุดส่วนรอบๆค่าจะค่อยๆ ลดลงมา ตัว filter ต้องมีขนาดที่พอเหมาะสำหรับการกระจายตัวเลขอย่างน้อย 5×5

2.1.5.3 การกรองโดยวิธีคอนโวลูชัน

วิธีการกรองข้อมูลภาพที่กล่าวมาส่วนใหญ่อาศัยหลักการหาค่าเฉลี่ย โดยอาจเป็นการหาค่าเฉลี่ยของจุดเดียวกันจากภาพหลายๆ ภาพ หรืออาจเป็นการหาค่าเฉลี่ยจากจุดต่างๆ ที่อยู่รอบๆ จุดที่เราสนใจ เนื่องจากการหาค่าเฉลี่ยเป็นการลดการเปลี่ยนแปลงของข้อมูล ในส่วนของวิธีนี้เหมาะกับการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มของจุดต่างๆ ภายในภาพให้เด่นชัดขึ้น ในที่นี้จะเสมือนกับการกรองสัญญาณความถี่สูงผ่าน

การคอนโวลูชันในการประมวลผลภาพ สำหรับวิธีนี้ คือการกระทำกันระหว่างเทมเพลต (template) กับภาพ (image) โดยเทมเพลต คือ เมตริกซ์ขนาด $n \times m$ ของชุดตัวเลขที่จะนำไปซ้อนทับภาพที่ตำแหน่งต่างๆ เพื่อหาผลลัพธ์ของการคอนโวลูชัน ถ้ากำหนดให้เทมเพลต $T(x,y)$ เป็นเทมเพลตขนาด $n \times m$ และภาพ $I(X,Y)$ มีขนาด $N \times M$ การคอนโวลูชันระหว่างเทมเพลตกับภาพสามารถแสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

$$I'(X,Y) = T * I = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{m-1} T(i,j)I(X-i,Y-j) \quad (2.45)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย $I'(X,Y)$ คือภาพผลลัพธ์จากการคอนโวลูชัน

จากสมการที่ 2.20 จะเห็นว่าระดับความเข้มแสง ณ จุด (X,Y) ในภาพผลลัพธ์ได้จากการหาผลรวมของผลคูณของระหว่างค่าในเทมเพลตกับค่าระดับความเข้มแสงของภาพในบริเวณที่เทมเพลตซ้อนทับอยู่ จากสมการ ตัวชี้ตำแหน่งจุดในภาพ $(X-i,Y-j)$ แสดงให้เห็นว่ามีการพลิกเทมเพลตทางแกนนอน และแกนตั้ง สมการที่ 2.22 แสดงการคอนโวลูชันที่ไม่ต้องมีการพลิกเทมเพลต ซึ่งวิธีการนี้มีชื่อที่แท้จริงว่า cross-correlation และเป็นที่ยอมรับใช้ในการประมวลผลภาพ

$$I'(X,Y) = T * I = \sum_{i=0}^{n-1} \sum_{j=0}^{m-1} T(i,j)I(X+i,Y+j) \quad (2.46)$$

ขั้นตอนของการคอนโวลูชันประกอบด้วย การเลื่อน บวก และคูณ เราสามารถใช้การคอนโวลูชันในการประมวลผลภาพได้ในหลายลักษณะ เช่น กรองสัญญาณภาพ การหาขอบภาพ (edge detection) หรือการหารูปร่างของวัตถุในภาพ เป็นต้น โดยทั่วไป ในการคอนโวลูชัน เราจะไม่ยอมให้มีการเลื่อนเทมเพลตออกนอกขอบเขตของภาพ ดังนั้นถ้าเทมเพลตมีขนาดใหญ่กว่า 1×1 ภาพผลลัพธ์จะมีขนาดเล็กกว่าภาพเริ่มต้นเสมอ ตัวอย่างเช่น การคอนโวลูชันระหว่างภาพขนาด 4×5 กับ เทมเพลตขนาด 2×2 ต่อไปนี้

		1	1	3	3	4	2	5	7	6	*
1	0	1	1	4	4	3	2	4	7	7	*
0	1	*	2	1	3	3	3	3	2	7	*
		1	1	1	4	4	*	*	*	*	*

เทมเพลต

ภาพเริ่มต้น

ภาพผลลัพธ์

รูปที่ 2.25 ผลลัพธ์การทำคอนโวลูชัน

จะให้ภาพผลลัพธ์ที่มีขนาด 3×4 จากตัวอย่างข้างต้น ค่าความเข้มสี 3 ในภาพผลลัพธ์ได้จากการหาผลรวมของผลคูณระหว่างเทมเพลตกับภาพในบริเวณที่แรเงา ซึ่งมีค่าเท่ากับ $(1 \times 2) + (0 \times 1) + (0 \times 1) + (1 \times 1) = 3$ โดยจากตัวอย่างพบว่าจุดมุมบนซ้ายของเทมเพลตคือจุดอ้างอิงในการกำหนดจุดในภาพผลลัพธ์ ในความเป็นจริงแล้ว เราสามารถเลือกจุดใดๆ ในเทมเพลตให้เป็นจุดอ้างอิงก็ได้ การเลือกเอาจุดกึ่งกลางของเทมเพลตที่มีความกว้างและสูงเป็นจำนวนคี่ (เช่น เทมเพลตขนาด 3×3 3×5 5×5 และ 7×7 เป็นต้น) เป็นจุดอ้างอิงนั้นมีความเหมาะสมยิ่ง อย่างไรก็ตาม ในแง่ของการเขียนโปรแกรมแล้ว การใช้จุดมุมเป็นจุดอ้างอิงจะลดความซับซ้อนในการเขียนโปรแกรมลง เนื่องจากไม่มีปัญหาสำหรับการคอนโวลูชันโดยใช้เทมเพลตที่มีขนาดไม่คงที่ ดังนั้นในหนังสือนี้จะใช้จุดมุมบนซ้ายเป็นจุดอ้างอิงในการทำคอนโวลูชันทุกครั้ง เว้นแต่มีการกำหนดให้เป็นอย่างอื่น

การคอนโวลูชันที่ไม่ยอมให้เทมเพลตเลื่อนออกนอกบริเวณขอบภาพเรียกว่าการคอนโวลูชันแบบไม่เป็นรายคาบ (aperiodic convolution) วิธีการนี้จะได้ภาพที่มีขนาดเล็กลง หากต้องการคงขนาดภาพไว้ จะต้องใช้การคอนโวลูชันแบบเป็นรายคาบ (periodic convolution) การคอนโวลูชันแบบนี้เปรียบเสมือนการม้วนภาพให้ขอบซ้ายมาชนกับขอบขวา และม้วนให้ขอบบนมาชนกับขอบล่าง เมื่อเทมเพลตเลื่อนตกขอบข้างใดข้างหนึ่งๆ ส่วนของเทมเพลตที่เลยขอบก็จะไปทับกับขอบภาพอีกด้านหนึ่ง ซึ่งวิธีการอย่างง่ายที่ทำให้ภาพผลลัพธ์มีขนาดเท่ากับภาพเริ่มต้นคือ การเติมค่าศูนย์บริเวณรอบๆภาพเริ่มต้น เพื่อให้ภาพเริ่มต้นมีขนาดใหญ่ขึ้น หลังจากการคอนโวลูชันจะได้ภาพผลลัพธ์ที่มีขนาดเท่ากับภาพเริ่มต้นก่อนมีการชดเชย รูปที่ 2.26 แสดงการคอนโวลูชันที่มีการเติมค่าศูนย์ให้กับภาพเริ่มต้น



รูปที่ 2.26 ผลของการเติมค่าศูนย์รอบภาพเริ่มต้นก่อนทำการคอนโวลูชัน

แม้เป็นกระบวนการประมวลผลภาพที่ง่าย แต่การคอนโวลูชันต้องใช้เวลาในการคำนวณสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการคอนโวลูชันระหว่างภาพและเทมเพลตที่มีขนาดใหญ่ หากภาพมีขนาด $M \times M$ และเทมเพลตมีขนาด $n \times n$ จะต้องมีการคูณถึง M^2n^2 ครั้ง ถ้า $M=512$ และ $n=16$ จะต้องมีการคูณประมาณ 32 ล้านครั้ง การคำนวณที่มากขนาดนี้ทำให้ไม่สามารถประมวลผลภาพเคลื่อนไหวในเวลาจริง (real-time) ได้ เว้นแต่จะมีฮาร์ดแวร์ที่ออกแบบมาเฉพาะ สำหรับภาพและเทมเพลตที่มีขนาดใหญ่ ($M \geq 512$ และ $N \geq 32$) การแปลงภาพและเทมเพลตให้อยู่ในรูปของข้อมูลในโดเมนความถี่ (frequency domain) จะช่วยลดการคำนวณลงได้อย่างมาก จากตัวอย่างข้างต้น การคอนโวลูชันในโดเมนความถี่จะลดจำนวนครั้งของการคูณลงเหลือเพียง 256,000 ครั้งเท่านั้น การคอนโวลูชันในโดเมนความถี่จะได้กล่าวถึงในหัวข้อถัดไป

2.1.5.3.1 เทมเพลตสำหรับกรองความถี่ต่ำผ่าน

เทมเพลตสำหรับกรองความถี่ต่ำผ่านมักจะใช้เทมเพลตขนาด 3×3 ต่อไปนี้สามารถใช้เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันของค่าความเข้มแสงในภาพ

$$\begin{bmatrix}
 1 & 1 & 1 \\
 1 & 1 & 1 \\
 1 & 1 & 1
 \end{bmatrix}$$

ซึ่งผลของการคอนโวลูชันกับเทมเพลตนี้จะเหมือนกับการหาผลรวมของจุดภาพทั้ง 9 จุดที่เทมเพลตซ้อนทับอยู่ การเปลี่ยนแปลงใดๆ ในบริเวณดังกล่าวจะถูกเฉลี่ยให้มีความราบเรียบ ผลที่ได้คือสัญญาณที่มีการเปลี่ยนแปลง (เช่นสัญญาณรบกวนความถี่สูง) จะถูกลดทอน ภาพที่ได้จะมีความคมลดลง คุณสมบัติเช่นนี้เปรียบได้กับการกรองสัญญาณความถี่ต่ำผ่าน นอกจากนี้ยังมีเทมเพลตการกรองความถี่ต่ำผ่านที่นิยมใช้อีกแบบหนึ่งคือ

$$\begin{matrix} 1 & 3 & 1 \\ 3 & 16 & 3 \\ 1 & 3 & 1 \end{matrix}$$

ซึ่งเทมเพลตนี้จะเน้นความสำคัญของจุดที่อยู่ตรงกลางเทมเพลตเป็นพิเศษ โดยจะให้จุดกลางมีน้ำหนัก 50% ของทั้งหมด และให้น้ำหนักรวมของจุดทั้ง 4 ที่อยู่ด้านบน ด้านล่าง ด้านซ้าย และด้านขวาของจุดกลางมีค่าเท่ากับ 40% ส่วนจุดมุมทั้ง 4 มีน้ำหนักเพียง 10% โดยจุดที่อยู่ใกล้จุดศูนย์กลางจะมีน้ำหนักมากกว่าจุดที่อยู่ห่างออกไป

2.1.5.3.2 เทมเพลตสำหรับกรองความถี่สูงผ่าน

สัญญาณความถี่สูงคือสัญญาณที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าไปมาอย่างรวดเร็ว ต่างกับสัญญาณความถี่ต่ำ ซึ่งมีการเปลี่ยนค่าอย่างช้าๆ หรือไม่เปลี่ยนแปลงเลย การกรองความถี่สูงผ่าน (High pass filter) ก็คือการกรองสัญญาณที่เพิ่มความแรงของสัญญาณที่มีความถี่สูง และลดความแรงของสัญญาณที่มีความถี่ต่ำ โดยใช้เทมเพลตต่อไปนี้ในการสำหรับการกรองความถี่สูงผ่าน

$$\begin{matrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 4 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{matrix}$$

จะเห็นว่าผลรวมของทุกค่าในเทมเพลตมีค่าเท่ากับศูนย์ ซึ่งหมายความว่า ถ้าวางเทมเพลตนี้ลงบนบริเวณของภาพที่มีค่าความเข้มแสงคงที่ ผลลัพธ์ที่ได้จะมีค่าเป็นศูนย์ อย่างไรก็ตาม ถ้าค่าที่บริเวณตรงกลางแตกต่างกับค่ารอบๆ ผลลัพธ์ที่ได้จะแสดงค่าความแตกต่างยิ่งขึ้น เมื่อนำมาใช้กับการประมวลผลภาพจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการตรวจจับความคล้ายคลึงของตัวภาพเทมเพลตกับภาพที่ต้องการได้

2.2 ความรู้พื้นฐานด้านกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์

กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์ เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้เทคนิคทางแสงบริเวณจุดโฟกัส (focal point) ในการถ่ายภาพเพื่อเพิ่มความละเอียด (resolution) และความคมชัด (contrast) ของภาพถ่าย โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบจุดและรูขนาดเล็กเพื่อกำจัดแสงบริเวณนอกจุดโฟกัส เป็นกล้องที่มีการนำไปใช้ในห้องวิจัยหรือห้องแล็บตามโรงพยาบาลหลักการทำงานของกล้องชนิดนี้ อาศัยแหล่งกำเนิดแสงที่มีพลังงานสูง เช่น แสง UV ส่องผ่านระบบเลนส์เพื่อรวบรวมแสงให้ส่องผ่านไปยังวัตถุหรือตัวอย่าง ซึ่งวัตถุหรือตัวอย่างนั้นต้องมีคุณสมบัติ สามารถเรืองแสงหรือเปล่งแสงได้ เมื่อได้รับพลังงานแสง วัตถุจะดูดกลืนแสงจนพลังงานเต็ม วัตถุจะปลดปล่อยพลังงานออกมาเป็นแสงที่ตาเราสามารถมองเห็นได้ที่เรียกว่า Visible Light เราจึงสามารถมองเห็นวัตถุได้ที่กล้องไมโครสโคปชนิดนี้ตัวอย่างที่เหมาะสมกับกล้องจุลทรรศน์ชนิดนี้ คือ จุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถย้อมสีที่มีปฏิกิริยากับแสง UV แล้วเกิดการเรืองแสงได้ โดยกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์แบบมุมมองกว้างนั้นจะใช้แสงฟลูออเรสเซนส์ความยาวคลื่นหนึ่งส่องไปบนทุกส่วนของชิ้นเนื้อตัวอย่าง และชิ้นเนื้อตัวอย่างนั้นจะสะท้อนแสงฟลูออเรสเซนส์อีกความยาวคลื่นหนึ่งมายังตัวรับแสง (photodetector) ดังนั้นตัวรับแสงจะรับแสงฟลูออเรสเซนส์ที่สะท้อนมาทั้งหมด

2.2.1 Fluorescence Phenomenon

Fluorescence คือ การปล่อยแสงจากสารที่มีการดูดซับรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า แสงหรืออื่นๆ เป็นรูปแบบของการเรืองแสงส่วนใหญ่ แสงที่ปล่อยออกมีความยาวคลื่นยาวขึ้น พลังงานต่ำกว่ารังสีดูดซับ เป็นการเรืองแสงชนิดที่การปลดปล่อยแสงออกมาเกิดขึ้นทันทีทันใดภายในเวลา 10^{-8} วินาที และหยุดทันทีเมื่อเลิกการกระตุ้น ตัวอย่างที่โดดเด่นที่สุดของการเรืองแสง เกิดขึ้นเมื่อรังสีดูดซับในย่านความถี่อัลตราไวโอเล็ตซึ่งมองไม่เห็นด้วยตาของมนุษย์ แต่แสงปล่อยออกมา จะอยู่ในย่านที่ตามนุษย์สามารถมองเห็นได้

โดยสารจะเรืองแสงได้ เมื่ออยู่ในระหว่างการกระตุ้นจากแสงยูวี แต่แตกต่างจาก Phosphorescence สารจะยังคงเรืองแสงต่อไปได้อีกสักพัก แม้จะหยุดจ่ายตัวกระตุ้นแล้ว แต่ Fluorescence จะหยุดเรืองแสงทันทีที่เมื่อปิดแหล่งจ่าย เนื่องจากว่า ไม่ได้เป็นปรากฏการณ์ถาวร สำหรับการเรืองแสงแบบฟลูออเรสเซนส์ เมื่ออิเล็กตรอนได้รับพลังงาน มันจะกระโดดจากสถานะพื้นที่เป็นซิงเกิลตีสเตต (singlet state) ไปสู่ระดับพลังงานที่สูงขึ้นและเป็นซิงเกิลตีสเตตเช่นกันและกลับสู่สถานะพื้นทันที โดยมีการคายพลังงานส่วนเกินในรูปพลังงานแสง กระบวนการทั้งหมดเกิดขึ้นภายในเวลาไม่กี่นาโนวินาที การเรืองแสง (Luminescence) คือการปลดปล่อยแสงออกจากสารหนึ่งโดยการกระตุ้นด้วยแสง ปฏิกิริยาเคมีหรือรังสีไอออไนซ์ (ionizing radiation) เช่น รังสีเอกซ์ , รังสีUV

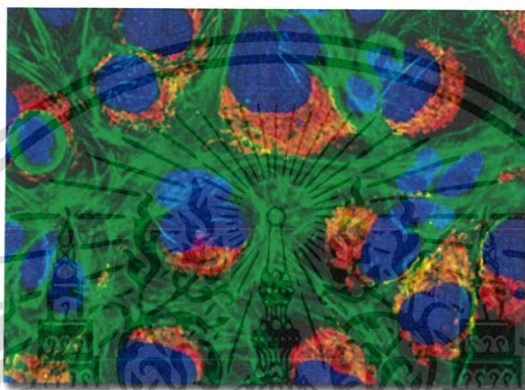
การเรืองแสงมี 2 ชนิด คือ Fluorescence และ Phosphorescence

- ฟลูออเรสเซนส์ (Fluorescence) คือ การเรืองแสงชนิดที่การปลดปล่อยแสงออกมาเกิดขึ้นทันทีทันใดภายในเวลา 10^{-8} วินาที และหยุดทันทีเมื่อเลิกการกระตุ้น
- ฟอสฟอเรสเซนส์ (Phosphorescence) เป็นการเรืองแสงชนิดที่การปลดปล่อยแสงออกมาเกิดขึ้นหลังจากได้รับการกระตุ้นแล้วนานกว่า 10^{-8} วินาที และการเรืองแสงดำเนินต่อไปอีกนานกว่าสัดส่วนของวินาทีเมื่อหยุดการกระตุ้นแล้ว เหตุการณ์นี้เรียกว่า after glow หรือ lag

การเรืองแสงแบบต่างๆนั้นเกิดการที่ตัวสาร นั้นดูดกลืนโฟตอนของแสงเข้าไป แล้วมันไม่สามารถเกิดการขยับตัวไปมาของโครงสร้างได้ เลยทำให้มีความเครียดของโครงสร้างสูง ดังนั้นโมเลกุลของสารกลุ่มนี้จึงต้องปล่อยโฟตอนที่มีพลังงานต่ำกว่าออกมาทันทีทำให้เกิดการเรืองแสงแบบ Fluorescence แต่ถ้าโมเลกุลนั้นไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถที่จะเก็บโฟตอนเข้าหาตัวแล้วคืนเก็บไว้ พลังงานแสงส่วนนี้ก็ไม่สามารถถูกปลดปล่อยออกมาได้ทันที ทำให้มี Time lag หรือ เวลาหน่วงออกมา ทำให้เมื่อมันเข้าสู่ที่มีดแล้วการสะท้อนแสงของมันนั้นยังคงอยู่ในช่วงระยะเวลาหนึ่งปรากฏการณ์นี้ก็เลยทำให้เกิดการเรืองแสงแบบ Phosphorescence

ความแตกต่างของ Phosphorescence และ Fluorescence นั้น นอกจากจะเป็นระยะเวลาการคายโฟตอนออกหลังจากที่ดูดกลืนโฟตอนเข้าไปแล้ว ระดับพลังงานของโฟตอนที่ถูกคายออกมาจากกระบวนการ Phosphorescence นั้นจะมีค่าต่ำกว่าด้วย ดังนั้นเราจึงมักเห็นแสงที่เรืองออกมาจาก Phosphorescence ของแสง UV เป็นสีเหลือง-เขียว ในขณะที่การ Fluorescence ของแสง UV จะเป็นสีน้ำเงิน-ม่วง



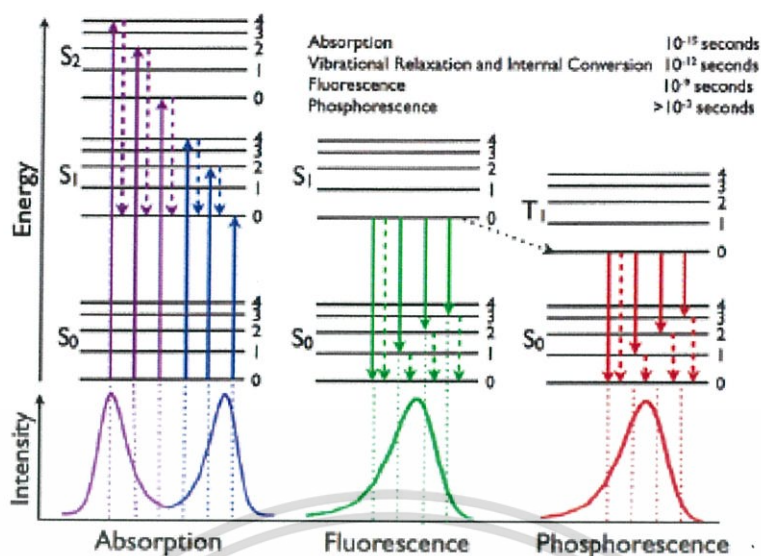
รูปที่ 2.27 ภาพ Bone Osteosarcoma Cells ที่ได้จากการถ่ายด้วยเทคนิค Fluorescence มาซ้อนกัน

จากภาพการใช้เทคนิค fluorescence เพื่อย้อม fibrin clot ใน umbilical vein endothelial cells (HUVEC). โดย Fibrin ย้อมติดสีเขียว, cytoskeleton ติดสีส้ม, Nuclei ติดสีน้ำเงิน ภาพถ่ายโดย Michael W. Davidson

2.2.2 Fluorescence spectroscopy

ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโคปี (fluorescence spectroscopy) เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติของสารโดยการอาศัยการดูดกลืนรังสียูวีที่ส่งผลให้โมเลกุลถูกกระตุ้นและมีการสั่นภายในโมเลกุลจากระดับชั้นพลังงานสถานะพื้น (ground state) ไปสู่ระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น (excited state) เรียกว่าการดูดพลังงาน (excite energy) โมเลกุลที่มีการเคลื่อนที่ไปอยู่ในระดับของชั้นพลังงานที่สูงจะไม่มีเสถียร จึงมีการปลดปล่อยพลังงานและตกลงมาในชั้นระดับพลังงานที่ต่ำกว่า พลังงานที่โมเลกุลปลดปล่อยจากระดับชั้นพลังงานกระตุ้นชั้นที่หนึ่งสู่ระดับชั้นพลังงานสถานะพื้นจะทำให้เกิดการคายโฟตอน (emission of photon) ทำให้เกิดสเปกตรัมในช่วงฟลูออเรสเซนซ์ ณ ค่าพลังงานที่กระตุ้นที่จำเพาะของสารแต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.28 แสดงลักษณะการเกิดการปลดปล่อยแสงแต่ละชนิด

2.2.3 Fluorescence microscope

กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์ เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้เทคนิคทางแสงบริเวณจุดโฟกัส (focal point) ในการถ่ายภาพเพื่อเพิ่มความละเอียด (resolution) และความคมชัด (contrast) ของภาพถ่าย โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบจุดและรูขนาดเล็กเพื่อกำจัดแสงบริเวณนอกจุดโฟกัส เป็นกล้องที่มีการนำไปใช้ในห้องวิจัยหรือห้องแล็บตามโรงพยาบาล ที่สามารถคัดกรองแสงที่ผ่านเข้ามาได้ โดยใช้ฟิลเตอร์ บางชนิดอาศัยการย้อมสาร ด้วยสารย้อมที่สามารถเกิดปรากฏการณ์เรืองแสงได้ เมื่อมีลำแสงความยาวคลื่นต่างๆมากระตุ้น Specimen ที่ได้รับการย้อมแล้ว จะเกิดการเรืองแสง และเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นสูงกว่าออกมา กล้องจุลทรรศน์จะตรวจจับการเปล่งแสงนั้น ข้อดีคือให้ภาพที่มีความชัดเงนมากกว่าปกติ และยังมีเฉพาะต่อการตรวจจับ เพราะสีย้อมที่ใช้ ต้องมีความจำเพาะต่อสิ่งที่ต้องการจะตรวจเช่นกัน

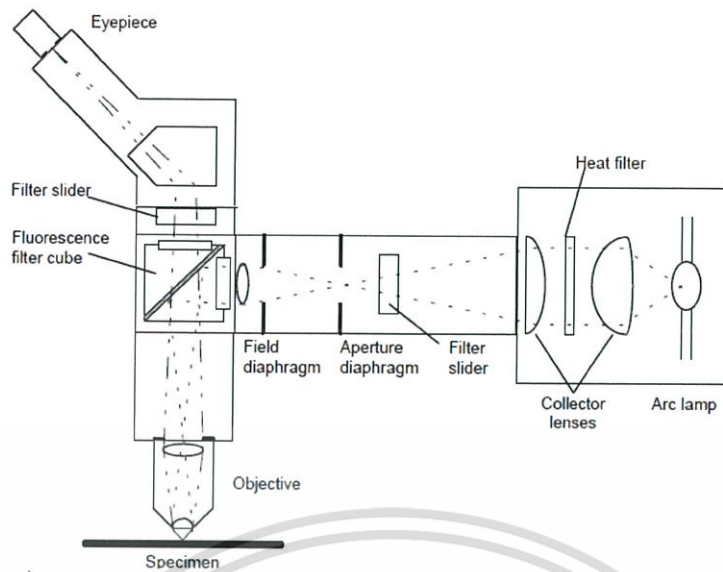
สิ่งที่เรืองแสงซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ด้วยกล้องชนิดนี้มี 2 ชนิด

1 natural fluorescence (autofluorescence) เป็นสารที่เรืองแสงเองได้ เช่น vitamin A, thiamine, riboflavin, some neurotransmitters และส่วนประกอบของเซลล์บางชนิด เช่น mitochondria, lipofuscin.

2 secondary fluorescence เป็นสารที่เรืองแสงเองไม่ได้ แต่ถูกเคลือบหรือย้อมด้วยสีเรืองแสง เรียก fluorochromes เช่นการศึกษา antigens หรือ antibodies ใน immunological staining.

ส่วนประกอบหลักๆของกล้องคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

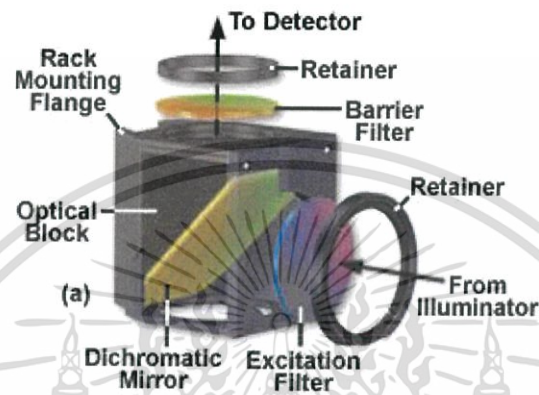


รูปที่ 2.29 องค์ประกอบหลักๆของกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์

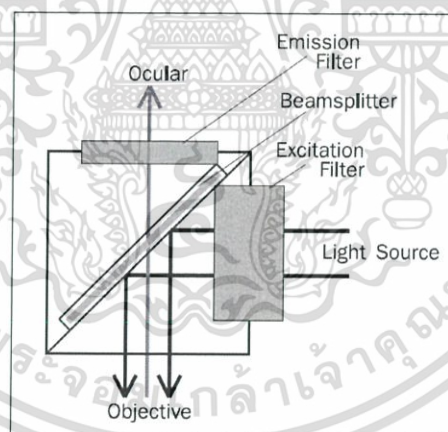
1. ฐาน (Base หรือ Foot) เป็นส่วนที่วางบนโต๊ะ รูปร่างต่าง ๆ กันไปขึ้นอยู่กับแบบของกล้อง
2. ลำตัว (Body) มีลักษณะโค้งสำหรับมือจับเวลายกกล้อง ตรงส่วนต่อกับฐานมีล้อหมุนใหญ่ (coarse adjustment) และล้อหมุนเล็ก (fine adjustment) ทำหน้าที่ปรับระยะภาพ
3. ลำกล้อง (Body tube) มีส่วนต่อจากลำตัว ส่วนบนสำหรับสวมเลนส์ตา (eye-piece or ocular) ส่วนล่างมี แผ่นโลหะกลมสองชั้นชั้นหนึ่งติดแน่นอยู่กับลำกล้องอีกชั้นหนึ่งหมุนเคลื่อนที่ได้ (nosepiece) มีเลนส์วัตถุ (objective lens) ซึ่งมีกำลังขยายต่าง ๆ ติดอยู่
4. เลนส์ตา (Eye-piece หรือ Ocular) มี 1 คู่ สามารถเลื่อนปรับให้พอดีกับระยะห่างของช่วงตา ของผู้ศึกษา ได้และมีวงแหวนหมุนปรับภาพ (focusing eyepiece) ติดอยู่ เลนส์ตาแต่ละข้างประกอบด้วยเลนส์นูน 2 อัน
5. เลนส์วัตถุ (Objective lens) ประกอบด้วยเลนส์ตั้งแต่ 2 อันขึ้นไปยิ่งกำลังขยายมาก จำนวนเลนส์จะเพิ่มมากขึ้นไปด้วย
6. แท่นวางวัตถุ (Stage) เป็นแผ่นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ตรงกลางมีช่องกลมให้แสงผ่านเข้าเลนส์วัตถุ ด้านในติดลำตัวกล้อง มีตัวจับสไลด์ (Stage clip) ซึ่งมีล้อหมุน (adjustment for mechanical stage clip) เพื่อเลื่อนสไลด์ขึ้นลง และขยับขวาเพื่อความสะดวกในการเลื่อนตรวจสอบสไลด์ที่ศึกษา
7. เลนส์รวมแสง (Substage Condenser) อยู่ใต้แท่นวางวัตถุ ทำหน้าที่รวมแสงให้สว่างมากที่สุดและมีปุ่ม ปรับความเข้มของแสง (Iris diaphragm)
8. ที่กรองแสง (Filter tray) เป็นวงโลหะอยู่ใต้เลนส์รวมแสงเลื่อนหมุนออกในแนวระนาบได้ เพื่อเปลี่ยนใส่แผ่นกระจก หรือแผ่นโพลาไรซ์ต่าง ๆ ได้ตามความต้องการ โดยในกล้องชนิดนี้จะมีฟิลเตอร์บล็อกแสงเพื่อให้เห็นผลตามช่วงที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. กระจกเงา (Mirror) ติดอยู่กับส่วนฐานของกล้องด้านหนึ่งไว้และด้านหนึ่งราบ หมุนได้ รอบตัวทำหน้าที่สะท้อนแสง จากแหล่งแสงต่าง ๆ ผ่านเข้าสู่เลนส์รวมแสงด้านไว้จะรับแสงสะท้อนได้ มากกว่าด้านราบ ในกรณีที่มิใช่แบบส่องผ่านจะต้องมี Dichroic mirror ในการบังคับทิศทางแสง ระหว่าง Excitation Light และ Emission Light ให้แยกออกจากกัน ในแนวตั้งฉาก



รูปที่ 2.30 คอนเซ็ปต์ของกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนส์ที่ใช้ Dichroic Mirror



รูปที่ 2.31 หลักการทำงานร่วมกับการใช้ filter

2.2.4 Mechanical Design

แท่นวางมีเพื่อที่สไลด์หรือวัตถุที่จะสังเกตวางอยู่ จะเรียกว่า Stage ซึ่งต้องมีความเรียบพื้นผิวที่แบน และสามารถเป็นสี่เหลี่ยมหรือวงกลม ในส่วนกล้องจุลทรรศน์ตัวใหญ่ หรือ Compound Microscope นั้น Stage เคลื่อนขึ้นและลงได้ Stage มีการเปิดสำหรับให้แสงผ่าน ชนิดที่เรียบง่ายของ Stage คือ Plain Stage และแบบที่ซับซ้อนมากขึ้นเรียกว่าเป็น Mechanical Stage ซึ่งยังมีความซับซ้อนมากขึ้นและแพงขึ้น ก็ยังทำให้ การขยับตัว Specimen นั้น สามารถทำได้ง่ายขึ้นซึ่งขนาดของ Specimen สากลคือ 1 นิ้ว x 3 นิ้ว ที่มีการเอ็กสตรีนเป็นเอกสารถ่วงน้ำหนักไว้กับการเขยื้อนเพื่อทำการเอ็กสตรีน เมื่อผู้ดูที่เห็น เอ็กสตรีนเอ็กสตรีนการค้ำ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลื่อนไหวได้อย่างแม่นยำในสองแกนด้วยลูกบิดซึ่งเป็นสิ่งสำคัญของการปรับกำลังขยายที่มีอำนาจสูง (400x หรือมากกว่า) ตัวขยับหยاب อาจจะทำให้หลุดจากขอบข่าย Field of view ได้ง่าย ๆ จึงต้องมีตัวปรับสไลด์แบบละเอียดด้วย ซึ่งเรียกว่าเป็นชนิดตัวปรับแบบ Vernier Scale โดยการปรับแต่ละแกนจะหมายถึง; X แกนย้ายสไลด์ไปข้างหน้าและด้านหลัง (เหนือ / ภาคใต้) ; "Y" แกนย้ายสไลด์ด้านข้าง (ตะวันออก / ตะวันตกหรือทางซ้าย / ขวา) รวมไปถึงแกน Z ทิศขึ้นและลง



รูปที่ 2.32 การออกแบบกลไกการปรับระยะ

Magnification (power) ขยายของกล้องจุลทรรศน์จะถูกกำหนดโดยการคูณอัตราขยายของช่องมองภาพโดยอัตราขยายของเลนส์ใกล้วัตถุที่ใช้ เป็นตัวอย่างที่ 40x วัตถุประสงค์ครึ่งเลนส์ 10x ช่องมองภาพ = 400X วิธีการดูที่นี้ก็คือว่าการขยายคือจำนวนครึ่งภาพที่มีขนาดใหญ่กว่าวัตถุที่จะปรากฏลำพัง (เปลือย) ตา อัตราการขยายล่างอนุญาตให้สว่างภาพที่คมชัดรวมกับทุ่งกว้างของมมมอง อัตราการขยายสูงมักจะตรวจสอบตัวอย่างสไลด์ปัจจุบันรูปภาพขนาดใหญ่ที่สุด แต่หรีกับสนามแคบของมมมอง เมื่อสังเกตมักจะเริ่มต้นด้วยการใช้พลังงานต่ำสุดในกล้องจุลทรรศน์ของคุณและความคืบหน้าในอำนาจสูง พลังสูงจะไร้ประโยชน์เว้นแต่ต้องการความละเอียด เมื่อขยายจะเพิ่มขึ้น แต่รายละเอียดจะไม่เพิ่มขึ้น (เนื่องจากข้อจำกัดของความละเอียด) มันถูกเรียกว่า "การขยายว่างเปล่า" สำหรับการขยายกำหนดมักจะใช้วัตถุประสงค์กำลังขยายสูงขึ้นเมื่อได้รับเลือกมากกว่าการใช้วัตถุประสงค์พลังงานที่ต่ำกว่าด้วยช่องมองภาพพลังงานสูงเป็นผลเสมอจะดีขึ้น Field of View ความกว้างของมมมอง คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลม ของแสง ที่เห็นได้เมื่อมองเข้าไปใน กล้องจุลทรรศน์ มีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร กำลังต่ำสุด มีให้ภาพที่กว้างที่สุดของ ในขณะที่เพิ่มกำลังขยาย ความกว้างของมมมองนั้นก็จะเล็กลงไปด้วย มุมกว้าง หรือ eyepieces มุมกว้างสุด จะเพิ่มมมมองมากกว่า eyepieces มาตรฐาน

Depth of Focus หมายถึงระยะที่ใกล้ ถึงไกลที่สุดของจุดแต่ละจุดในกล้องที่ยังสามารถโฟกัสให้ภาพชัดได้อยู่ DOF จะยิ่งลึกมากขึ้นเมื่อมีกำลังขยายสูงขึ้น

Prepared Slides –ปกติจะมีขนาดอยู่ที่ 1x3 นิ้ว สไลด์ที่เตรียมไว้แล้วนี้ มีไว้สำหรับผู้ที่ไม่ต้องการเตรียมสไลด์เอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 ตัวกรอง



รูปที่ 2.33 Filter set ที่ใช้ในกล้องจุลทรรศน์

ประเภท ของตัวกรอง ที่ใช้ใน กล้องจุลทรรศน์เรืองแสง คือองค์ประกอบ หลักในการออกแบบ กล้องจุลทรรศน์ epifluorescence ประกอบด้วยชุดของ ฟิลเตอร์สามสี จัดวางอยู่ในกล่อง ซึ่งจะมีฟิลเตอร์ สำหรับแสงกระตุ้น, แสงที่ปลดปล่อย และ beamsplitter dichroic ชุดกล่องกรองแสงโดยทั่วไปนั้นจะประกอบด้วย ชนิดฟิลเตอร์ที่สำคัญคือ

1) ฟิลเตอร์สำหรับกรองแสงที่ใช้ในการกระตุ้นสารทดลอง(Excitation Filter or Excitor) ซึ่งจะกรองแสงในย่านความยาวคลื่นที่ตัวย้อมในสารทดลองสามารถตอบสนองได้เท่านั้น ซึ่งจะจำกัดเพียงความยาวคลื่นที่มีประสิทธิภาพจริงๆ ทัวไปแล้ว ชุดตัวกรองแสง จะตั้งชื่อตามประเภทของตัวกรองกระตุ้น : UV หรือ U รังสีอัลตราไวโอเลตจะเป็นตัวกระตุ้น สำหรับสีย้อม เช่น DAPI และ Hoechst 33342 B แสงสีน้ำเงินจะใช้สำหรับกระตุ้นสีย้อม FITC และ relateted G ส่วนแสงสีเขียวจะใช้กระตุ้น TRITC หรือ เท็กซัส Red® ฯลฯ แม้ว่าในอดีตที่ผ่านมามักจะออกแบบตัวกรองให้เป็นแบบShortpass แต่ปัจจุบัน Bandpass กลับเป็นที่นิยมมากกว่า

2) ตัวกรองของแสงปลดปล่อย (Barrier Filter หรือ Emitter) เป็นตัวลดทอนแสงเกือบทั้งหมดของแสงที่ส่งมาจากตัวกรองแสงกระตุ้น และมีประสิทธิภาพมากในการส่งแสง Fluorescence ใด ๆ ที่ ปลดปล่อยออกมาจากสารทดลอง โดยแสงนี้มักจะมีมีความยาวคลื่นที่ยาวขึ้นกว่าแสงกระตุ้นอยู่เสมอ ในส่วนนี้ สามารถเป็นได้ทั้ง Band PassFilter และ Longpass Filter โดยปกติแล้ว ตัวกรองชนิดนี้จะมีสีฟ้า หรือ สีเหลืองอ่อน ใน U-Block; สีเขียวหรือเหลืองเข้มใน B-Block และสีส้ม หรือสีแดง ใน G-Block

3) beamsplitter dichroic (dichroic mirror หรือ dichromatic beamsplitter) เป็นกระจกชิ้นบางๆที่ถูกเคลือบ ตั้งอยู่ที่มุม 45 องศา ไปยังเส้นทางแสงของกล้องจุลทรรศน์ สารเคลือบนี้มีคุณสมบัติพิเศษ ที่สามารถสะท้อนแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่งออกไป(Excitor) และยอมให้อีกความยาวหนึ่งส่องผ่านออกมา(Emitter) ปัจจุบัน beamsplitters dichroic มีประสิทธิภาพที่สูงมากยิ่งขึ้น นั่นคือสามารถสะท้อนแสง Excitor ได้มากกว่า 90 % และรวมถึงการคัดกรองให้แสงปลดปล่อย ส่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านได้ประมาณ 90% เป็นการพัฒนาที่สำคัญมากเมื่อเทียบกับกระจก gray half-silvered รุ่นเก่าๆ ที่สามารถสะท้อน และปลดปล่อยแสงได้เพียงชนิดละ 50% เท่านั้น หรือเทียบได้ว่ามีประสิทธิภาพเพียง 25% เท่านั้น

ฟิลเตอร์ ที่ใช้สำหรับ เทคนิคอื่นๆ นอกเหนือจาก Fluorescence เช่น ฟิลเตอร์สีสำหรับกล้องจุลทรรศน์ ที่ส่งแสงผ่าน และตัวกรองแบบโพลาไรซ์เชิงเส้นใช้สำหรับ กล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรซ์ โดยจะวางตั้งอยู่ในกล่อง Filter หรือลือ Filter ซึ่งอยู่ระหว่าง collector และ aperture diaphragm โดยมีหน้าที่ควบคุมความเข้มแสง

Fluorescence Spectra คือตัวแปรที่สำคัญที่สุด สำหรับการออกแบบชุดตัวกรองแสง ลักษณะสเปกตรัมของสีย้อมที่มี การกระตุ้นและการปล่อยสเปกตรัม หากพิจารณาแค่เพียงตัวแปรเดียว ตัวกรองแสงของการกระตุ้นควรใช้ Shortpass ที่สามารถส่งแสงทั้งหมดของสเปกตรัมกระตุ้นได้ และแสงที่ใช้เปล่งออกมาจากสารทดลอง หรือแสง Fluorescence นั้น ควรใช้ฟิลเตอร์ตัวกรองแบบ longpass ที่สามารถส่งแสงคลื่นความถี่ที่ย่าน Emission ทั้งหมด

2.3 ฟิลเตอร์ (Filter)

ฟิลเตอร์หรือแว่นกรองแสง คือวัตถุบางโปร่งใสที่ใช้ครอบหน้าเลนส์ มีคุณสมบัติที่ไม่ยอมให้สีบางสีของแสงผ่านไปตกถึงฟิล์มและขณะเดียวกันก็ดูดกลืนสี หรือตัดแสงสีบางอย่างไม่ให้ตกถึงฟิล์มได้นั้นคือคุณสมบัติในการตัดแสง ลดแสงและกรองสีต่าง ๆ ของแสงสว่างซึ่งส่วนใหญ่เป็นแสงแดด โดยการกรองเอาสีต่าง ๆ ใว้ ยกเว้นเฉพาะสีของแว่นกรองนั้นจะเข้าไปถูกฟิล์มถ่ายภาพในกล้องมากกว่าสีอื่น ๆ ทั้งหมดเพื่อให้เกิดผลพิเศษตามที่ต้องการ เช่น เมื่อเราเห็นวัตถุสีแดงนั้นคือผิวหน้าของวัตถุจะดูดกลืนแสงอีก 2 สี คือ สีเขียว และสีน้ำเงินแต่จะมีสีแดงเท่านั้นที่จะสะท้อนออกมาสู่สายตาของคนเรา ถ้าหากวัตถุที่มีสีดำนั้น หมายความว่าผิวหน้าของวัตถุนั้นได้ดูดกลืนแสงสีทั้งหมดเอาไว้ดังนั้นถ้าปราศจากสีสะท้อนเมื่อใดวัตถุนั้น ๆ จะเป็นสีดำทันที วัตถุสีขาวจะดูดกลืนแสงสีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น หากแต่จะสะท้อนสีสู่สายตาของเราทั้งสามสีอื่นมี สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ซึ่งทำให้เกิดเป็นสีขาวขึ้นมา

ฟิลเตอร์อื่นๆที่มีคุณลักษณะพิเศษคือ ยอมให้สีของแสงผ่านเฉพาะสีเดียวกันกับสีของฟิลเตอร์เท่านั้น ขณะเดียวกันจะดูดกลืนสีอื่นๆ ที่เหลือ ตัวอย่างเช่น ฟิลเตอร์สีแดงจะยอมให้สีแดงผ่านไปตกที่ฟิล์ม แต่จะดูดกลืนสีฟ้า (สีน้ำเงิน + สีเขียว) ฟิลเตอร์สีเขียวจะยอมให้แสงสีเขียวผ่านและดูดกลืนสีม่วง (สีแดง + สีน้ำเงิน) และฟิลเตอร์สีน้ำเงินยอมให้สีน้ำเงินผ่านและดูดกลืนสีเหลือง (สีแดง + สีเขียว) ดังนั้นฟิลเตอร์สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงินเรียกว่า ฟิลเตอร์พื้นฐาน (Primary Filters)

แต่การถ่ายภาพนั้นขอบของฟิลเตอร์บางชนิดเป็นขอบเกลียว ใช้ครอบหน้าเลนส์หรือต่อเข้ากับตัวปรับยึด (Adapter) บางชนิดก็เป็นเขี้ยวหมุนเข้าร่องเขี้ยวที่ขอบหน้าเลนส์แว่นกรองแสงมีทั้งชนิดวงกลมครอบหน้าเลนส์ และแบบแผ่นยึดติดหน้าเลนส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ชนิดของฟิลเตอร์

ในปัจจุบันฟิลเตอร์ถูกออกแบบขึ้นมาเพื่ออำนวยความสะดวกในการใช้งานที่หลากหลายและสนองต่อความต้องการของนักถ่ายภาพ เราสามารถแบ่งฟิลเตอร์ออกได้เป็น 2 ชนิด

1. ฟิลเตอร์แบบวงแหวน
2. ฟิลเตอร์แบบแผ่น

1. ฟิลเตอร์แบบวงแหวน



รูปที่ 2.34 ฟิลเตอร์แบบวงแหวน

ฟิลเตอร์ชนิดนี้ออกแบบมาให้สามารถใช้งานร่วมกับเลนส์ถ่ายภาพแต่ละชนิด โดยการสวมไว้ด้านหน้าเลนส์ขณะใช้งานและเป็นที่ยอมรับใช้กันทั่วไป แต่การเลือกใช้งานจำเป็นจะต้องเลือกใช้ให้สามารถเข้าได้กับขนาดของเลนส์ถ่ายภาพด้วย เช่น ขนาด 52 มม., 55 มม., 58 มม. เป็นต้น

2. ฟิลเตอร์แบบแผ่น



รูปที่ 2.35 ฟิลเตอร์แบบแผ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟิลเตอร์แบบแผ่นชนิดนี้มีลักษณะเป็นแผ่นสีเหลืองผืนผ้าหรือสีเหลืองมัจจุรัสขนาดเล็ก เวลาใช้งานจะต้องใช้ควบคู่กับอุปกรณ์ที่ออกแบบมาเฉพาะ ฟิลเตอร์ชนิดนี้มีความสะดวกในการใช้งานและสามารถใช้งานร่วมกันหลายๆแผ่นได้ แต่ในการใช้งานต้องมีความระมัดระวังเป็นพิเศษเพราะอาจเกิดรอยขีดข่วนได้ง่ายและราคาสูงกว่าแบบวงแหวน

หากแบ่งชนิดของฟิลเตอร์ตามจุดมุ่งหมายที่ใช้ และสัมพันธ์กับฟิล์มแล้วแบ่ง ได้ ดังนี้

1. ฟิลเตอร์ที่ใช้ได้ทั้งกับฟิล์มสี และฟิล์มขาวดำ
2. ฟิลเตอร์ที่ใช้กับฟิล์มขาว-ดำ
3. ฟิลเตอร์ที่ใช้กับฟิล์มสี

2.3.1.1. ฟิลเตอร์ที่ใช้ได้ทั้งฟิล์มสีและฟิล์มขาวดำ มีดังนี้ คือ

2.3.1.1.1 ฟิลเตอร์ลดแสงหรือทอนแสง (Neutral Density Filters)

มีเนื้อแก้วเป็นสีเทา ที่คุณสมบัติในการลดแสงสว่างที่จะผ่านเข้าเลนส์ไปยังฟิล์ม เนื่องจากไม่ทำให้สี และระดับความเข้มของสีในภาพเปลี่ยน แวนนี้จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ กับทั้งฟิล์มขาวดำและฟิล์มสี นอกจากนั้นสามารถดูกลืนแสงอุลตราไวโอเลตได้โดยไม่ต้องใช้ฟิลเตอร์ ยูวีหรือ ฟิลเตอร์ตัดหมอกควัน ในขณะที่ใช้ฟิลเตอร์ชนิดนี้ การใช้ฟิลเตอร์ลดแสง (ND) นี้ต้องมีการเปิดรูรับแสงเพิ่ม ตามความเข้มของฟิลเตอร์ที่บอกออกมาเป็นตัวเลข (ดังตารางที่นิยมใช้มีหมายเลข 0.30, 0.60 และ 0.90 การใช้ฟิลเตอร์ชนิดนี้ หลาย ๆ ตัว ซ้อนกันก็ย่อมทำได้เราสามารถใส่ฟิลเตอร์ชนิดนี้แทน ฟิลเตอร์โพลารไรส์ได้เพราะมีค่าเท่ากับหมายเลข 0.40

2.3.1.1.2 ฟิลเตอร์โพลารไรส์ (Polarizing Filters)

มีลักษณะเป็นกระจกสีเทาเข้มสองแผ่นซ้อนกัน มีคุณสมบัติในการดูกลืนแสง ตัดเงาหรือแสงสะท้อนที่เป็นแสงโพลารไรส์ออกไปได้ เมื่อหมุนปรับมุมของกระจกฟิลเตอร์ได้ถูกต้องทำให้ได้ภาพที่สวยงามและยังช่วยให้ภาพท้องฟ้ามีสีเข้มสดใสขึ้น

แสงโพลารไรส์ คือคลื่นแสงที่สะท้อนจากสิ่งที่มีผิวหน้าเรียบมัน เช่นกระจกผิวน้ำแต่ไม่ใช่โลหะที่มีลักษณะมันวาว ซึ่งคลื่นนี้เป็นคลื่นแสงทิศทางเดียวที่สะท้อนจากวัตถุดังกล่าว ในความเป็นจริงแล้ว แสงมีลักษณะเป็นเส้นตรง และมีคลื่นสั้นสะท้อน ขวางเป็นมุมฉากรอบทิศทาง แต่จะถูกดูกลืนจากวัตถุเมื่อไปกระทบวัตถุให้เหลือเพียงทิศทางเดียว เรียกว่าแสงโพลารไรส์ (Polarized Light) ฟิลเตอร์ชนิดนี้ส่วนมากมีหมายเลข ในการเปิดรูรับแสงเพิ่ม (Factor) เท่ากับ 2.5 นั่นหมายความว่า ต้องเปิดรูรับแสงเพิ่มให้อีก $1 \frac{1}{3}$ เอฟสต่อ

2.3.1.2. ฟิลเตอร์ที่ใช้กับฟิล์มขาว-ดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.2.1 ฟิลเตอร์แก้ไข (Correction Filters)

หรือเรียกว่าฟิลเตอร์แก้ค่าโทนสีให้ถูกต้อง ซึ่งจะแก้โทนสีที่ปรากฏในภาพเป็นสีขาวเทา และดำ ให้มีน้ำหนักอ่อน หรือให้ใกล้เคียงกับสีธรรมชาติตามที่สายตามองเห็นปกติ ฟิล์มขาวดำที่นิยมใช้ โดยเฉพาะฟิล์มแพนโครเมติก (Panchromatic) มีความไวต่อแสงอุลตราไวโอเลต และสีน้ำเงิน เมื่อถ่ายภาพได้สภาพแสงอาทิตย์ที่มีแสงดังกล่าวอยู่ด้วย จะทำให้ฟิล์มบันทึกแสงสีม่วงของแสงอุลตราไวโอเลต และแสงสีน้ำเงินไว้มากกว่าปกติ ทำให้เนื้อฟิล์มมีความหนาเข้ม เวลาอัดขยายภาพส่วนนั้น ๆ จะมีความขาวทำให้ค่าของโทนสีผิดไปจากธรรมชาติ ดังนั้นสามารถแก้ไขได้โดยใช้ฟิลเตอร์สีเหลือง จะได้โทนสีเหมือนจริง

อย่างไรก็ตามฟิลเตอร์แต่ละชนิดมีแฟลคเตอร์ และการเปิดรับแสงต่างกัน ในการถ่ายภาพ ขาว-ดำ

2.3.1.2.2 ฟิลเตอร์สีตัดกัน (Contrast Filters)

หรือเรียกว่า ฟิลเตอร์เพิ่มค่าโทนสีให้ตัดกัน เป็นฟิลเตอร์ใช้เพื่อให้ภาพถ่าย มีสีตัดกันหรือแตกต่างกัน นั่นคือมีสีเข้มและสีอ่อน เพราะในบางครั้งเราต้องการผลภาพเป็นพิเศษ เช่น ถ้าต้องการภาพดอกไม้สีแดงในพุ่มไม้สีเขียว มีความเข้มแตกต่างกัน ควรใช้ฟิลเตอร์สีแดงจะได้ภาพดอกไม้มีสีสว่างขาวขึ้นตัดกับใบไม้จะมีสีเทาเข้ม หรือถ้าสวมฟิลเตอร์สีเขียวดอกไม้จะมีสีเทาเข้ม แต่ใบไม้จะมีสีสว่างขาวขึ้นถ้าไม่ใส่ฟิลเตอร์ ภาพที่ได้จะมีสีเทาเดียว ไม่สามารถแยกออกว่าตรงไหนเป็นดอกตรงไหนเป็นใบ ในการถ่ายภาพทิวทัศน์ก็เช่นเดียวกัน ถ้าต้องการให้สีของท้องฟ้าเข้มเข้มมีสีขาวเด่น ๆ ควรใส่ฟิลเตอร์สีเหลือง จะทำให้สีท้องฟ้าเข้มขึ้น เข้มขาวเด่นขึ้นมาเป็นต้น ฟิลเตอร์ สีตัดกันที่ควรนำมาใช้กับฟิล์ม ขาว-ดำ มีดังนี้ คือ

1. ฟิลเตอร์สีเหลือง เหมาะสำหรับบันทึกภาพให้ สีนํ้าทะเลเข้มขึ้น มีทั้งสีเหลืองอ่อนและเหลืองแก่
2. ฟิลเตอร์สีส้มเหมาะสำหรับถ่ายภาพพระยะไกล ช่วยตัดหมอก หรือไอนํ้า ในอากาศได้มากและช่วยเพิ่มสีตัดกันของวัตถุให้สูงขึ้นเหมาะแก่การถ่ายภาพสีน้ำเงินมีสีคล้ำมืด ถ้าใช้สีส้มร่วมกับฟิล์มอินฟราเรด (Infared)
3. ฟิลเตอร์สีเขียวเหลือง ใช้ถ่ายภาพให้สีน้ำเงินมีสีดําคลํ้า เพิ่มสีตัดกันสูงขึ้น
4. ฟิลเตอร์สีเขียว เหมาะสำหรับถ่ายภาพกลางแจ้ง และภาพทวนแสงดวงอาทิตย์ ทำให้ภาพดูเป็นธรรมชาติยิ่งขึ้น
5. ฟิลเตอร์สีแดง เหมาะสำหรับใช้กับฟิล์มแพนโครเมติกและฟิล์มอินฟราเรดเท่านั้น ใช้กับฟิล์มออร์โธโครเมติกไม่ได้ใช้กับการถ่ายภาพไกล ๆ ให้มีสีกระจ่างขึ้น ภาพตัวหนังสือและลวดลายของเนื้อไม้และยังเหมาะในการถ่ายภาพโลหะที่เป็นมันวาวด้วย
6. ฟิลเตอร์สีน้ำเงินใช้กับฟิล์มขาวดำ จะเปลี่ยนเยื่อไวแสงให้ฟิล์มบอดสี เหมาะสำหรับถ่ายภาพด้วยแสงไฟฟ้า เพื่อแยกสีเหลืองกับสีแดงออกจากกันถ้าถ่ายภาพด้วยแสงแดดจะมองเห็นหมอกหรือไอนํ้าในอากาศ ปรากฏในการถ่ายภาพมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.36 ฟิลเตอร์สี

2.3.1.3. ฟิลเตอร์ที่ใช้กับฟิล์มสี มีดังนี้ คือ

2.3.1.3.1 ฟิลเตอร์สำหรับแก้สีฟิล์มให้ถูกต้อง (Conversion Filters)

โดยทั่วไปฟิล์มสีมีความสมดุลกับอุณหภูมิสีของแสงเฉพาะของฟิล์มแต่ละชนิด เช่น สมดุลย์กับแสงแดดที่มีอุณหภูมิประมาณ 5500 องศาเคลวิน เรียกว่า ฟิล์มถ่ายกลางวัน (Daylight Film) สมดุลย์กับแสงประดิษฐ์ เช่น หลอดไฟฟลูออโรของมืออาชีพที่ถ่ายตามร้านถ่ายภาพมีอุณหภูมิ 3200 องศาเคลวิน เรียกว่า ฟิล์มทังสแตน(Tungsten Type A) และไฟฟลูออโรของมือสมัครเล่นมีอุณหภูมิ 3400 องศาเคลวินเรียกว่าฟิล์มทังสแตน (Tungsten Type B) เป็นต้น การใช้ฟิล์มต้องคำนึงถึงอุณหภูมิสีของแสงดังกล่าวถ้าไม่สมดุลย์กันจะเกิดการผิดเพี้ยนของสี ดังนั้นจึงมีฟิลเตอร์ หรือแว่นกรองแสงเข้าช่วยแก้สีฟิล์มให้ถูกต้องกับแสงดังกล่าวแล้ว ฟิลเตอร์ชนิดนี้มีทั้งหมดประมาณ 18 ชุด หมายเลข 80 (ฟ้าแก่) และ 85 (ส้มแก่)สำหรับแก้ความผิดของอุณหภูมิมาก ๆ และชุดหมายเลข 82 (ฟ้าอ่อน) กับ 81 (เหลืองจาง) สำหรับแก้ความผิดของอุณหภูมิน้อย ๆ แต่โดยปกติที่นิยมใช้มาก คือ หมายเลข 85 บี และ 80 เอ เท่านั้น

2.3.1.3.2 ฟิลเตอร์ชดเชยสี (Color Compensating Filters)

เรียกอีกอย่างว่า CC ใช้ เพื่อเพิ่มสีของภาพให้ถูกต้อง ใช้มากสำหรับการอัดรูปสีในการถ่ายภาพก็นำมาใช้เพื่อแก้สีของแหล่งแสงให้ถูกต้อง เช่น แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นต้น ฟิลเตอร์ชนิดนี้จะบอกเป็นสัญลักษณ์และตัวเลข เช่น CC 20R หมายถึงฟิลเตอร์ชดเชยสี (Color Compensating) มีความหนาแน่นร้อยละ 30 นั่นคือสามารถกันแสงอื่น ๆ ได้ ในที่มีฟิลเตอร์สีแดง (Red) จะกันแสงสีน้ำเงินและเขียวได้ร้อยละ 30 ฟิลเตอร์ชดเชยสีนั้นมีคุณสมบัติในการกันสีอื่น ๆ นอกเหนือจากสีของฟิลเตอร์เอง ไม่ว่าจะเป็สีแบบสีพื้นฐาน (Primary Color) หรือสีรอง(Secondary Color) ก็ตาม อย่างไรก็ตามสามารถจัดจำได้ง่าย ๆ ดังนี้ คือ

1. ฟิลเตอร์สีแดง กัน สีนํ้าเงินและสีเขียว
2. ฟิลเตอร์สีนํ้าเงิน กัน สีแดงและสีเขียว
3. ฟิลเตอร์สีเขียว กัน สีแดงและสีนํ้าเงิน
4. ฟิลเตอร์สีฟ้า กัน สีแดง
5. ฟิลเตอร์สีม่วง กัน สีเขียว
6. และฟิลเตอร์เหลือง กัน สีนํ้าเงิน

2.3.2 ฟิลเตอร์ที่ใช้ในการถ่ายภาพ

ฟิลเตอร์ในปัจจุบันมีมากมายหลายชนิด แต่สำหรับการถ่ายภาพขาวดำนั้น ประกอบด้วยฟิลเตอร์สีเหลือง สีเขียว สีแดง สีส้ม สีฟ้าและสีนํ้าเงิน โดยฟิลเตอร์สีจะใช้หลักการดูดกลืนแสงสีที่ตรงข้ามกับฟิลเตอร์ที่สวมไว้และปล่อยให้แสงสีเดียวกันกับฟิลเตอร์ผ่านไปบันทึกลงบนฟิล์ม ซึ่งจะให้ผลในลักษณะที่แปลกตาและสวยงามขึ้น ผลของภาพที่ปรากฏในการใช้ฟิลเตอร์สีกับการถ่ายภาพขาวดำจะเห็นได้ชัดเจนว่าเมื่อเราใช้ฟิลเตอร์สีแตกต่างกันจะมีผลของภาพแตกต่างกันอย่างมาก เพื่อให้ง่ายต่อความเข้าใจ ผู้ศึกษาอาจใช้วิธีต่อไปนี้ เป็นแนวทางในการเลือกใช้ฟิลเตอร์ก็ได้ กล่าวคือ ถ้าต้องการจะให้สีใดในภาพมีสีจางลงหรือขาวขึ้นก็ให้ใช้ฟิลเตอร์สีนั้นหรือสีใกล้เคียงกันมาสวมไว้ที่หน้าเลนส์ สีนั้นก็จางลง เช่น ถ้าต้องการถ่ายภาพดอกไม้ให้ใบไม้มีสีที่จางลงเพื่อที่ดอกไม้จะได้เด่นขึ้นก็ควรใช้ฟิลเตอร์สีเขียว หรืออาจใช้สีตรงข้ามมาสวมหน้าเลนส์สีนั้นก็จะมีดคล้ำลง เช่น ถ้าต้องการถ่ายดอกไม้สีแดงกับใบไม้สีเขียวแล้วนำฟิลเตอร์สีแดงมาสวมไว้หน้าเลนส์สีของใบไม้จะมีดคล้ำลงและในขณะเดียวกันดอกไม้สีแดงจะขาวขึ้น เป็นต้น



รูปที่ 2.37 ฟิลเตอร์ลักษณะต่างๆ

นอกจากนั้นฟิลเตอร์สีที่นำมาใช้กับการถ่ายภาพขาวดำยังสามารถนำมาแก้ไขข้อบกพร่องได้อย่างดีเยี่ยมเช่น ฟิลเตอร์สีเหลืองอ่อนสามารถเพิ่มน้ำหนักสีในการถ่ายภาพทิวทัศน์ได้ดี โดยสีนํ้าเงินหรือสีของท้องฟ้าจะเข้มขึ้น ในขณะที่เดียวกันสีของก้อนเมฆสีขาวยังคงขาวอยู่และดูชัดเจนนยิ่งขึ้น แต่ถ้าต้องการถ่ายภาพบุคคลเรานิยมใช้แว่นกรองแสงสีเขียวอ่อนหรือสีเขียวมาสวมไว้ด้านหน้าเลนส์เพราะจะทำให้สีผิวกับดวงตาและริมฝีปากมีน้ำหนักดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 LED Light sources

นานมาแล้ว แหล่งกำเนิดแสงสมมุติ นั้น จะสมมุติให้เทียบเท่ากับการใช้แสงที่ครบทุกย่านสี หรือ แสงสีขาว แต่โดยปกติ แสงที่จะใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการ Fluorescence จะต้องมีความสว่างในที่สูงกว่านั้น(หรือที่เรียกว่า Luminance หรือ Radiance) ทั้งในย่านของ UV และ แสงที่ตาสามารถมองเห็นได้ และ แหล่งกำเนิดแสงดังกล่าว นั้น ก็คือ Mercury Arc Lamp สเปกตรัมของแหล่งกำเนิดแสงนี้ไม่ใช่การกระตุ้นแบบต่อเนื่อง แสงที่ออกมาส่วนใหญ่ นั้น มีความเข้มข้นสูงมากใน band แคบๆ ซึ่งเรียกว่า line ในแต่ละ line จะมีความกว้างราว 10 nm ฟิสิกส์ที่สำคัญในออกนอกแบบจากแหล่งกำเนิดแสงชนิดนี้คือ Excitor ที่สามารถกรอง Line เหล่านี้ได้

2.4.1 ประวัติความเป็นมาของ LED

เมื่อก้าวถึงความเป็นมาของหลอด LED (Light Emitting Diode) หรือไดโอดเปล่งแสง ต้องเริ่มจากจุดกำเนิดคือไดโอดก่อน ไดโอดเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ชนิดสองขั้ว ที่ออกแบบและควบคุมทิศทางการไหลของประจุไฟฟ้า โดยยอมให้กระแสไฟฟ้าไหลในทิศทางเดียว และกั้นการไหลในทิศทางตรงกันข้าม เมื่อก้าวถึงไดโอด มักจะหมายถึงไดโอดที่ทำมาจากสารกึ่งตัวนำ (semiconductor diode) ซึ่งก็คือผลึกของสารกึ่งตัวนำที่ต่อกันได้ทางขั้วไฟฟ้าทั้งสองขั้ว

หลอด LED นั้นมีมานานแล้ว เริ่มปรากฏในแผงวงจรครั้งแรกเมื่อปี 1962 ซึ่งโดยช่วงแรกๆ นั้น LED ให้ความเข้มแสงไม่มากนัก และมีใช้ในเฉพาะ ความถี่ในช่วงแสง infra-red ที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ (ซึ่งเรายังคงเห็นรูปแบบการใช้งานในช่วงแสง infra-red นี้ตามอุปกรณ์ประเภทรีโมทคอนโทรลในเครื่องใช้ไฟฟ้าตามบ้านเรือนจนปัจจุบัน)

ต่อมา LED ถูกพัฒนาให้สามารถเปล่งแสงที่มองเห็นได้ โดยแสงสีแดง ถูกคิดค้นขึ้นได้ก่อน แต่ก็ยังมีความเข้มแสงที่ต่ำอยู่ หลังจากนั้น LED ก็ถูกพัฒนาเรื่อยมาจนกระทั่งสามารถให้แสงที่ครอบคลุมย่านความถี่ตั้งแต่ infrared แสงที่มองเห็นไปจนถึงย่าน ultra violet หรือ UV

ต่อจากนั้น LED ก็ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย ในอุปกรณ์ไฟแสดงตามแผงควบคุมต่างๆ, ในไฟแสดงตัวเลข seven segment และนาฬิกาดิจิตอล

ในช่วงแรกๆ นั้นหลอด LED ใช้เป็นตัวบ่งบอกสัญญาณ (indicator light) ในการทำงานของอุปกรณ์ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ เช่น นาฬิกา เครื่องคิดเลข รีโมทคอนโทรล และกระดิกน้ำร้อน เป็นต้น เพราะตัวหลอด LED มีขนาดเล็กจิ๋ว และใช้กระแสไฟฟ้าน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณแสงที่ออกมา ทำให้ในเวลาต่อมา มีผู้พัฒนาหลอด LED อย่างต่อเนื่อง จากแรกเริ่มที่ให้สีโทนร้อน คือ สีแดง ส้ม เหลือง ต่อมาได้มีการคิดค้นวิธีการสร้างหลอดที่ให้สีโทนเย็น คือ สีเขียวและน้ำเงินและได้แสงขาวโทนเย็นขึ้น จึงมีการนำมาใช้งานทดแทนหลอดไฟฟ้าชนิดอื่นอย่างจริงจัง ทั้งที่ใช้เป็นแสงขาวโทนสีต่างๆ รวมทั้งใช้เป็นไฟเปลี่ยนสีจากการผสมสี RGB ที่ทำให้เกิดความคิดสร้างสรรค์ที่ไม่รู้จักในงานออกแบบ ประดับตกแต่ง ทั้งภายในและภายนอกอาคาร และงานอุตสาหกรรมต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมา LED ก็ถูกพัฒนาให้มีประสิทธิภาพด้านความเข้มแสงมากขึ้น จึงทำให้เกิดการนำเอา LED มาใช้งานในการแสดงสัญญาณต่างๆ เช่น ไฟสัญญาณสำหรับการบิน ไฟสัญญาณจราจร และเนื่องด้วย LED มีข้อดีในหลายๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นด้านประหยัดพลังงาน ด้านการใช้งานได้นานขึ้น การบำรุงรักษาที่ต่ำ ด้านความทนทานของตัวหลอดเอง และขนาดก็เล็กมากเมื่อเทียบกับหลอดไส้อย่างเดิม ทั้งยังปิดเปิดง่ายขึ้นแล้ว นักวิจัยและบริษัทต่างๆ จึงมุ่งเน้นพัฒนาประสิทธิภาพด้านความเข้มแสงหรือความ สว่างให้สูงขึ้นไปอีก เพื่อหวังที่จะนำเอา LED มาใช้เป็นไฟฟ้าแสงสว่างในชีวิตประจำวันเพื่อทดแทนหลอดไฟแบบที่มีใช้อยู่ทั่วไปในปัจจุบัน แต่ก็ติดปัญหาเรื่องการทำให้ LED มีแสงสีขาบ เหมือนหลอดไฟทั่วไปไม่ได้

ผ่านมาเกือบ 30 ปี จนกระทั่ง ในปี 1990 นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น 3 คน ได้ร่วมกันพัฒนาจนประสบความสำเร็จ ซึ่งภายหลังทั้ง 3 คนนี้จึงได้รับการยกย่องและได้รับรางวัลโนเบลสาขาฟิสิกส์ ในปี 2014 ในฐานะเป็นผู้คิดค้นสิ่งประดิษฐ์ ที่จะทำให้เกิดการปฏิวัติวงการทั้งโลก ด้านไฟฟ้าแสงสว่างและการใช้พลังงาน ในศตวรรษที่ 21 เลยทีเดียว

2.4.2 LED ในปัจจุบันและอนาคต

จึงทำให้ในปัจจุบัน หลอด LED เริ่มนำมาใช้อย่างแพร่หลายไม่ว่าจะเป็น ไฟแสงสว่างรถยนต์ หรือ ไฟฟ้าแสงสว่างทั่วไป แต่ก็ยังติดปัญหาด้านต้นทุนการผลิตอยู่ แต่ในอนาคตอีกไม่นานเมื่อต้นทุนในการผลิตหลอดไฟ LED ต่างๆ เราคงได้เห็น หลอดไฟ LED ได้โดยทั่วไปซึ่งจะมาแทนหลอดไฟในปัจจุบันไม่ต่างจากการเข้ามาแทนหลอดไส้ของ ฟลูออเรสเซนต์ เหมือนช่วงอดีตที่ผ่านมาแน่นอน

2.4.3 หลักการทำงานของ LED

เมื่อ LED ถูกพัฒนาให้สามารถเปล่งแสงที่มองเห็นได้ โดยมีสัญลักษณ์ที่ใช้ในวงจรคือ



รูปที่ 2.38 สัญลักษณ์ LED

ไดโอด คือ สารกึ่งตัวนำประเภทหนึ่ง ที่ยอมให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านทางเดียว ไดโอด นั้นมีใช้อยู่ทั่วไปในวงจรอิเล็กทรอนิกส์ และวงจรไฟฟ้า ไดโอดทั่วไป มีสัญลักษณ์ คือ



รูปที่ 2.39 สัญลักษณ์ไดโอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปิดสวิตซ์ไฟ กระแสไฟฟ้าจะผ่าน driver เพื่อแปลงไฟฟ้ากระแสสลับให้เป็นไฟฟ้ากระแสตรง และเปลี่ยนจากความต่างศักย์ไฟฟ้าสูงไปสู่ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ค่อนข้างต่ำ ประมาณ 2.5-3 โวลต์ แล้วจึงจ่ายเข้าตัวชิปของหลอด LED ซึ่งมีเพียงตัวนำแคโทดและแอโนดเท่านั้น โดยหลอด LED จะมีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านน้อยมาก ประมาณ 20 มิลลิแอมป์ ในตัวชิปของ LED ประกอบด้วยสารกึ่งตัวนำขั้วประจุบวกชนิด P (Positively charged material) ที่อยู่ห่างจากสารกึ่งตัวนำขั้วประจุลบชนิด N (Negatively charged material) เล็กน้อย จุดนี้เรียกว่ารอยต่อ (junction) เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่านหลอด LED ตัวนำแอโนดจะไปดันขั้วประจุบวก และตัวนำแคโทดจะไปดันขั้วประจุลบให้มาชนกัน เมื่อประจุบวกและประจุลบมาชนกันที่รอยต่อของสารกึ่งตัวนำทั้งสองชนิด ก็จะจับตัวกันและคายพลังงานออกมาในรูปของแสงสว่าง ซึ่งเรียกว่า “อิเล็กโตรลูมิเนสเซนซ์” ทำให้เกิดแสงสว่างที่บริเวณด้านหน้าตัวหลอด ซึ่งมีอุณหภูมิในการทำงานที่ประมาณ 25 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไป แสงสว่างที่ออกมาจะลดลง แสงจากหลอด LED มีลักษณะพุ่งออกในทิศทางเดียว แต่ในกรณีที่ต้องการให้แสงกระจายออกในมุมแคบหรือกว้างเพิ่มขึ้น ก็จะใช้อุปกรณ์ครอบหลอด LED ในลักษณะของเลนส์ (package) ไว้เพื่อบังคับทิศทางของการกระจายแสงหลอด LED สามารถเปิดปิดได้ทันที ไม่ต้องใช้ระยะเวลาในการจุดติดเหมือนหลอดไส้ที่ต้องเผาไส้หลอด หรือหลอดดิสชาร์จที่ต้องปรับแรงดันก๊าซภายในหลอด LED สามารถปรับความเข้มของแสงได้ด้วยอุปกรณ์หรี่ไฟ (dimmer) โดยขึ้นอยู่กับรุ่นและอุปกรณ์ควบคุมซึ่งจะต้องตรวจสอบให้แน่ใจก่อนเลือกใช้

2.4.3.1 ไดรฟ์เวอร์

ไดรฟ์เวอร์ (Driver) คืออุปกรณ์ทำหน้าที่ควบคุมแรงดันและกระแสไฟ กระแสตรงให้กับหลอด led โดยแรงดันที่จ่ายให้กับ led หนึ่งดวงจะอยู่ที่ประมาณ 2-4Vdc เท่านั้น (แต่ถ้านำเอาหลอดมาต่อขนานกันก็ต้องใช้แรงดันที่สูงขึ้น) แต่สิ่งสำคัญคือไดรฟ์เวอร์ต้องจ่ายกระแสให้คงที่ที่สุด ไม่ว่าแรงดันภายนอกจะเปลี่ยนไปอย่างไร และการการจ่ายกระแสไฟต้องเป็นไปตามที่ผู้ผลิตชิปกำหนด เท่านั้นจึงจะทำให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด เพราะหากจ่ายกระแสมากเกินไปจะทำให้เกิดความร้อนและอายุของหลอดสั้นลง

ดังนั้น ไดรฟ์เวอร์ led ที่ดีต้องไม่ทำให้หลอดกระพริบ และต้องไม่เน้นสว่างเพียงอย่างเดียว

2.4.4 ชนิดของ LED

2.4.4.1 COB

Chip On Board คือรูปแบบชิป LED สมัยใหม่ที่มีการนำเอาชิปหลายๆตัวมารวมกันไว้ในแผ่นเดียว เพื่อเพิ่มค่าความสว่าง ลดต้นทุนการผลิต และสะดวกต่อการระบายความร้อนและนำไปใช้งาน ยกตัวอย่างเช่น Cree ตระกูล CXA หรือ BridgeLux ตระกูล Vero



รูปที่ 2.40 Chip On Board

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4.2 SMD

Surface Mounted Device (SMD) คือ ชิปLED ที่ใช้เทคโนโลยี การยึดติดลงบนแผ่น PCB (Surface Mounted Technology) เพื่อที่จะสามารถผลิตได้จำนวนมากๆ ซึ่งเป็นเทคโนโลยีเดียวกับที่ใช้กับการยึดติดชิปขนาดเล็กกับแผงวงจรสมัยใหม่โดยทั่วไป



รูปที่ 2.41 Surface Mounted Device (SMD)

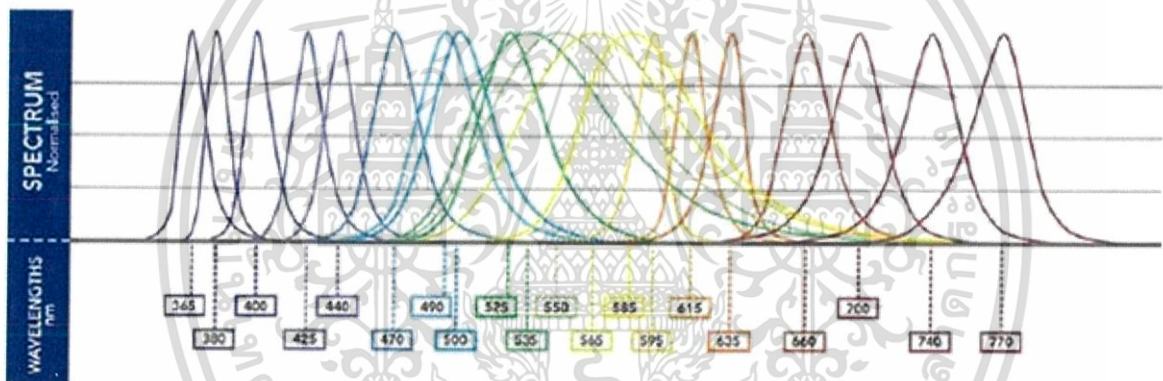
2.4.4.3 High Brightness LED

แอลอีดีความเข้มสูง (High Brightness LED หรือ HBLED) เป็น LED ที่ให้ค่าความสว่างและความเข้มแสง สูงกว่า LED ทั่วไป จากค่า FITC ข้างต้น จึงเลือกใช้ HBLED สีน้ำเงิน ที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 470-500 นาโนเมตร ในการกระตุ้นให้เกิดการเรืองแสง ทั้งนี้ ยังต้องทำการทดลองต่อไปว่าสามารถกระตุ้น FITC ได้มากน้อยเพียงใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.42 ภาพแสดง High Brightness

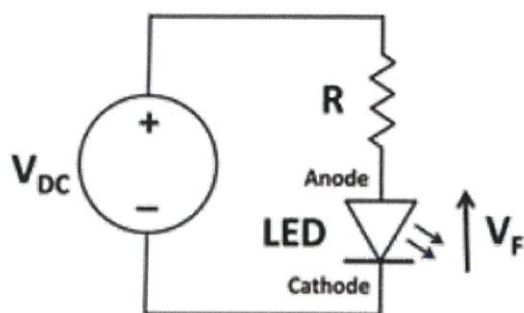


รูปที่ 2.43 ภาพแสดง ความยาวคลื่นของ LED สีต่างๆ

2.4.5 การต่อวงจร

หลักการต่อวงจรของ LED ไม่มีอะไรซับซ้อน เพียงจ่ายไฟบวกกระแสตรงเข้าที่ขา อาร์โนด (Anode) หรือขาที่ยาวกว่า และต่อไฟลบเข้ากับขา แคโทด (Cathode) หรือขาสั้น จะทำให้เกิดแรงดันตกคร่อมตัว LED ที่เรียกว่า V_f หรือ Forward Voltage เมื่อมีแรงดันตกคร่อม V_f ที่ว่านี้ ด้วยคุณสมบัติของสารกึ่งตัวนำภายใน LED ก็จะมีแสงออกมา แต่เพื่อจำกัดไม่ให้กระแสไหลผ่าน LED มากจนเกินไป ก็จำเป็นต้องต่อ ตัวต้านทาน หรือ R หรือ Resistor อนุกรมเข้าไปในวงจร ดังรูป ข้างล่าง

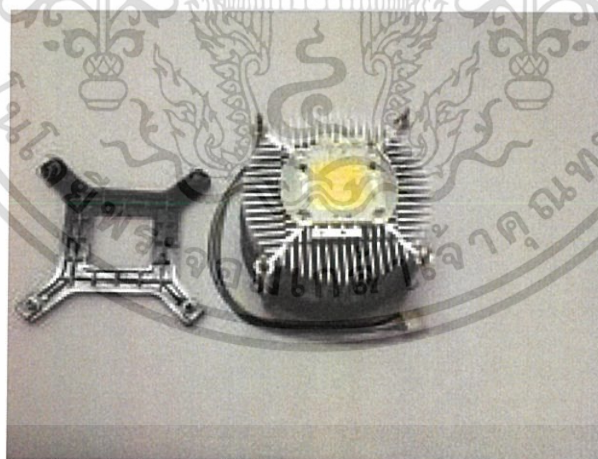
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.44 วงจรการต่อ LED

2.4.6 การระบายความร้อน

โดยหลักการแล้วใน LED แบบทั่วๆไปจะเปล่งแสงโดยไม่มีความร้อนเกิดขึ้น หรือเกิดขึ้นน้อยมากจนเราสามารถใช้มือเปล่าสัมผัสได้แต่ใน Hi Power LED หรือ LED กำลังสูง ที่ให้แสงสว่างมากๆ มีความร้อนเกิดขึ้นมาก การออกแบบระบบระบายความร้อนจึงมีความสำคัญอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ แผงระบายความร้อนหรือที่เรียกว่าฮีตซิงค์ (Heat Sink) ส่วนใหญ่ทำมาจาก อลูมิเนียมซึ่งมีคุณสมบัติคือ หลอมขึ้นรูปได้ง่าย น้ำหนักเบาและพาความร้อนได้ดี



รูปที่ 2.45 Heat Sink

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.7 CRI

Color Rendering Index (CRI) คือค่า ดัชนีความถูกต้องของสี ยกตัวอย่าง เวลาเราเข้าไปอยู่ในที่มีแสงสีม่วงเข้ม สีผิวเราจะดูเหมือนว่าขาวขึ้น และอีกตัวอย่าง ในทางกลับกัน เวลาเราเข้าไปอยู่ในที่มีแสงไฟสีเหลืองเข้ม เราก็จะมองเห็นสีผิวของเราคล้ำลง ทั้งสองตัวอย่างคือ การให้ค่าความถูกต้องของสีต่ำ (CRI น้อย) นั้นหมายถึง แหล่งกำเนิดแสงนั้นมีคุณภาพต่ำ

2.4.8 ค่าลูเมนต่อวัตต์ lm/w

ค่า lm/w คือค่า light efficacy หรือค่าประสิทธิภาพของการแปลงแสง คือค่าฟลักซ์ความสว่างทั้งหมดที่ได้จากการกินไฟ 1w โดย hi-power led สมัยใหม่มีค่า อยู่ระหว่าง 70-110 lm/w ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแต่ละรุ่นและยี่ห้อของผู้ผลิตชิป แต่โดยปกติแล้วผู้ผลิตไม่แนะนำให้ใช้งานที่ค่า lm สูงสุด เพราะจะทำให้มีความร้อนเกิดขึ้น ทำให้ light efficacy หรือค่า lm/w ต่ำลง และยังทำอายุการใช้งานของ หลอด led สั้นลงอีกด้วย ส่วน การควบคุมค่า lm/w ให้เหมาะสมทำได้โดยควบคุมกระแสผ่านทางไดรฟ์เวอร์ โดยค่ามาตรฐานและทำให้ชิปประสิทธิภาพและเสถียรที่สุดอยู่ที่ 350mA

ดังนั้น การอวดอ้างว่า มีค่า lm/w สูงที่สุดนั้น ต้องตรวจสอบชนิดของชิปและการขับกระแสจากไดรฟ์เวอร์ด้วย เพราะการใช้งานจริงอาจจะไม่ได้ค่าตามนั้น

2.4.9 โทนสี LED Warm white /Cool white / Daylight

2.4.9.1 Warm White

คือ อุณหภูมิสีประมาณ 2700-3300K เหมาะสำหรับ ห้องนอน, ห้องนั่งเล่น, ทางเดิน

2.4.9.2 White/Cool White

คือ อุณหภูมิสีประมาณ 4000-5000K เหมาะสำหรับ ห้องครัว,ห้องเรียน, ห้องอาบน้ำ, ห้องทำงาน, สำนักงาน, ร้านค้า

2.4.9.3 Daylight

คือ อุณหภูมิสีประมาณ 5500-6500K เหมาะสำหรับ ศูนย์การค้า, ห้างสรรพสินค้า, พิพิธภัณฑ์ศิลปะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 เลนส์

เลนส์ที่เป็นอุปกรณ์แบบออปติคอลซึ่งจะเน้นไปที่การส่งผ่านของแสงหรือกระจายลำแสงโดยวิธีการของการหักเหของแสงได้ เลนส์ที่ใช้งานง่ายประกอบด้วยวัสดุโปร่งใสที่มีเพียงชั้นเดียวในขณะที่มีเลนส์ประกอบประกอบด้วยเลนส์เรียงง่ายหลายแบบหลายวัสดุ ซึ่งโดยปกติแล้วจะจัดเรียงตามแนวแกนร่วมกันได้ เลนส์ที่ทำจากวัสดุต่างๆเช่นแก้วหรือพลาสติกและจะถูกขัดหรือขึ้นรูปให้เป็นรูปทรงที่เลนส์สามารถโฟกัสแสงเพื่อสร้างภาพซึ่งแตกต่างจากปริซึมซึ่งจะหักเหแสงได้โดยไม่ต้องโฟกัส ในทำนองเดียวกันอุปกรณ์ที่สามารถโฟกัสหรือกระจายคลื่นและการแผ่รังสีที่อื่นที่ไม่ใช่แสงที่มองเห็นได้ ก็เรียกว่าเลนส์เช่นกัน เช่นเลนส์ไมโครเวฟ , เลนส์อิเล็กตรอน , เลนส์อะคูสติกหรือเลนส์เอ็กโพลซีฟ

คำว่าเลนส์นั้นมาจากชื่อภาษาละตินของถั่วเลนทิลเม็ดกลมเพราะเลนส์นูนแบบประกบกันมีรูปทรงกลมเหมือนถั่ว ชนิดของสายพันธุ์ของพืชเม็ดกลมที่นิยมกินมากที่สุดคือ *Lens culinaris* ชื่อของเลนส์จึงได้มาจากรูปร่างเรขาคณิตของถั่วเลนทิล

บางครั้งก็เห็นการสะกดคำตัวแปรได้ถูกเปลี่ยนไปตามแต่ละท้องที่ และมีการระบุไว้ตามตัวสะกดอื่นๆ ในพจนานุกรมต่างๆ พจนานุกรมหลักส่วนใหญ่ไม่ได้ระบุว่าคำที่คำว่าเลนส์นั้นมาจากชื่อภาษาละตินของถั่วเลนทิลยังไม่เป็นที่ยอมรับได้

เลนส์ที่เก่าแก่ที่สุดคือ Nimrud เลนส์ย้อนหลังไปถึง 2700 ปี (ศตวรรษที่ century ซี. ซี.) แอสซีเรียโบราณ เดวิดเปียร์เสนอว่ามันอาจถูกนำมาใช้เป็นแว่นขยายเพื่อการเผาไหม้โดยการนำแก้วมาส่องด้วยแสงแดด แหล่งอ้างอิงอื่นที่กล่าวถึงการใช้เลนส์เพื่อส่องขยายสิ่งต่างๆอีกครั้งย้อนกลับไปยังสมัยเป็นอักษรอียิปต์โบราณโบราณในศตวรรษที่ 8 ซึ่งแสดงถึง "เลนส์แก้วทั่วไป"

เลนส์เข้ามาใช้อย่างแพร่หลายในยุโรป ด้วยการประดิษฐ์แว่นตาในอิตาลีในปี 1280 นี่คือจุดเริ่มต้นของอุตสาหกรรมเลนส์ของเลนส์เจียรและขัดสำหรับแว่นตาครั้งแรกในเวนิสและฟลอเรนซ์ในศตวรรษที่สิบสามและต่อมาในศูนย์การสร้างภาพปรากฏทั้งในเนเธอร์แลนด์และเยอรมนี สามารถผลิตและสร้างเลนส์ประเภทที่ดีขึ้นสำหรับการแก้ไขวิสัยทัศน์ตามความรู้ที่ได้จากการสังเกตผลและการทดลองของเลนส์ (อาจไม่มีความรู้พื้นฐานทฤษฎีแสงในช่วงนี้) และจากการพัฒนาและการทดลองด้วยเลนส์ที่นำไปสู่การประดิษฐ์กล้องจุลทรรศน์แสงประกอบในปี 1595 และกล้องโทรทรรศน์หักเหในปี ค.ศ. 1608 ซึ่งทั้งสองอย่างนี้ปรากฏอยู่ในศูนย์การแสดงผลภาพในประเทศเนเธอร์แลนด์

ด้วยการประดิษฐ์กล้องโทรทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์มีการทดลองรูปแบบต่างๆของเลนส์ในช่วงศตวรรษที่ 17 และ 18 เพื่อแก้ไขข้อผิดพลาดของสีในเลนส์ ช่างทำแว่นสายตาศึกษาที่จะสร้างเลนส์รูปแบบต่างๆของความโค้งเพื่อสมมติว่าข้อผิดพลาดเกิดขึ้นจากข้อบกพร่องในรูปทรงกลมของพื้นผิวของเลนส์ ทฤษฎีออปติคัลเกี่ยวกับการหักเหและการทดลองแสดงให้เห็นว่าไม่มีเลนส์องค์ประกอบเดียวสามารถทำให้โฟกัสได้ทุกสี สิ่งนี้นำไปสู่การประดิษฐ์เลนส์ achromatic โดยเชสเตอร์มัวร์ฮอลล์ในประเทศอังกฤษในปีพ.ศ. 2276 สิ่งประดิษฐ์นี้ยังอ้างสิทธิโดยชาวอังกฤษชื่อจอห์นตุคุดอทในสิทธิบัตร 1758

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 เลนส์นูน (Convex Lens)

คือ เลนส์ที่มีลักษณะตรงกลางหนากว่าส่วนขอบ เลนส์นูนทำหน้าที่รวมแสง หรือลู่แสงให้เข้ามารวมกันที่จุดจุดหนึ่งเรียกว่า จุดรวมแสง หรือ จุดโฟกัส ภาพที่เกิดจากเลนส์นูน เลนส์นูนสามารถให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน และภาพจริงเป็นภาพที่ฉากสามารถรับได้เป็นภาพหัวกลับกับวัตถุ ส่วนภาพเสมือนเป็นภาพที่ฉากไม่สามารถรับได้ เป็นภาพหัวตั้งเหมือนวัตถุ ภาพจริงที่เกิดจากเลนส์นูนมีหลายขนาด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะวัตถุ และตำแหน่งภาพจริงที่จะเกิดหลังเลนส์ ภาพเสมือนที่เกิดจากเลนส์นูนมีขนาดใหญ่กว่าวัตถุและตำแหน่งภาพเสมือนจะเกิดหน้าเลนส์

เลนส์นูนจะให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของวัตถุ ถ้าระยะวัตถุมากกว่า ความยาวโฟกัส จะเกิดภาพจริง แต่ถ้าระยะวัตถุน้อยกว่าความยาวโฟกัส จะเกิดภาพเสมือน เลนส์นูน คือ เลนส์ที่มีตรงกลางหนากว่าตรงขอบเสมอ เมื่อผ่านลำแสงขนานเข้าหาเลนส์จะทำให้รังสีพุ่งเข้าหากัน และไปตัดกันจริงที่จุดโฟกัสจริง (Real focus) ภาพจริงที่เกิดจากเลนส์นูนมีหลายขนาด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะวัตถุ และตำแหน่งภาพจริงที่จะเกิดหลังเลนส์ ภาพเสมือนที่เกิดจากเลนส์นูนมีขนาดใหญ่กว่าวัตถุและตำแหน่งภาพเสมือนจะเกิดหน้าเลนส์ เลนส์นูนจะให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของวัตถุ ถ้าระยะวัตถุมากกว่า ความยาวโฟกัส จะเกิดภาพจริง แต่ถ้าระยะวัตถุน้อยกว่าความยาวโฟกัส จะเกิดภาพเสมือน เลนส์นูนใช้ทำแว่นขยาย แว่นสายตายาว เป็นส่วนประกอบกล้องถ่ายรูป กล้องจุลทรรศน์ กล้องส่องทางไกล

2.5.2 เลนส์เว้า (concave lens)

คือ เลนส์ที่มีผิวโค้งเข้าด้านใน มีขอบหนา และตรงกลางบาง แสงที่ผ่านเลนส์เว้าจะกระจายออก เลนส์เว้านำมาใช้ในกล้องโทรทรรศน์, กล้องจุลทรรศน์ และแว่นตา สำหรับในแว่นตานั้น เลนส์เว้าช่วยปรับสายตาสำหรับคนสายตาสั้นได้ เลนส์เว้าสามารถสร้างภาพเสมือนได้

ภาพที่เกิดจากเลนส์เว้า ถ้าวัตถุอยู่ไกลมาก (ระยะอนันต์, Infinity) แสงจากวัตถุขนานกับแกนมุขสำคัญหักเหผ่านเลนส์เว้า เป็นรังสีปลายบานเข้าสู่ตาผู้สังเกต ผู้สังเกตจะมองเห็นภาพที่จุดโฟกัสเสมือนเป็นภาพเสมือน ขนาดเล็กมาก ข้างเดียวกับวัตถุ และไม่ไว้วางวัตถุจะอยู่ที่ใด จะได้ภาพเสมือนหัวตั้ง ขนาดเล็กกว่าวัตถุ และอยู่ด้านเดียวกับวัตถุ

สิ่งประดิษฐ์ที่ใช้เลนส์เว้าแว่นตาสำหรับคนสายตาสั้นเลนส์นูน เลนส์นูน (Convex Lens) คือ เลนส์ที่มีลักษณะตรงกลางหนากว่าส่วนขอบ เลนส์นูนทำหน้าที่รวมแสง หรือลู่แสงให้เข้ามารวมกันที่จุดจุดหนึ่งเรียกว่า จุดรวมแสง หรือ จุดโฟกัส ภาพที่เกิดจากเลนส์นูน เลนส์นูนสามารถให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน และภาพจริงเป็นภาพที่ฉากสามารถรับได้เป็นภาพหัวกลับกับวัตถุ ส่วนภาพเสมือนเป็นภาพที่ฉากไม่สามารถรับได้ เป็นภาพหัวตั้งเหมือนวัตถุ ภาพจริงที่เกิดจากเลนส์นูนมีหลายขนาด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะวัตถุ และตำแหน่งภาพจริงที่จะเกิดหลังเลนส์ ภาพเสมือนที่เกิดจากเลนส์นูนมีขนาดใหญ่กว่าวัตถุและตำแหน่งภาพเสมือนจะเกิดหน้าเลนส์เลนส์นูนจะให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของวัตถุ ถ้าระยะวัตถุมากกว่า ความยาวโฟกัส จะเกิดภาพจริง แต่ถ้าระยะวัตถุน้อยกว่าความยาวโฟกัส จะเกิดภาพเสมือน เลนส์นูน คือ เลนส์ที่มีตรงกลางหนากว่าตรงขอบเสมอ เมื่อผ่านลำแสงขนานเข้าหาเลนส์จะทำให้รังสีพุ่งเข้าหากัน และไปตัดกันจริงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดโฟกัสจริง(Real focus) เลนส์นูนใช้ทำแว่นขยาย แว่นสายตายาว เป็นส่วนประกอบกล้องถ่ายรูป กล้องจุลทรรศน์ กล้องส่องทางไกล

2.5.3 Ball lens

Ball lens โดยทั่วไปแล้วเป็นองค์ประกอบสำคัญในการคัปปลิงสัญญาณระหว่างไฟเบอร์ แห่่งจ่ายแสง และส่วนรับแสง บอลเลนส์ใช้ใน Endoscopy, เครื่องสแกนบาร์โค้ด และเซนเซอร์ บอลเลนส์ สร้างจากแก้วชนิดเดียวล้วน สามารถนำมาโฟกัสแสง และสร้างแสงขนาน ขึ้นอยู่กับรูปร่างของแห่่งจ่าย ทำจากวัสดุหลายชนิด เช่น Silica PDMS แก้ว ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมกับงานที่ใช้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเริ่มตั้งแต่ 0.3 mm ถึง 3 mm



รูปที่ 2.46 ภาพแสดง Ball lens

2.5.4 Tunable Lens

Optotune เป็นผู้จัดจำหน่ายเลนส์ปรับโฟกัสแบบปรับโฟกัสสำหรับการใช้งานที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นทางไฟฟ้าหรือกลไกการทำงาน ข้อดีของเลนส์แบบปรับได้ผ่านระบบออปติคที่มีความโดดเด่นได้มากกว่าเลนส์แบบดั้งเดิม เลนส์ Optotune สามารถใช้กับความถี่ของสัญญาณเฉพาะของคุณในแง่ของขนาดช่วงการปรับช่วงการส่งสัญญาณหรือความเร็ว

เลนส์ปรับโฟกัสแบบปรับด้วยไฟฟ้ามีโซลูชันเลนส์เดี่ยวสำหรับโฟกัสและซูม มีวัตถุประสงค์การใช้กระแสวิกการเปลี่ยนแปลงขนาดและกำลังขยายในแต่ละเลนส์ที่มีขนาดกะทัดรัด เมื่อมีการจ่ายกระแสเข้าไป จะเกิดการเปลี่ยนรัศมีความหนาของเลนส์ การจ่ายกระแสไฟฟ้าเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรัศมีช่วยให้ช่วงโฟกัสอยู่ระหว่าง +50 ถึง + 120 มม. ให้ความยาวโฟกัสที่ปรับได้เพื่อความหลากหลายและไม่จำเป็นต้องใช้ระบบมัลติเลนส์ มีวัสดุที่มีการหักเหหรือการกระจายตัวต่ำ เลนส์มีกระจกครอบซึ่งสามารถใช้งานช่วง VIS หรือ NIR ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4.1 คุณสมบัติของ Tunable Lens ที่ต่างจากเลนส์ตัวอื่น

- 2.5.1.4.1. การออกแบบที่มีขนาดกะทัดรัด
- 2.5.1.4.2. กลไกที่น้อยกว่า
- 2.5.1.4.3. มีความรวดเร็วในการตอบสนอง
- 2.5.1.4.4. ใช้พลังงานต่ำ
- 2.5.1.4.5. ระดับความคลาดเคลื่อนต่ำ

	EL-10-30 Series	EL-10-30-C Series	EL-10-42-OF	EL-16-40-TC Series	ML-20-35 Series
Specifications					
Product description	Fast electrically tunable lens	Fast electrically tunable lens	Fast electrically tunable lens	Fast electrically tunable lens	Manually tunable lens
Size (ØxH)	30mm x 9.7mm	30mm x 20.7mm	42mm x 36mm	40mm x 11.9mm	35mm x 8mm
Clear aperture	10mm	10mm	10mm	16mm	20mm
Lens Type	Plano convex	Plano convex (offset lens optional)	Plano convex + plano concave offset lens	Plano convex to plano concave	Plano convex to plano concave
Focal length range	From +20 to +140mm	From -600 to +170 mm	From -500 to +500 mm	From -500 to +333 mm	From -40 to +40mm
Refractive Index	1.300 or 1.559	1.300	1.300	1.300	1.300 or 1.559

รูปที่ 2.47 แสดงรายละเอียดของ Tunable Lens รุ่นต่าง ๆ

2.5.5 ภาพที่เกิดจากเลนส์

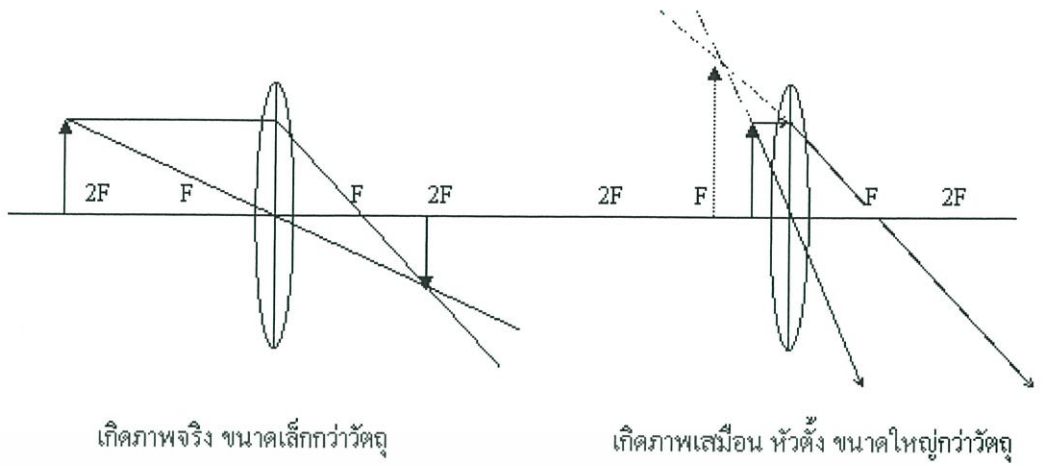
2.5.5.1. ภาพที่เกิดจากเลนส์นูน

เลนส์นูนสามารถให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน และภาพจริงเป็นภาพที่ฉากสามารถรับได้เป็นภาพหัวกลับกับวัตถุ ส่วนภาพเสมือนเป็นภาพที่ฉากไม่สามารถรับได้ เป็นภาพหัวตั้งเหมือนวัตถุ

ภาพจริงที่เกิดจากเลนส์นูนมีหลายขนาด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะวัตถุ และตำแหน่งภาพจริงที่จะเกิดหลังเลนส์

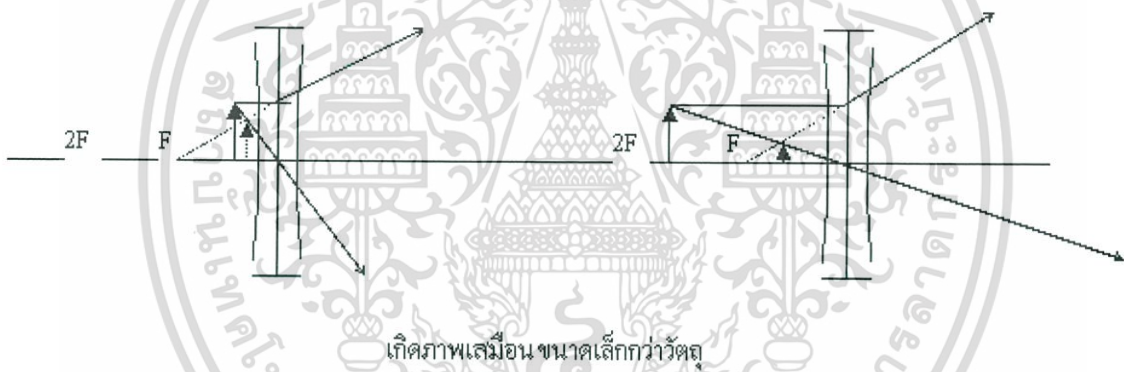
ภาพเสมือนที่เกิดจากเลนส์นูนมีขนาดใหญ่กว่าวัตถุและตำแหน่งภาพเสมือนจะเกิดหน้าเลนส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.48 ภาพที่เกิดจากเลนส์นูน

เลนส์นูนจะให้ทั้งภาพจริงและภาพเสมือน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของวัตถุ ถ้าระยะวัตถุมากกว่า ความยาวโฟกัส จะเกิดภาพจริง แต่ถ้าระยะวัตถุน้อยกว่าความยาวโฟกัส จะเกิดภาพเสมือน



รูปที่ 2.49 ภาพที่เกิดจากเลนส์เว้า

2.5.5.2. ภาพที่เกิดจากเลนส์เว้า

เลนส์เว้าให้ภาพเสมือนเพียงอย่างเดียว ไม่ว่าระยะวัตถุจะมากหรือน้อยกว่าความยาวโฟกัส และขนาดภาพมีขนาดเล็กกว่าวัตถุเท่านั้น

การคำนวณหาชนิดและตำแหน่งของภาพที่เกิดจากเลนส์

$$1/f = 1/s + 1/s' \quad (2.47)$$

$$m = I/O = s'/s \quad (2.48)$$

s คือ ระยะวัตถุ (จะมีเครื่องหมายเป็น + เมื่อเป็นวัตถุจริง เป็น - เมื่อเป็นวัตถุเสมือน)

s' คือ ระยะภาพ (ถ้าภาพจริงใช้เครื่องหมาย + และภาพเสมือนใช้เครื่องหมาย -)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

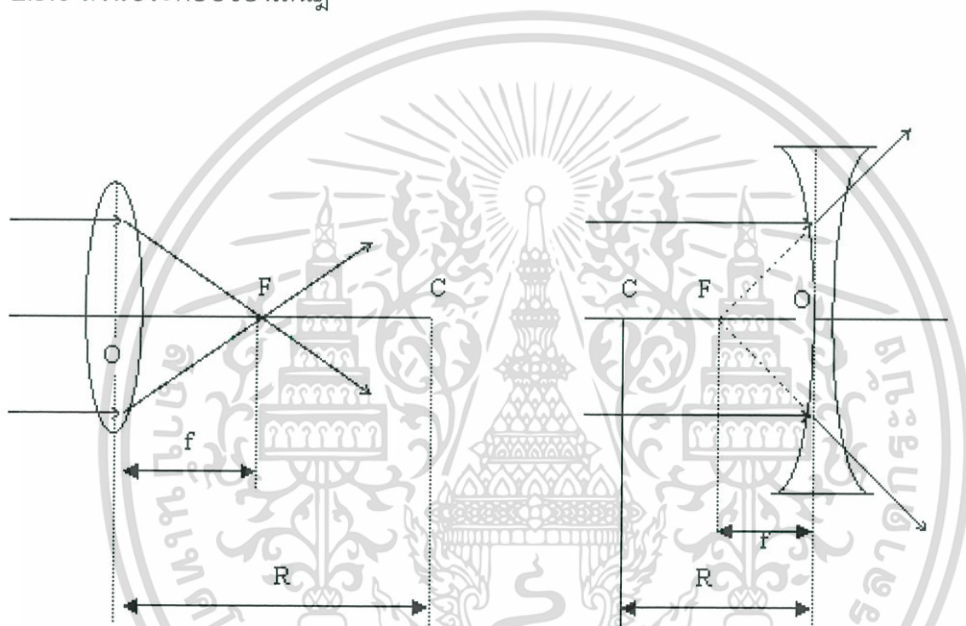
f คือ ความยาวโฟกัสของเลนส์ (เครื่องหมาย + สำหรับเลนส์นูน และเครื่องหมาย - สำหรับเลนส์เว้า)

m คือ กำลังขยายของเลนส์ (เครื่องหมาย + สำหรับภาพจริง และภาพเสมือนใช้เครื่องหมาย -)

l คือ ขนาดหรือความสูงของภาพ (เครื่องหมาย + สำหรับภาพจริง และภาพเสมือนใช้เครื่องหมาย -)

O คือ ความสูงของวัตถุ (จะมีเครื่องหมาย + เสมอ)

2.5.6 ส่วนประกอบของเลนส์



รูปที่ 2.50 ส่วนประกอบของเลนส์นูนและเลนส์เว้า

แนวทิศทางของแสงที่ส่องมายังเลนส์เรียกว่า แนวรังสีของแสง ถ้าแสงมาจากระยะไกลมาก หรือระยะอนันต์ เช่นแสงจากดวงอาทิตย์หรือดวงดาวต่างๆ แสงจะส่องมาเป็นรังสีขนาน

จุดโฟกัสของเลนส์หรือจุด F ถ้าเป็นเลนส์นูนจะเกิดจากรังสีหักเหไปรวมกันที่จุดโฟกัส แต่ถ้าเป็นเลนส์เว้าจะเกิดจุดเสมือนแสงมารวมกันหรือจุดโฟกัสเสมือน

แกนमुखสำคัญ (Principal axis) คือเส้นตรงที่ลากผ่านกึ่งกลางของเลนส์และจุดศูนย์กลางความโค้งของผิวเลนส์

จุด O คือ จุดใจกลางเลนส์ (Optical center)

จุด C คือ จุดศูนย์กลางความโค้งของผิวเลนส์ (Center of Curvature)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OC เป็น รัศมีความโค้ง (Radius of curvature) เขียนแทนด้วย R

F เป็นความยาวโฟกัส (Focal length) โดยความยาวโฟกัสจะเป็นครึ่งหนึ่งของรัศมีความโค้ง

$$(R = 2F)$$

เมื่อนำวัตถุมาวางหน้าเลนส์จะเกิดภาพ 2 ชนิด คือ

2.5.6.1. ภาพจริง

คือภาพที่เกิดจากรังสีหักเหของแสงตัดกันจริง ๆ ลักษณะของภาพจริง เอาฉากรับได้ จะเกิดหลังเลนส์ หัวกลับกับวัตถุ

2.5.6.2. ภาพเสมือน

คือภาพที่เกิดจากรังสีหักเหของแสงไม่ได้ตัดกันจริง ๆ แต่เสมือนตัดกัน ลักษณะของภาพเสมือน ไม่สามารถเอาฉากรับได้ จะเกิดหน้าเลนส์ หัวตั้งเหมือนวัตถุ

2.5.7. การเขียนทางเดินของแสงผ่านเลนส์

เราสามารถหาตำแหน่งและลักษณะของภาพที่เกิดจากเลนส์นูนหรือเลนส์เว้าโดยวิธีการเขียนทางเดินของแสงผ่านเลนส์ได้ ซึ่งมีลำดับขั้นตอนดังนี้

2.5.7.1. เขียนเลนส์ แกนमुखสำคัญ จุดโฟกัส และจุดกึ่งกลางของเลนส์

2.5.7.2. กำหนดตำแหน่งวัตถุ ใช้รังสี 2 เส้นจากวัตถุ เส้นแรกคือรังสีที่ขนานแกนमुखสำคัญ แล้วหักเหผ่านจุดโฟกัสของเลนส์ และเส้นที่ 2 คือ รังสีจากวัตถุผ่านจุดกึ่งกลางของเลนส์โดยไม่หักเห จุดที่รังสีทั้ง 2 ตัดกัน คือ ตำแหน่งภาพ

การเกิดภาพจริงและภาพเสมือน มีลักษณะดังนี้

- ถ้ารังสีของแสงทั้ง 2 เส้นตัดกันจริง จะเกิดภาพจริง
- ถ้ารังสีของแสงทั้งสองเส้นไม่ตัดกันจริง จะเกิดภาพเสมือน

2.5.8 ความสว่างบนพื้นที่รับแสง

2.5.8.1. อัตราการให้พลังงานแสงของแหล่งกำเนิดแสง

แสงเป็นพลังงานรูปหนึ่ง และทำให้เกิดความสว่างบนพื้นที่ที่แสงตกกระทบ วัตถุที่ผลิตแสงได้ด้วยตัวเอง เรียกว่า แหล่งกำเนิดแสง เช่น ดวงอาทิตย์ เทียนไข และหลอดไฟฟ้า และปริมาณพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงที่ส่องออกมาจากแหล่งกำเนิดแสงใดๆ ต่อ หนึ่งหน่วยเวลา เรียกว่า อัตราการให้พลังงานแสงของแหล่งกำเนิดแสง มีหน่วยเป็น ลูเมน(lumen ; lm)

2.5.8.2. ค่าความสว่าง

พลังงานแสงที่ทำให้เกิดความสว่างบนพื้นที่ที่รับแสง ถ้าพิจารณาพื้นที่ใดๆ ที่รับแสง ความสว่างบนพื้นที่นั้นหาได้จาก

$$E=F/A \quad (2.49)$$

F เป็น อัตราพลังงานแสงที่ตกบนพื้น มีหน่วยเป็นลูเมน (lumen : lm)

A เป็น พื้นที่รับแสง มีหน่วยเป็นตารางเมตร m²

E เป็น ความสว่าง มีหน่วยเป็นลักซ์ (lux ; lx)

2.5.9 ไดออพเตอร์

เป็นหน่วยวัดของกำลังรวมแสง ของเลนส์หรือกระจกโค้ง ซึ่งมีค่าเท่ากับค่าผกผันของทางยาวโฟกัสในหน่วยของเมตร ยกตัวอย่างเช่น ค่ากำลังรวมแสง 2 ไดออพเตอร์ จะให้ทางยาวโฟกัสที่ 1 เมตร การใช้งานค่าไดออพเตอร์นี้ถูกนำเสนอโดย นักจักษุวิทยา ชาวฝรั่งเศส เฟอร์ดินานด์ มาโนเยอร์ ในปี ค.ศ. 1872

สูตรคำนวณหาค่าไดออพเตอร์คือ

$$D = 1/f \text{ (m)} \quad (2.50)$$

ผลดีที่ได้จากการกำหนดค่ากำลังรวมแสงเป็นหน่วยไดออพเตอร์คือ เมื่อนำเลนส์บางมาวางใกล้กัน สามารถนำค่าไดออพเตอร์ของเลนส์แต่ละตัวมารวมนับเป็น ค่าไดออพเตอร์รวม ยกตัวอย่างเช่น เลนส์บางที่มีกำลังรวมแสง 2 ไดออพเตอร์ วางใกล้กับ เลนส์บางที่มีกำลังรวมแสง 0.5 ไดออพเตอร์ ทางยาวโฟกัสของเลนส์ทั้งสอง จะมีค่าใกล้เคียงกับ ทางยาวโฟกัสของเลนส์ที่มีกำลังรวมแสง 2.5 ไดออพเตอร์

ค่าไดออพเตอร์ไม่ได้ถูกบรรจุเป็นค่ามาตรฐานตามระบบ เอสไอเมทริกซ์ซิสเต็ม จึงไม่จัดเป็นชื่ออย่างเป็นทางการตามมาตรฐานระหว่างประเทศ โดยมาตรฐาน อินเตอร์เนชันแนลซิสเต็มออฟยูนิต กำหนดค่ากำลังรวมแสงเป็น ค่าผกผันของหน่วยเมตร (m⁻¹) อย่างไรก็ตามมาตรฐานนานาชาติบางระบบเช่น ดีไอเอ็น กำหนดค่า ไดออพทรี หรือ ไดออพเทรีย และให้ตัวย่อเป็น ดีพีที

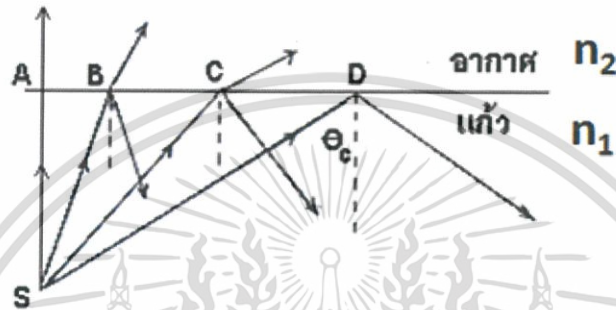
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.10. มุมวิกฤติ

คือมุมตกกระทบที่ทำให้มุมหักเหเท่ากับ 90° จะเกิดมุมวิกฤติได้เมื่อ

- แสงเดินทางจากตัวกลางที่มีความหนาแน่นมากไปสู่ตัวกลางที่มีความหนาแน่นน้อย
- แสงเดินทางจากตัวกลางที่มีดัชนีหักเหต่ำไปสู่ตัวกลางที่มีดัชนีหักเหมาก
- แสงเดินทางจากตัวกลางที่มีความเร็วมากไปสู่ตัวกลางที่มีความเร็วต่ำ

การสะท้อนกลับหมดจะเกิดขึ้นในกรณีที่มุมตกกระทบโตกว่ามุมวิกฤติ ขณะที่เกิดการสะท้อนกลับหมด จะไม่มีแสงผ่านเข้าไปสู่ตัวกลางที่ 2 เลย



รูปที่ 2.51 มุมตกกระทบที่ทำให้เกิดมุมหักเหจากตัวกลางที่มีความหนาแน่นต่างกัน

ให้จุดกำเนิดแสงอยู่ที่ S จะมีแสงออกจากจุด S นี้ไปยังจุดต่าง ๆ ของผิวแก้ว ดังรูป
 ที่จุด A แสงจะพุ่งออกจากแก้วไปยังอากาศโดยไม่มีการหักเห
 ที่จุด B จะมีการหักเหเล็กน้อย และมีบางส่วนสะท้อนกลับมาในแก้ว
 ที่จุด C จะมีการหักเหมากขึ้นเล็กน้อย และมีบางส่วนสะท้อนกลับมาในแก้ว
 ที่จุด D จะไม่มีการหักเห แสงจากจุด S ทั้งหมดจะสะท้อนกลับมาในแก้ว ณ. จุดนี้จะเรียก
 มุม θ_c ว่า มุมวิกฤติ (Critical angle) ทำให้เกิดปรากฏการณ์ การสะท้อนกลับหมด (Total
 reflection) หาค่ามุม θ_c ได้จากสมการ

$$\theta_c = \sin^{-1}(n_2/n_1) \quad (2.51)$$

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (2.52)$$

2.6. 3D Printer

3D printer 3D Printing มีชื่อเรียกอีกอย่างคือ Additive Manufacturing มีรากมาจากคำว่า 'Add' ซึ่งคือการขึ้นรูปชิ้นงานโดยการเติมเนื้อวัสดุทีละชั้นๆ จนได้ออกมาเป็นวัตถุที่ต้องการ กระบวนการผลิตชนิดนี้ได้ฉีกแนวจากวิธีการแบบเดิมๆที่เรียกว่า Subtractive Manufacturing ที่เป็นการสกัดเนื้อวัสดุออกจนได้เป็นรูปร่างของวัตถุที่ต้องการผลิต โดยวิธีการตัด กิ่ง ไส เจาะ เจียรไน เป็นต้น เป็นเครื่องจักรที่ใช้กระบวนการเติมเนื้อวัสดุ เพื่อให้เกิดเป็นรูปร่างที่สามารถจับต้องได้ตามที่ต้องการ โดยอาศัยข้อมูลในรูปแบบดิจิทัล ซึ่งการเติมเนื้อหรือพิมพ์วัสดุลงไปนั้นเรียกว่า Additive Process ซึ่งการพิมพ์นั้นจะค่อยเป็นไปทีละ Layer หรือทีละชั้น ยกตัวอย่าง ถ้าเราต้องการสร้างตึก เราก็ต้องเริ่มสร้างจากรากก่อน แล้วค่อยๆ ต่อเสาขึ้นไปทีละชั้น ซึ่งก็เป็นหลักการเดียวกับการพิมพ์งานของ เครื่องปริ้น 3 มิติ

เครื่อง 3D Printer มีอยู่หลายประเภทด้วยกัน แต่หลักการพื้นฐานก็คือการวาง layer ของวัตถุซ้อนกันหลายๆชั้นจนกลายเป็นชิ้นงานที่ต้องการ เทคโนโลยี 3D Printing ที่แพร่หลายที่สุดคือ FDM (Fused Deposition Modeling) ซึ่งใช้วิธีละลายเส้นพลาสติกและฉีดพลาสติกขึ้นรูปเป็นวัตถุที่เราต้องการผลิตทีละชั้น วัสดุที่สามารถพิมพ์ได้มีอยู่หลายชนิด ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องพิมพ์ เช่นพลาสติก เรซิน ยาง โลหะ

2.6.1 หลักการทำงาน

3D Printer เกือบทุกเครื่องนั้นใช้หลักการเดียวกัน คือพิมพ์ 2มิติแต่ชั้นในแนวระนาบกับพื้นโลก XY ก่อน ส่วนที่พิมพ์ก็คือภาพตัดขวาง-Cross Section ของวัตถุนั้นๆเอง พอพิมพ์เสร็จในสองมิติแล้วเครื่องจะเลื่อนฐานพิมพ์ไปพิมพ์ชั้นถัดไป พิมพ์ไปเรื่อยๆหลายร้อย หลายพันชั้น จนออกมาเป็นรูปร่าง 3 มิติ การเลื่อนขึ้นหรือลง (เลื่อนในแนวแกน Z) ของฐานพิมพ์ นี้เองทำให้เกิดมิติที่ 3

วัสดุที่ใช้ของ 3D Printer แตกต่างกันออก บางชนิดพิมพ์โดยฉีดเส้นพลาสติกออกมา บางชนิดพ่นน้ำเรซินออกมา แล้วฐานแสงให้เรซินแข็งในแต่ละชั้น บางชนิดฉีดซีเมนต์-3D Printer สร้างบ้าน, น้ำตาล-3D Printer ทำขนม, หรือแม้กระทั่งสเต็มเซลล์-3D Printer กับการพิมพ์อวัยวะ

โดยปรกตินั้นเราจะวัดความละเอียดในการพิมพ์ของเครื่อง 3D Printer ในหน่วยไมครอน เช่น 100-Micron(0.1mm) ต่อชั้น หมายความว่าในแต่ละชั้นนั้นเครื่องจะพิมพ์ให้มีความสูง 0.1mm ดังนั้นหากโมเดลมีความสูง 10mm เครื่องพิมพ์จะพิมพ์ทั้งหมด 100 ชั้น หากพิมพ์ที่ความละเอียด 50-Micron เครื่องจะพิมพ์ทั้งหมด 200 ชั้น ซึ่งแน่นอนที่ความละเอียด 50-Micron นั้นได้งานละเอียดกว่าและสวยกว่าแน่นอน แต่ใช้เวลาเพิ่มขึ้นประมาณเท่าตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2. ประเภทของ 3D Printer

แบ่งประเภทของเครื่องพิมพ์ด้วยกระบวนการพิมพ์และวัสดุที่ใช้ดังนี้

2.6.2.1. ระบบฉีดเส้นพลาสติก (FDM หรือ FFF)

FDM หรือ Fused Deposition Modeling หรือ บางสำนักเรียกเครื่องระบบนี้ว่า FFF เป็นเครื่องพิมพ์ 3มิติ ที่นิยมใช้กันมากที่สุดในปัจจุบัน มีหลักการทำงานคือ การหลอมเส้นพลาสติกให้กลายเป็นของเหลวแล้วฉีดออกมาเป็นเส้นผ่านหัวฉีด (Nozzle) หากเปรียบเทียบแบบเปรียบเทียบได้กัน ปืนกาที่ใช้กันทั่วไป เครื่อง FDM 3D Printer จะวาดเส้นพลาสติกที่ถูกฉีดออกมา เป็นรูปร่างในแนบแกนระนาบ เมื่อเสร็จชั้นหนึ่งๆก็จะพิมพ์ในชั้นต่อไป เมื่อครบหลายร้อย หรือ หลายพันเลเยอร์ ก็จะได้ออกมาเป็นวัตถุที่เราสั่งพิมพ์ ระบบ เป็นระบบที่นิยมที่สุด และถูกที่สุด ใช้ได้กับงานทุกประเภท ชิ้นงานที่พิมพ์สามารถขีด/แต่ง/เจาะ ได้ สามารถใช้เป็นชิ้นส่วนในเครื่องจักรได้ นำมาใช้ได้จริง อีกทั้งเครื่องยังสามารถใช้วัสดุได้หลากหลาย และหาได้ง่ายตามท้องตลาด เช่น เส้น PLA, ABS, PET, Nylon, Wood(พลาสติกผสมไม้), Bronze(พลาสติกผสมทองเหลือง) เป็นต้น แต่ข้อเสียคือ ฝีมือที่พิมพ์ออกมาเป็นรองระบบอื่นๆ



FDM/FFF Printer Material Print

รูปที่ 2.52 เครื่องพิมพ์สามมิติ วัสดุ และ โมเดลที่พิมพ์เสร็จสมบูรณ์

2.6.2.2. หลักการทำงาน

เครื่องระบบ FDM นั้นมีหลักการทำงานเหมือนกับ “ฉีดและวาดเส้นพลาสติกออกมาเป็นวัตถุ” ส่วนของหัวฉีดทำหน้าที่ฉีดเส้นพลาสติกออกมา (ลักษณะคล้ายๆปืนกา) โดยหัวฉีดมีฮีตเตอร์ทำความร้อนให้ถึงจุดที่เส้นพลาสติกกลายเป็นน้ำ ฉีดผ่านหัวฉีดออกมา โดยปกติหัวฉีดจะมีรูขนาด 0.4mm เครื่องจะมีมอเตอร์ทำการเคลื่อนหัวฉีด หรือฐานพิมพ์ให้เคลื่อนที่ และพิมพ์ไปที่ละชั้น จน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกมาเป็นงานชิ้นรูป เครื่องพิมพ์สามารถทำงานที่ซับซ้อนได้ เช่นประแจเลื่อนที่พิมพ์เพียงครั้งเดียว ไม่ได้มาประกอบทีหลัง

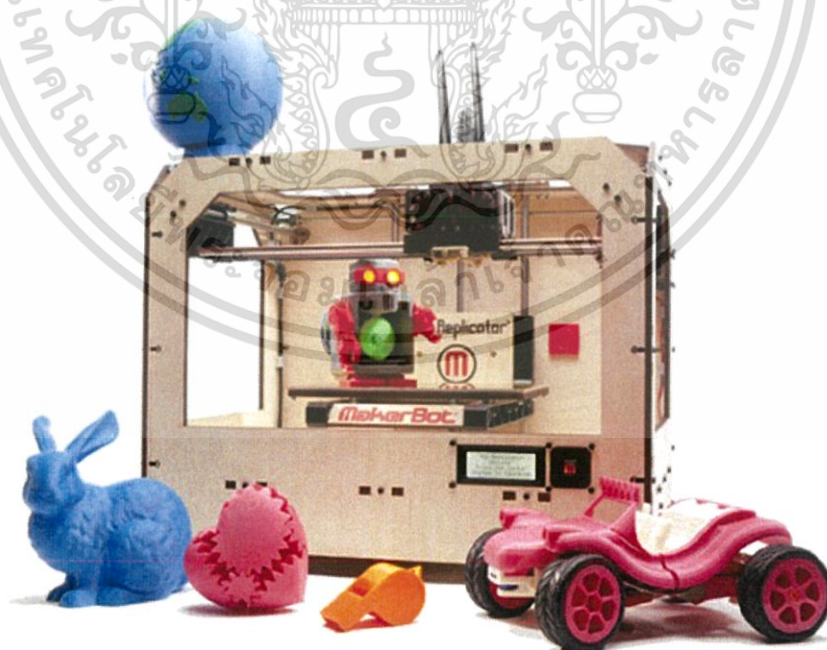
เครื่องรับคำสั่งทั้งหมดเป็น GCode ภาษาเดียวกับการสั่งงานเครื่อง CNC หรือ Milling ในโรงงานอุตสาหกรรม โดยโปรแกรมที่ทำการสร้าง GCode มานั้นมีให้ใช้หลากหลายเช่น Cura, Simplify3D, MakerWare, Slic3r, Repetier เป็นต้น โดยทำการเปิดโมเดลขึ้นมาและกำหนดค่าที่ต้องการพิมพ์ โปรแกรมจะทำการสไลด์วัตถุออกเป็นชั้น เครื่องจะพิมพ์ทีละชั้น ชั้นที่เครื่องพิมพ์นั้นเป็น Cross Section ของวัตถุนั้นเอง

2.6.2.3.ประเภทของเครื่อง FDM/FFF 3D Printer

เครื่องพิมพ์ FDM นั้นมีอยู่หลายชนิด แต่ชนิดที่นิยมมีดังนี้

2.6.2.3.1. Cartesian

เป็นเครื่องพิมพ์ที่พบเห็นทั่วไปในท้องตลาด เครื่องจะพิมพ์จาก Fix แกนในแกนหนึ่งในการเคลื่อนที่ของหัวฉีด ตัวอย่างที่พบเห็นได้ง่ายที่สุดคือยี่ห้อ MakerBot หรือ Ultimaker มีการ Fix การเคลื่อนที่ของหัวฉีดในแกน X,Y เท่านั้นคือวิ่งได้ซ้าย-ขวา/หน้า-หลัง ส่วนฐานพิมพ์นั้นจะเคลื่อนที่ในแกนแนว Z คือเคลื่อนที่ขึ้น-ลง

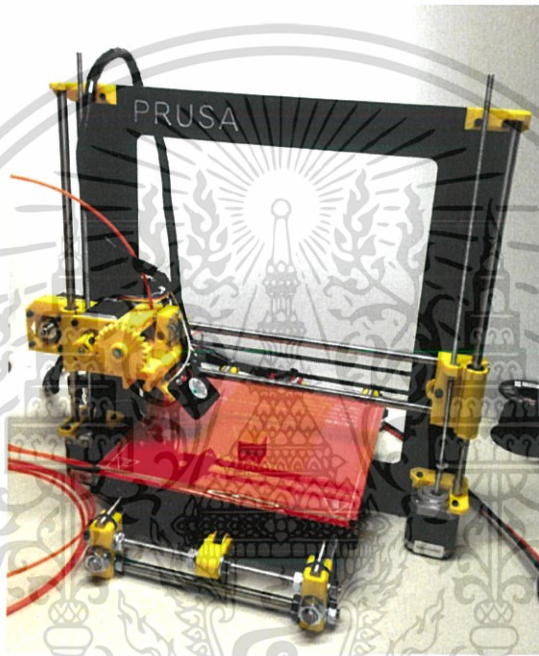


รูปที่ 2.53 เครื่องพิมพ์สามมิติแบบ Cartesian

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องอีกแบบที่ได้รับความนิยมมากเช่นกันคือเครื่อง Prusa หรือเครื่องแบบ Reprap จะมีการเคลื่อนที่ของหัวฉีดในแนวแกน X คือซ้าย-ขวา และฐานพิมพ์ในแกน Y คือ หน้า-หลัง เมื่อพิมพ์เสร็จในชั้นหนึ่งๆแล้วเครื่องจะยกหัวฉีดทั้งชุดขึ้นในแนวแกน Z เพื่อพิมพ์ในชั้นต่อไป

ข้อดีของ Cartesian เครื่องพิมพ์ค่อนข้างจะเสถียรกว่า เนื่องจากมีการเคลื่อนที่ของหัวฉีดจะเคลื่อนที่อยู่ใน 1 หรือ 2 แกนในรางสไลด์ (ตามทฤษฎีแล้วจะพิมพ์ได้เร็วกว่า FDM ระบบอื่นๆ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นขึ้นอยู่กับผู้ผลิตแต่ละยี่ห้อด้วย) พื้นที่พิมพ์งานเป็นทรงกล่องสี่เหลี่ยม ข้อเสียของ Cartesian หากมีขนาดใหญ่ขึ้น จะผลิตค่อนข้างยาก น้ำหนักมาก (หนัก โครงสร้าง รางสไลด์)



รูปที่ 2.54 เครื่องพิมพ์สามมิติของ Prusa

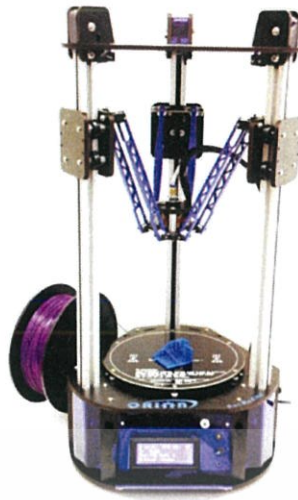
2.6.2.3.2. Delta

เครื่องพิมพ์ระบบนี้สังเกตได้ง่ายที่สุดคือ มีแกนเสาอยู่ 3 เสา เครื่อง Delta นั้นจะมีฐานพิมพ์อยู่กับที่ หัวฉีดจะเคลื่อนที่อย่างอิสระทั้งสามแกน X,Y,Z โดยควบคุมการเคลื่อนที่ของหัวฉีดด้วยการทำงานสัมพันธ์กันของมอเตอร์ทั้งสามตัว เครื่องระบบนี้สามารถสร้างให้มีขนาดใหญ่่มากๆได้

ข้อดี สามารถสร้างเครื่องให้พิมพ์ชิ้นงานได้ง่าย มีน้ำหนักน้อยกว่า มีต้นทุนในการผลิตน้อยกว่า มีพื้นที่พิมพ์งานทรงกระบอกสูง

ข้อเสีย Setting หรือ จูนเครื่องให้พิมพ์ได้ดีค่อนข้างยาก คุณภาพงานลดลงเมื่ออยู่ห่างจากจุดศูนย์กลาง (กลางฐานจะพิมพ์ได้ดีกว่า ส่วนที่ห่างจากจุดกึ่งกลาง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

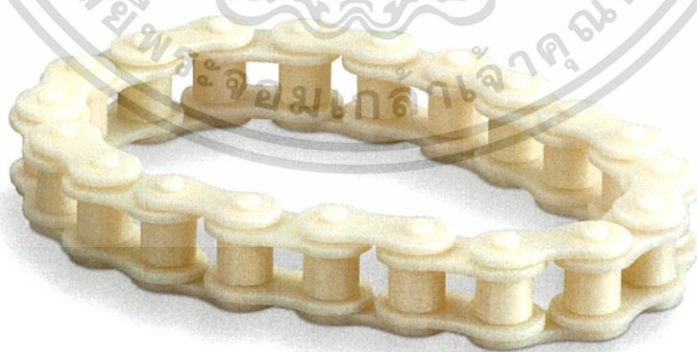


รูปที่ 2.55 เครื่องพิมพ์สามมิติแบบ Delta

2.6.3. การนำไปใช้

2.6.3.1. ชิ้นส่วนต่างๆ

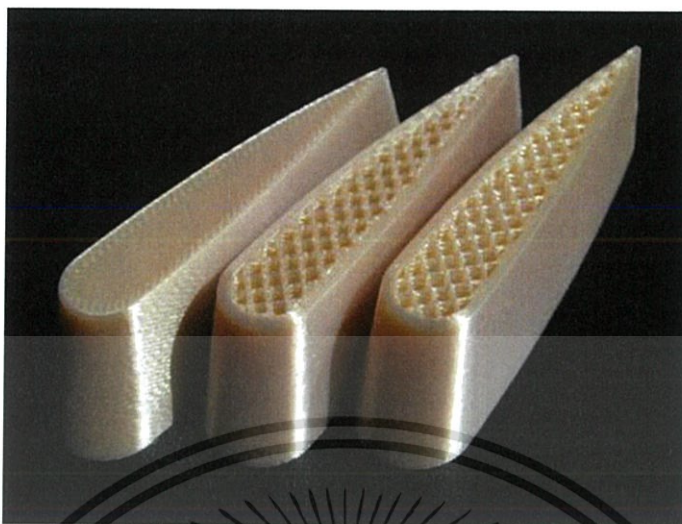
เนื่องจากชิ้นงานที่เกิดจากการพิมพ์ โดย FDM 3D Printer มีความแข็งแรงพอสมควร จึงสามารถพิมพ์ชิ้นงานมาใช้ได้จริงเช่น เช่น นักศึกษาที่สร้างหุ่นยนต์เตะฟุตบอล เนื่องจากมีชิ้นส่วนที่ต้องออกแบบเองหาซื้อไม่ได้ หากใช้ FDM สามารถออกแบบชิ้นส่วนของหุ่นยนต์แล้วพิมพ์ออกมาได้เลย



รูปที่ 2.56 ชิ้นงานที่เกิดจากการพิมพ์โดย FDM 3D Printer

2.6.3.2. โมเดล Mock Up

งานออกแบบ Scale หรืองานสร้างแบบจำลอง เราสามารถกำหนดค่า Scale ในการพิมพ์ได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.57 ชิ้นงานScaleที่เกิดจากการพิมพ์ โดย FDM 3D Printer

2.6.3.3. ออกแบบผลิตภัณฑ์

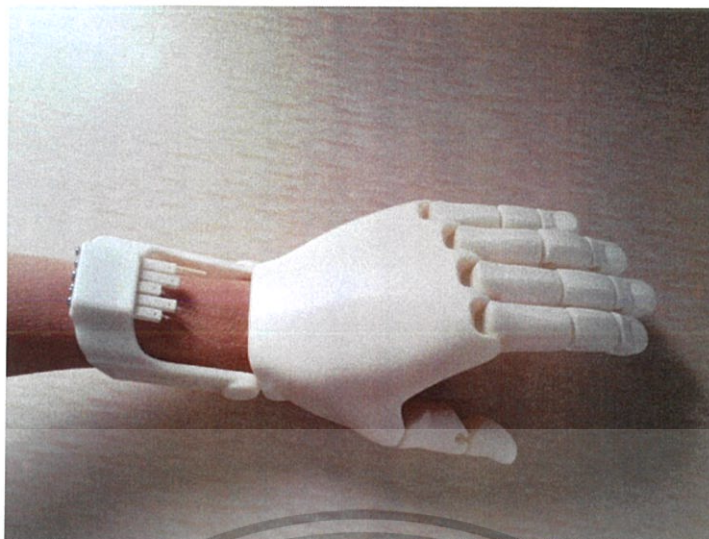
การออกแบบชิ้นส่วนก่อนทำการผลิตจริง เป็นตัวอย่างให้ลูกค้าดูก่อนว่างานที่ออกแบบมานั้นมีรูปร่างอย่างไร ก่อนไปทำการผลิตใช้จริง



รูปที่ 2.58 โคมไฟ ที่เกิดจากการออกแบบด้วยเครื่องพิมพ์ 3มิติ

2.6.3.4. การศึกษา ไว้ใช้ประกอบการศึกษา เช่น การสอนส่วนประกอบของเครื่องยนต์ในคณะวิศวกรรมศาสตร์ หรือ ชิ้นส่วนอวัยวะของมนุษย์ในคณะ แพทยศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.59 มือสำหรับผู้พิการที่เกิดจากการพิมพ์โดย FDM 3D Printer

2.6.4. ข้อดีของเครื่องพิมพ์สามมิติ ระบบ FDM/FFF

1. มีราคาถูกที่สุด สามารถซื้อหาได้ทั่วไป เนื่องจากต้นทุนการผลิตถูก แล้วส่วนมากเป็น Open source จึงซื้อหาได้ทั่วไป
2. งานที่พิมพ์ออกมาสามารถใช้งาน รับแรง หรือ ชัดแต่ง สามารถนำชิ้นส่วนที่พิมพ์จากเครื่อง ไปเป็นส่วนประกอบในเครื่องจักรได้เลย
3. มีวัสดุให้เลือกใช้ได้หลายชนิด เนื่องจากเป็นที่นิยม จึงมีหลายบริษัท ผลิตเส้นพลาสติกหลากหลายชนิดมาก (โปรดดูคุณสมบัติ และข้อมูลจำเพาะพิเศษสำหรับเส้นพลาสติกชนิดนั้นๆด้วย)
4. ใช้งานง่าย และ ต้นทุนวัสดุสิ้นเปลืองต่ำ ปัจจุบันมีโปรแกรมสำหรับเครื่อง FDM ให้เลือกใช่มากมาย ใช้งานค่อนข้างง่าย

2.6.5. ข้อเสียของเครื่องพิมพ์สามมิติ ระบบ FDM/FFF

1. ความละเอียดในการพิมพ์ อาจจะสู้ระบบอื่นไม่ได้ เนื่องจากการพิมพ์เกิดจากการฉีดเส้นพลาสติกออกมา ขนาดหัวฉีดที่นิยมคือ 0.4mm อย่างไรก็ตามยังเป็นเส้นอยู่ แม้จะพิมพ์ที่ความละเอียดสูงแล้วก็ตาม
2. หากเทียบกับขนาดงานที่เท่าๆกัน ความละเอียดเท่าๆกัน ระบบนี้ถือว่าใช้เวลาในการพิมพ์สูงกว่าระบบอื่นๆ เนื่องจากการพิมพ์จากการฉีดเส้นพลาสติกบางๆ แล้วค่อยๆวาดออกมาจนออกมาเป็นรูปร่าง

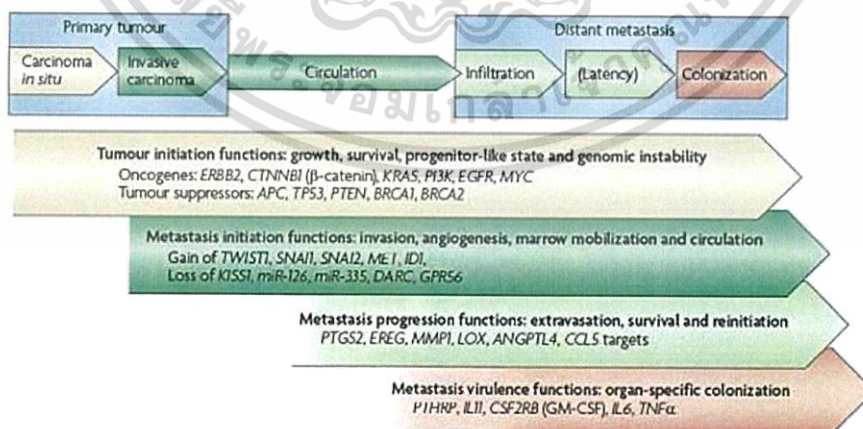
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 มะเร็งระยะแพร่กระจาย

แม้ว่าจะมีความก้าวหน้าในการตรวจหามะเร็งในระยะแรกและการพัฒนาวิธีการรักษาโรคมะเร็งแบบใหม่ด้วยการรักษาแบบมุ่งเป้าในระดับโมเลกุล (molecular targeted therapy) แต่อัตราการตายของผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งกลับไม่ได้ลดลงอย่างชัดเจนนัก สาเหตุของการตายที่สำคัญก็คือ การแพร่กระจายของมะเร็งไปยังส่วนอื่นของร่างกายในบริเวณที่ไกลออกไป โดยไม่ใช่สาเหตุจากมะเร็งปฐมภูมิหรือมะเร็งต้นกำเนิด ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการแพร่กระจายของมะเร็งได้ พัฒนาถึงระดับเซลล์และโมเลกุล โดยมีการสร้างแนวคิดเกี่ยวกับบะเร็งระยะแพร่กระจายในระดับชีวโมเลกุล (Micrometastasis) ขึ้น เพื่อการเจาะลึกทำความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกและกระบวนการในการแพร่กระจายของ มะเร็ง ซึ่งหากสามารถพยากรณ์โรคเกี่ยวกับการแพร่กระจายตัวของมะเร็งเกิดขึ้นตั้งแต่ ระยะแรก หรือแนวโน้มของการเจริญเติบโตของมะเร็งแล้ว ย่อมจะสามารถหาวิธีเตรียมการป้องกันได้อย่างเหมาะสม ซึ่งจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็ง และเพิ่มโอกาสให้ผู้ป่วยมีชีวิตที่ยืนยาวออกไปได้

2.7.1 ขั้นตอนการเกิดโรคและตำแหน่งของมะเร็ง

ขั้นตอนการเกิดโรคมะเร็งในระยะแพร่กระจายโดยทั่วไป ได้แก่ เซลล์มะเร็งกระจายตัวออกจากก้อนมะเร็งต้นกำเนิด แทรกตัวเข้าสู่ระบบกระแสเลือด (Intravasation) หากสามารถอยู่รอดได้ ก็จะผ่านเข้าสู่อวัยวะอื่นในที่สุด (ดังภาพที่ 1) อย่างไรก็ตาม เซลล์มะเร็งที่กระจายตัวออกมาจำเป็นต้องเอาชนะปราการป้องกันตามธรรมชาติให้ได้เสียก่อน หากเซลล์มะเร็งที่หลุดออกจากมะเร็งต้นกำเนิดเข้าสู่อวัยวะห่างออกไป และสามารถปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมใหม่ก็จะเข้าอยู่อาศัยในอวัยวะ นั้นได้ ดังนั้น กระบวนการแพร่กระจายทางชีวโมเลกุลของมะเร็ง (micrometastasis) จึงเป็นองค์ประกอบแรกในการแพร่กระจายของโรคมะเร็ง โดยการแพร่กระจายนี้ได้พัฒนาเติบโตขึ้นด้วยหลักทางกลศาสตร์เป็นองค์ประกอบ ที่สอง และเกิดการสร้างอาณาจักรของเซลล์มะเร็ง (Colonization) ในอวัยวะเป็นปัจจัยที่สาม



รูปที่ 2.60 การดำเนินของโรคและโอกาสในการแพร่กระจายของยีนมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANGPTL4(Angiopoetin-related protein 4): ปัจจัยสนับสนุนในการเติบโตของหลอดเลือด; APC (Antigen Presenting Cells): ยีนจากชิ้นเนื้อตัวอย่างมะเร็งลำไส้ตรงและลำไส้ใหญ่ (CCL5); C-C Chemokine Ligand-5; DARC : ตัวรับปัจจัยต่อต้านทางเคมี (Duffy Antigen/reseptor forChemokines) ; EGFR : (epidermal growth factor receptor)ตัวรับ ปัจจัยการเจริญเติบโตของผิวชั้นนอก ; EREG : : Epiregulin ; GM-CSF : โไซโตไคน์ที่ทำหน้าที่เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาว Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factorกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ ; GPR56 : G protein coupled receptors56 ; HGF: Hepatocyte growth factorปัจจัยการเจริญเติบโตของ Hepatocyte ในตับ ; ID1 : โปรตีน Id (inhibitor of differentiation-1) ปัจจัยยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ; IL : (receptor) interleukin ; Kiss1 : Kisspeptin-1 ; LOX (lysyl oxidase) ; MMP1 : Matrix metalloproteinases 1 ; PDGS2: Prostaglandin G/H Synthase 2 ; PTHRD : parathyroid hormone-related protein (PTHrP) ; TNF α : สาร tumor necrosis factor alpha (TNF- alpha) ปัจจัยที่กระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง (apoptosis) อ้างอิงจาก Nguyen DX, et al.2009)

อวัยวะ ในร่างกายมีเกราะป้องกันการรุกรานจากเซลล์มะเร็งที่ไม่เหมือนกัน และมีสภาวะแวดล้อมของเซลล์ที่แตกต่างกัน แม้ว่าเซลล์มะเร็งจะสามารถแทรกตัวเข้าสู่อวัยวะที่อยู่ห่างไกลออกไป แต่ก็ไม่ได้หมายความว่าสามารถอยู่รอดได้ ในสภาวะแวดล้อมนั้น ช่วงเวลาที่เซลล์มะเร็งแทรกตัวเข้าสู่อวัยวะอื่นจนกระทั่งสามารถปรับตัวจนสามารถอยู่รอดในอวัยวะ นั้นได้ เรียกว่า ระยะแฝงของการแพร่กระจาย (Latent period) กระบวนการแพร่กระจายเหมือนกับดำเนินของโรคมะเร็งโดยทั่วไป แต่ช่วงระยะเวลาทั้งหมดของกระบวนการแพร่กระจายตั้งแต่เริ่มต้นจนเซลล์มะเร็ง สามารถปรับตัวอยู่รอดในอวัยวะใหม่ ซึ่งก็คือระยะแฝงของการแพร่กระจายอาจไม่เท่ากัน เช่น การแพร่กระจายของมะเร็งเต้านม (ER-positive breast cancer) มะเร็งต่อมลูกหมากและโรคมะเร็งลูกตาเมลาโนมา (Ocular melanoma) ซึ่งอาจเกิดโรคร้ายในตำแหน่งเดิม หลังการผ่าตัดก้อนเนื้อออกไปแล้วหลายสิบปี ในขณะที่การแพร่กระจายของมะเร็งปอดสามารถเกิดขึ้น ภายหลังจากตรวจวินิจฉัย เพียงไม่กี่เดือน (ดูภาพที่ 2) ระยะแฝงของการแพร่กระจาย นี้แสดงให้เห็นว่าในช่วงเวลาดังกล่าวเซลล์มะเร็งกำลังพัฒนาตัวเองเพื่อให้มี คุณสมบัติในการแพร่กระจายไปอีกระดับหนึ่ง (disseminated tumor cells, DTC)

แนวโน้มของการแพร่กระจายคืออวัยวะที่มีคุณลักษณะเฉพาะ โดยเซลล์มะเร็งต่างชนิดกัน สามารถแพร่กระจายไปยังอวัยวะที่แตกต่างกัน (ดังตารางที่ 1) เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก โดยมากแพร่กระจายไปยังกระดูก ส่วนมะเร็งลูกตาเมลาโนมาโดยมากแทบจะทั้งหมดแพร่กระจายไปยังตับ

2.7.2 ยีนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของมะเร็ง

ยีนจำนวนมาก ได้แก่ ยีนก่อมะเร็ง ยีนเริ่มต้นการแพร่กระจายของมะเร็ง(metastasis initiation gene) ยีนแพร่กระจายระยะก้าวหน้า (metastasis progression gene) และยีนแพร่กระจายระยะก่อโรค (metastasis virulence gene) ดูกระบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง

ยีนก่อมะเร็ง การเปลี่ยนแปลงอันเกิดการกลายพันธุ์ของยีน โดยในกระบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ได้รักษาคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเอาไว้โดยตลอด เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีนแพร่กระจายระยะเริ่มต้น (metastasis initiation gene) กระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ของเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง epithelial-mesenchymal transition (EMT) เกิดการย่อยสลายของสารเคลือบผิวเซลล์ (Extra Cellular Matrix: ECM) ทำให้เกิดการขับเคลื่อนของเซลล์ต้นกำเนิดในไขกระดูก (bone marrow progenitor mobilization) เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่เข้าไปเลี้ยงเซลล์มะเร็งหรือการหลบหลีกจากการ ถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย อันมีส่วนช่วยทำให้เซลล์มะเร็งบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียงได้ เร็วขึ้น อีกทั้งมีกลไกที่สนับสนุนในการยึดเกาะ ทำให้เซลล์มะเร็งสามารถเข้าสู่อวัยวะที่อยู่ห่างออกไปได้ในที่สุด เช่น EMT เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ โดยทำให้เซลล์มีรูปร่างและหน้าที่เปลี่ยนไป อย่างเช่น กระบวนการที่ควบคุมโดย TWIST1, SNAI1 และ SNAI2 (หรือเรียกว่า SLUG) ส่วนปัจจัยอื่นที่สัมพันธ์กับการบุกรุกของเซลล์มะเร็ง ได้แก่ ตัวรับสัญญาณของปัจจัยการเจริญเติบโต Hepatocyte (Hepatocyte Growth Factor Receptor, HGFR) ความผิดปกติของโปรตีน matadherin ในมะเร็งเต้านม และยีนที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของมะเร็งลำไส้ใหญ่ (metastasis-associated in colon cancer 1, MACC1) นอกจากนี้ การเติบโตของเซลล์มะเร็งระยะแพร่กระจายยังสามารถเกิดจากการกระตุ้นให้เกิด การยับยั้งการแบ่งตัวของ RNAs ในปอด ที่เรียกว่า miR-126 และ miR-335 ทำให้เกิดการแสดงออกของมะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่

ยีนแพร่กระจายระยะก้าวหน้า (metastasis progression gene) จากกระบวนการที่เซลล์มะเร็ง แทรกตัวออกจากผนังหลอดเลือดฝอย และฝังตัวเติบโตขึ้นใหม่ ทั้งนี้ อวัยวะภายในที่แตกต่างกันทำให้ โครงสร้างและส่วนประกอบของหลอดเลือดฝอย รวมทั้งบริเวณโดยรอบมีสภาพที่แตกต่างกันไป ดังนั้น การอยู่รอดของเซลล์มะเร็งที่ย้ายถิ่นจึงขึ้นอยู่กับอวัยวะที่เป็นเป้าหมาย โดยได้มีการบ่งชี้อวัยวะเป้าหมายการแพร่กระจายโดยยีนสนับสนุนการแพร่กระจาย ที่อยู่ภายในก้อนมะเร็งต้นกำเนิดแต่แรก

ยีนแพร่กระจายระยะก่อโรค (metastasis virulence gene) เซลล์มะเร็งที่แพร่กระจายเข้าฝังตัวอยู่ในอวัยวะเป้าหมาย ปัจจัยส่งเสริมให้เซลล์มะเร็งมีความสามารถในการแพร่กระจายและเข้าฝังตัวอยู่ในอวัยวะเป้าหมาย ได้แก่ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับต่อมพาราไทรอยด์ (parathyroid hormone-related protein, PTHRP) และ Interleukin 11 (IL11)

2.7.3 การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง

จากแนวคิดดั้งเดิมที่เห็นว่า มะเร็งต้นกำเนิดนั้นมีเซลล์มะเร็งเพียงส่วนน้อยที่มีความสามารถในการแพร่กระจาย (ด้วยการแบ่งตัว) ซึ่งเซลล์มะเร็งในส่วนนี้ได้ผ่านการกลายพันธุ์หลายต่อหลายครั้งระหว่างการพัฒนาของเซลล์มะเร็ง จนกระทั่งเกิดการแพร่กระจายในที่สุด โดยการแพร่กระจายของมะเร็งเกิดขึ้นในระยะสุดท้ายของการดำเนินโรค อย่างไรก็ตาม Bernards และ Weinberg ได้นำเสนอแนวคิดในอีกรูปแบบหนึ่ง โดยเห็นว่ามะเร็งต้นกำเนิดนั้นมีศักยภาพในการแพร่กระจายตั้งแต่ระยะแรก ซึ่งภายในก้อนมะเร็งชนิดที่สามารถ “แพร่กระจาย” นี้ เซลล์มะเร็งส่วนใหญ่ล้วนมีศักยภาพดังกล่าว จากการศึกษาการแสดงออกของยีนจำนวนหนึ่งพบว่า การแพร่กระจาย micrometastasis และความสามารถในการแพร่กระจายของมะเร็งแต่ละชนิดมีส่วนสัมพันธ์อย่างใกล้ชิด กับการแสดงออกที่พิเศษเฉพาะของยีนในแต่ละชนิด เซลล์มะเร็งส่วนใหญ่มีการส่งสัญญาณในการแพร่กระจาย ไม่ใช่มีเพียงส่วนน้อยที่สามารถแบ่งตัวในการแพร่กระจายได้ ดังนั้น ความสามารถในการแพร่กระจาย micrometastasis ของมะเร็งแต่ละตัวไม่เพียงแต่จะถูกกำหนดโดยยีนต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำเนิดของมะเร็งตั้งแต่แรก แนวโน้มของทิศทางการแพร่กระจายไปสู่อวัยวะไต้ยังสัมพันธ์กับการแสดงออกของ ยีน อีกด้วย

ในระยะแรกของมะเร็งที่มีคุณสมบัติในการ “แพร่กระจาย” นั้น เซลล์มะเร็งมักจะฝังตัวอยู่ในตำแหน่งที่มีการแพร่กระจายอยู่แล้ว โดยในระบบกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคมะเร็งระยะเริ่มต้นจะสามารถตรวจพบ เซลล์ circulating tumor cells (CTC) บริเวณต่อมน้ำเหลืองและไขกระดูกสามารถตรวจพบเซลล์มะเร็งชนิดแพร่กระจาย disseminated tumor cells (DTC) ดูเหมือนว่าไขกระดูกจะเป็นแหล่งพักตัวของบรรดา เซลล์มะเร็ง DTC ที่อยู่ผิวรอบนอก รวมทั้งมะเร็งในกลุ่มที่ยากจะแพร่กระจายไปสู่กระดูก (อย่างเช่น มะเร็ง ลำไส้ใหญ่) ซึ่งแสดงว่า ไขกระดูกอาจเป็นพื้นที่ที่เซลล์มะเร็งชนิดแพร่กระจายเลือกอาศัยอยู่เป็น อันดับแรก โดยจากที่นี้เซลล์มะเร็งจึงจะไหลเวียนไปยังอวัยวะอื่นๆ ต่อไป จากการศึกษาทางคลินิกพบว่า 15%-40% ของ ผู้ป่วยมะเร็งมีการตรวจพบเซลล์มะเร็ง DTC ในตัวอย่างไขกระดูก (ผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากมีการตรวจพบ 70%) นอกจากนี้ แม้แต่ในผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงออกของการแพร่กระจายในต่อมน้ำเหลือง (NO) หรือไม่

ปรากฏการแพร่กระจายในอวัยวะที่ไกลออกไป (MO) ในไขกระดูกยังตรวจพบ DTC เป็นบวก ดังนั้น การพบ DTC ในไขกระดูกกับโอกาสในการกำเริบของโรคมะเร็งระยะแพร่กระจายจึงมีความสัมพันธ์กันอย่างมาก

ตัวอย่างเช่น การลุกลามของมะเร็งลำไส้ใหญ่ ด้วยคุณลักษณะพิเศษในการแพร่กระจายของ เซลล์มะเร็งส่วนใหญ่ที่ได้รับการถ่าย ทอดมาระหว่างการพัฒนาของก้อนมะเร็งต้นกำเนิด โดยในช่วงระยะเวลา 30 กว่าปี การเติบโตของมะเร็งในลำไส้ใหญ่จนกระทั่งกลายเป็นมะเร็งลุกลาม เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน ผิดปกติอย่างค่อยเป็นค่อยไป

2.7.4 การแพร่กระจายกับการพักตัวของเซลล์มะเร็ง

การตรวจพบ DTC ไม่ได้หมายความว่า จะเกิดการแพร่กระจายของมะเร็งเสมอไป หากแต่มีผู้ป่วยบาง รายที่ตรวจพบ DTC ขณะทำการผ่าตัดเพื่อกำจัดก้อนมะเร็งต้นกำเนิดและเกิดการกำเริบของมะเร็งใน ที่สุด จากการทดลองในสัตว์พบว่า มีเพียง 0.1% ของเซลล์มะเร็งที่หลุดออกจากก้อนมะเร็งต้นกำเนิดแล้วสามารถอยู่รอดต่อมาได้ อีกทั้งมีการเจริญเติบโตต่อมา เซลล์ DTC ส่วนใหญ่อาจไม่มีการแสดงออกของการแพร่กระจาย ของโรค นั่นคือ อยู่ในภาวะการพักตัว (dormancy) นั่นเอง

จากการศึกษาทดลองของอวัยวะภายในพบว่า การพักตัวของเซลล์มะเร็งแบ่งเป็น 2 ประเภท ประเภท แรก เป็นเซลล์มะเร็งแบบเดี่ยว isolated tumor cells (ITCs) อยู่ในสภาวะนิ่งสงบ เซลล์ไม่มีการแบ่งตัวและ ไม่ตาย ประเภทที่สอง เป็นการพักตัวก่อนการแพร่กระจายในกระแสเลือด การเพิ่มจำนวนและการตายของ เซลล์อยู่ในภาวะสมดุล ก้อนมะเร็งไม่มีการขยายตัว เซลล์มะเร็งในสภาวะทั้งสองมีการตอบสนองต่อการรักษา ที่แตกต่างกัน สำหรับเซลล์ที่มีการแบ่งตัวแต่ยังไม่ได้แพร่กระจายสู่กระแสเลือด จะมีการตอบสนองต่อการ รักษาด้วยสารพิษทำลายเซลล์แบบเฉพาะเจาะจง (Cytotoxicity) และการรักษาด้วยฮอร์โมน (Endocrine therapy) สำหรับการรักษาด้วยการยับยั้งขบวนการสร้างเส้นเลือดใหม่ของมะเร็ง (anti-angiogenic therapy) สามารถยับยั้งขบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งในกระแสเลือดได้ โดยในทางตรงกันข้าม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ที่พื้กตัวอย่างสงบนิ่งกลับไม่ได้รับผลกระทบจากการรักษาด้วยการทำลาย เซลล์แบบเฉพาะเจาะจง การทำให้เซลล์เป็นพิษไม่อาจหยุดยั้งกระบวนการแพร่กระจายในภายหลังได้

แนวคิดที่อธิบายเกี่ยวกับการพื้กตัวของมะเร็งมี 2 แนวคิด แนวคิดแรกคือ การเจริญเติบโตของมะเร็งหยุดชะงักลง เซลล์มะเร็งที่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือไม่มีหลอดเลือดมาหล่อเลี้ยงทำให้เซลล์ หยุดการเติบโตอยู่ในอวัยวะที่พื้กตัวในระยะยาว จากการทดลองพบว่า เซลล์ที่พื้กตัวอยู่ในระยะ G0/G1 สัญญาณจากขอบผิวเซลล์ (extracellular matrix: ECM) และตัวรับสัญญาณของเซลล์มะเร็ง (Tumor cell receptor) มีการแสดงออกที่ลดลง แนวคิดที่สองคือ การกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ นั่นคือ การรักษาภาวะสมดุลระหว่าง การเพิ่มจำนวนและการตายของเซลล์มะเร็งภายใน กระแสเลือด

ความเป็นไปได้ของกลไกในการพื้กตัวของเซลล์มะเร็ง ได้แก่

- 1) หลังจากเซลล์มะเร็งหลุดออกจากมะเร็งต้นกำเนิดแล้ว ยีนมะเร็งจะสูญเสียปัจจัยในการดำรงชีวิต ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของการมีชีวิตไป
- 2) ภายในอวัยวะที่เซลล์มะเร็งอาศัยอยู่ขาดสภาพที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิด การสร้างหลอดเลือดใหม่ที่จะไปหล่อเลี้ยงเซลล์มะเร็ง
- 3) ขาดการกระตุ้นให้ยีนเจริญเติบโตหรือตัวรับสัญญาณในอวัยวะนั้นมีการตอบสนองลด ลง
- 4) ความหลากหลายของอวัยวะ (polymorphisms) ทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ทาได้ช้าลง
- 5) กระตุ้นการทำงานของยีนยับยั้งการแพร่กระจาย (Metastasis suppressor gene) ยีน stress-response gene หรือยีนอื่นๆ ที่ควบคุมการแสดงออกของยีน (Transcriptional control) โดยยีนเหล่านี้ มีความจำเป็นต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนและ/หรือการเปลี่ยนแปลงยีนอื่นๆ หลังการ ฝังตัวของเซลล์มะเร็ง
- 6) สัญญาณผิดปกติของการยึดเกาะ (Adhesion factor) ผนังหลอดเลือดหรือการเกิด อุปสรรคในระบบสื่อสารสัญญาณของเซลล์ epithelial-mesenchymal cells
- 7) ปัจจัยของภูมิคุ้มกันในร่างกาย การแพทย์ปัจจุบันเห็นว่า ยีนยับยั้งเซลล์มะเร็งมี ความสำคัญต่อกระบวนการพื้กตัวของเซลล์มะเร็ง โดยยีนในตระกูลนี้ ประกอบด้วย MAPK ไคเนส 4 (MKK4) และ RHO G12 ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของ JNK และ p38 โดยความแรง ของสัญญาณ JNK และ p38 จะทำให้เกิดการตายของ DTC ที่เป็นเซลล์เดี่ยว แต่หากสัญญาณ ค่อนข้างอ่อนก็จะทำให้เซลล์มะเร็งหยุดเจริญเติบโตหรือเกิดการ พื้กตัวของเซลล์ ยีนยับยั้งการ แพร่กระจายนี้มีคุณสมบัติค่อนข้างแน่นอน มีการกลายพันธุ์น้อยมาก อีกทั้งยังมีการแสดงออกต่อ มะเร็งเป็นการเฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับคำถามที่ว่า ในสภาพการณ์เช่นใดที่ปลูกให้เซลล์มะเร็ง DTC ตื่นขึ้นจากการพักตัวเข้าสู่ภาวะการแพร่กระจายของโรคนั้น ยังไม่เป็นที่แน่ชัด มีรายงานกล่าวว่า ระหว่างสภาวะการแบ่งตัวกับการตายของเซลล์มะเร็ง สามารถรักษาคุณภาพไว้ได้เป็นระยะเวลานาน ซึ่งอาจยาวนานถึงหลายสิบปี ทั้งนี้ เซลล์มะเร็งแพร่กระจายที่อยู่ในระยะแฝง (latent period) ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นนั้น แท้จริงแล้วก็คือผลจากการรักษาภาพสมดุลงดกล่าว โดยทั่วไปมักเข้าใจกันว่าสาเหตุของการฟื้นจากระยะพักตัวของเซลล์มะเร็ง DTC นั้นมีความสัมพันธ์กับปัจจัยของสภาพแวดล้อมในเซลล์มะเร็ง สภาพร่างกายที่แตกต่างกันและพันธุกรรม เป็นต้น

2.7.4.1 การแพร่กระจายกับเซลล์มะเร็งต้นกำเนิด (CSCs)

ทางการแพทย์ค้นพบว่า มีการคงอยู่ของเซลล์ต้นกำเนิดของมะเร็ง (cancer stem cells, CSCs) ในมะเร็ง solid tumor ที่สำคัญ ได้แก่ มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ มะเร็งรังไข่ มะเร็งตับอ่อนและมะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น โดยปริมาณสัดส่วนของ CSCs ที่ตรวจวัดได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับวิธีการตรวจวินิจฉัย เช่น ปริมาณสัดส่วนของ CSCs ในมะเร็ง melanoma เมื่อตรวจวัดตามวิธีการมาตรฐานทั่วไปพบว่ามีสัดส่วน 1/837,000 เซลล์ หากใช้ระบบการตรวจสอบสมัยใหม่ กลับตรวจพบในสัดส่วนถึง 1/4 ทั้งนี้ Croker และคณะได้พบว่าเซลล์มะเร็งที่มี CD44+ แม้จะเป็นเพียงส่วนน้อยของเซลล์มะเร็งแต่ก็มีคุณลักษณะเฉพาะของเซลล์ต้นกำเนิด โดยรูปแบบของการแพร่กระจายจากก้อนมะเร็งต้นกำเนิดจะมีความสามารถในการแพร่กระจายสูง

เซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดปกติ หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของ Progenitor cells และยังสามารถมาจากการแบ่งตัวทดแทนของเซลล์กลายพันธุ์ ทำให้มีคุณสมบัติพิเศษเช่นเดียวกับเซลล์ต้นกำเนิดในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมาทางการแพทย์พบว่า CSCs ยังสามารถพัฒนาจากเซลล์มะเร็งธรรมดาได้ด้วย เนื่องจากยีนของเซลล์มะเร็งมักไม่มีความแน่นอน ทั้งมีศักยภาพในการพัฒนาตัวเองเป็นเซลล์ชนิดต่างๆ ได้ ในการบำบัดทางเคมีและ/หรือการใช้รังสีบำบัดนั้น แม้ว่าจะมีการควบคุมปริมาณการใช้ยาในการรักษาทางคลินิก แต่ก็ยังคงมีโอกาสสร้างความเสียหายต่อ DNA ได้ ภายใต้ข้อจำกัดของร่างกายนี้เอง ทำให้เซลล์มะเร็งที่มีความเข้มแข็งในการเติบโตมากกว่าย่อมจะมีโอกาสขยายตัว ได้ในที่สุด และกลายเป็นเซลล์มะเร็งที่มีคุณลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิด (stem-like cancer cells, SLCCs)

มีความเป็นไปได้ว่า ส่วนหนึ่งของ DTC ที่อยู่ภายในก้อนมะเร็งต้นกำเนิดเดิมก็คือ CSCs และอาจเป็นไปได้ดีกว่าไซกระดุกที่อยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมเซลล์แบบใหม่ได้รับ คุณลักษณะเฉพาะของเซลล์ต้นกำเนิดมาด้วย เซลล์ต้นกำเนิดที่เป็นปกติย่อมจะมีการตอบสนองตามธรรมชาติด้วยการต่อต้าน กระบวนการบำบัดทางเคมี นั่นคือ กลไกการดื้อยาที่ใช้ในการรักษาด้วยเคมีบำบัด ด้วยการขับสารเคมีออกจากเซลล์ก่อนจะก่อให้เกิดความเสียหาย (เช่น multidrug resistant, MDR) กลไกในการซ่อมแซม DNA และการลดอัตราการแบ่งตัวทดแทนของเซลล์ ซึ่ง CSCs ที่กลายพันธุ์มาจากเซลล์ต้นกำเนิดปกติ ก็มีโปรตีนที่สามารถต่อต้านการรักษาด้วยเคมีบำบัดเช่นกัน ดังนั้น CSCs ที่สามารถอยู่รอดมาได้จากการรักษาด้วยเคมีบำบัดนี้ จะกลายเป็นสาเหตุสำคัญของการเจริญเติบโตและแพร่กระจายของมะเร็งในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.4.1.1 การตรวจคัดกรองมะเร็งระยะแพร่กระจาย (micrometastases)

เมื่อ ปี 1869 ตั้งแต่มีการพิสูจน์และรายงานว่ามี การพบเซลล์มะเร็งบริเวณรอบนอกของกระแสเลือดเป็นครั้งแรกนั้น การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับมะเร็งระยะแพร่กระจาย (micrometastases) ก็ได้กลายเป็นประเด็นร้อนของวงการศึกษาศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง การแพร่กระจายของมะเร็ง (micrometastases) หมายถึง มะเร็งที่หลงเหลืออยู่ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ เนื้อเยื่อของเหลว และเซลล์ปลูกถ่าย cellular transplant ในร่างกายที่ตรวจพบด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ขนาด microscopic scale) หรือกล้องอิเล็กตรอน (ขนาด submicroscopic) ซึ่งการตรวจวินิจฉัยตามขั้นตอนคลินิกปกติทั่วไปไม่อาจตรวจพบการแพร่กระจาย ของมะเร็งที่หลบซ่อนตัวอยู่ภายนอกก้อนมะเร็งต้นกำเนิดและก้อนเนื้อร้ายที่ไม่ มีระบบเลือดหล่อเลี้ยงใน ปี 1993 จากเอกสารเพิ่มเติมในการจำแนกประเภทของโรคมะเร็ง (TNM Supplement 1993 : A Commentary of Uniform Use) ซึ่งได้รับการตีพิมพ์โดย สมาพันธ์ควบคุมโรคมะเร็งสากล (International Union Against Cancer, UICC) ระบุว่า เมื่อก้อนมะเร็งที่แพร่กระจายไปยังอวัยวะที่อยู่ห่างออกไปมีการเติบโตขึ้นจน ถึงขนาด 1 มม. ~ 2 มม.แล้ว เรียกว่า มะเร็งระยะแพร่กระจาย micrometastases

สำหรับผู้ป่วยที่อาจมีมะเร็งระยะแพร่กระจายแฝงเร้นอยู่นั้น แพทย์มักจะให้การ รักษาที่เป็นทางเลือกเสริม (adjunctive therapy) แต่การรักษาชนิดนี้ยังมีปัญหาใหญ่ 2 ข้อ คือ ข้อแรก มะเร็งของผู้ป่วยเหล่านี้ ยังไม่แน่ว่าจะเกิดการแพร่กระจาย เพียงการรักษา ก้อนมะเร็งต้นกำเนิดก็สามารถรักษาหายได้ การรักษาด้วยทางเลือกเสริม จึงไม่มีความจำเป็น ทั้งอาจนำมาซึ่งผลร้ายข้างเคียงตามมาอีกมาก ข้อสอง ถึงแม้ว่าได้ทำการรักษาไปแล้ว แต่ ยังคงมีผู้ป่วยจำนวนมากที่เกิดอาการกำเริบของโรคในภายหลัง กล่าวโดยทั่วไปแล้ว การ รักษาด้วยทางเลือกเสริม สามารถลดความเสี่ยงในการกำเริบของมะเร็งได้เพียง 57% เท่านั้น นอกจากนี้ ผู้ป่วยบางรายที่ประสบความสำเร็จจากการรักษาในครั้งแรก แม้ว่าจะยังมีการ แพร่กระจายของโรค แต่ก็ยังสามารถมีชีวิตต่อมาได้อีกหลายปี

อย่างไรก็ตาม การตรวจคัดกรองเพื่อหามะเร็งระยะแพร่กระจายตั้งแต่ระยะแรกนั้น มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการกำหนดแนวทางและวิธีการรักษาโรคที่ถูกต้องเหมาะสม โดยทั่วไป การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา ด้วยวิธีการย้อมสี (Hematoxylin & Eosin, HE) ซึ่งเป็นวิธีปกติของการตรวจหาการแพร่กระจายของมะเร็งต่อมน้ำเหลืองนั้น ในตัวอย่างหนึ่ง จำเป็นต้องตัดเนื้อเยื่อออกเป็นหลายสิบชิ้นหรือหลายร้อยชิ้น ซึ่งเป็นงานที่ไม่น้อยเลย อีกทั้ง เซลล์มะเร็งส่วนน้อยที่ยังไม่เกิดการแพร่กระจายของมะเร็งก็ยากจะตรวจ พบได้ ดังนั้น ใน หลายปีมานี้จึงใช้วิธีการตรวจคัดกรองด้วยวิธีนี้

น้อยมาก ปัจจุบันมีวิธีการตรวจคัดกรองที่สำคัญ ได้แก่

- 1) อิมมูโนพยาธิวิทยา (Immunohistochemistry) สามารถตรวจดูสภาพ ของเซลล์มะเร็งระยะแพร่กระจายได้โดยตรง วิธีการตรวจหาทำได้ง่ายและสะดวก มีความแม่นยำและมีความจำเพาะสูง แต่มีข้อบกพร่องคือ ยังมีการตอบสนองของ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนติบอดีที่ซ้อนทับข้ามกัน (Tissue Cross-Reactivity: TCR) ทำให้เกิดผลบวก และผลลบที่เป็นเท็จได้ง่าย

2) เทคนิคการนับและการแยกเซลล์ด้วยวิธี flow cytometry (FCM) สามารถนับเซลล์มะเร็งในไขกระดูกตัวอย่างได้โดยตรง อีกทั้งสามารถคัดแยกเซลล์เหล่านี้เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไปตลอดกระบวนการดังกล่าวเป็นไปด้วยระบบเครื่องมืออัตโนมัติทั้งสิ้น (ในห้องปฏิบัติการ) ทำให้ช่วยลดปัจจัยรบกวนอื่นได้

3) ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) และ ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบย้อนกลับ (Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) การใช้เทคนิค PCR สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ของเซลล์มะเร็งได้อย่างจำเพาะเจาะจงเป็นจำนวนมาก ส่วนการตรวจหาด้วยเทคนิค RT-PCR นั้น คือการนำ messenger RNA ที่เป็น genetic marker มาผ่านกระบวนการเพิ่มจำนวนเซลล์หรือเนื้อเยื่อมะเร็งอย่างจำเพาะเจาะจง เพื่อตรวจหาการคงอยู่ของเซลล์มะเร็ง โดยในปัจจุบัน การตรวจหา genetic marker ของมะเร็งด้วย RT-PCR เป็นวิธีการตรวจคัดกรองมะเร็งแพร่กระจายในระยะแรกที่เหมาะสมที่สุด โดยมีความละเอียดถึง 10⁻⁷-8 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เหมาะสำหรับการตรวจหาที่มีตัวอย่างยื่นเป้าหมายหรือเซลล์มะเร็งในปริมาณน้อย

4) Immunomagnetic separation (IMS) โดยใช้ magnetic beads ที่เคลือบด้วย Anti-CEA Monoclonal antibody เพื่อคัดแยกเซลล์มะเร็งที่อยู่นอกระบบเลือดของผู้ป่วยออกมา โดยสามารถเพิ่มความละเอียดของการตรวจเซลล์มะเร็งระยะแพร่กระจายได้

2.7.4.1.2 การรักษาด้วยการยับยั้งการแพร่กระจาย (Antimetastatic therapy)

การรักษาเซลล์มะเร็งลุกลามในระยะสุดท้ายและการกำเริบจากการแพร่กระจายของมะเร็งก็คือ การมีภูมิคุ้มกันต้านทาน การกำเริบของมะเร็งภายหลังการรักษาอย่างเป็นระบบอาจมีสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงของยีนทำให้กลไกภายในเซลล์เปลี่ยนไป ทำให้เกิดการดีอียา แม้ว่ายีนกลายพันธุ์ที่เป็นตัวรับปัจจัยการเติบโต (The epidermal growth factor receptor , EGFR) ของมะเร็งปอดมีการตอบสนองต่อยับยั้งไคเนส (Kinase inhibitors) ของ EGFR แต่เนื่องจากการกำเริบของโรคซ้ำมักมีสาเหตุจากการกลายพันธุ์ของ EGFR อย่างต่อเนื่องจนทำให้เกิดกลไกของการดีอียา และทำให้มะเร็งสามารถแพร่กระจายได้ง่ายขึ้น

นอกจากนี้ บางครั้งการรักษายังสามารถส่งผลต่อรูปแบบและกระบวนการในการแพร่กระจายทาง อ้อม ซึ่งกลายเป็นปัจจัยสนับสนุนให้เกิดการแพร่กระจายในอวัยวะที่พิเศษ เช่น มะเร็งเต้านมชนิดที่มี ERBB2 (หรือรู้จักในนาม Her2) เป็นผลบวก หลังจากใช้ยา trastuzumab (Herceptin) ต่อด้าน ERBB2 ในการรักษา อาจทำให้อัตราการเกิดมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพร่กระจายในสมองเพิ่มขึ้น นั่นเป็นเพราะคุณลักษณะพิเศษของความเป็น “หลุมหลบภัย” (sanctuary) ของสมอง เซลล์มะเร็งสามารถเติบโตในระบบประสาทส่วนกลาง เนื่องจากมีปราการป้องกันจากเส้นเลือดในสมอง จึงสามารถหลบหนีจากผลการออกฤทธิ์ของยา

สำหรับการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปัจจัยในการปรับตัวของเซลล์มะเร็งระยะพักตัวและการพัฒนาการแพร่กระจาย ตลอดจนปัจจัยอื่นๆ ของสภาวะแวดล้อมรอบเซลล์มะเร็ง นั้น จะมีส่วนช่วยต่อการค้นหาวิธีการรักษาใหม่ๆ ทั้งนี้ ยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ของมะเร็ง (Antiangiogenesis) ยาในกลุ่ม Monoclonal antibody การใช้วัคซีน Synthetic peptides หรือ การใช้สารโมเลกุลเล็ก (Small molecule inhibitors) ยาทาลิโดไมด์ (thalidomide) และการรักษาด้วยยีนบำบัด (Gene Therapy) โดยยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งในหลอดเลือดแบบจำเพาะเจาะจง (Targeted therapy)

2.7.4.1.3 การรักษาเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดแบบมุ่งเป้า (Targeted therapy)

ทางการแพทย์ได้พิสูจน์แล้วว่า มีหลักฐานของการดำรงอยู่ของเซลล์มะเร็งต้นกำเนิด (CSCs) ซึ่งมีส่วนในการพัฒนาของมะเร็งและทำให้เกิดการดื้อยา ปัจจุบัน มีแผนการรักษา CSCs แบบมุ่งเป้าใน 2 แนวทาง แนวทางแรกคือ การกำจัดเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดโดยตรง เช่นการใช้ Monoclonal antibody หรือการทำให้ไฟโนโทป์ของ CSCs เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นชนิดที่มีคุณสมบัติในการบุกรุกน้อยลง แต่การรักษาตามกระบวนการมาตรฐานในปัจจุบันยากจะเกิดผลในการรักษาได้ จำเป็นต้องมีการบุกเบิกคิดค้นหาวิธีการรักษาแบบใหม่

Bauerschmitz และคณะ ได้นำตัวอย่างของเหลวจากช่องอกของผู้ป่วยมาคัดแยกหาเซลล์ subgroup ของไฟโนโทป์ของ CSCs ออกมา โดยพบว่าเชื้อไวรัส Oncolytic เมื่ออยู่ภายนอกร่างกายจะมีคุณสมบัติในการยับยั้ง CSCs ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากกรณีศึกษาของผู้ป่วยจำนวนหนึ่งไวรัสนี้สามารถทำลาย subgroup ดังกล่าวนี้ได้ทั้งหมด จากตัวอย่างทดลองในหนูที่เพาะเชื้อมะเร็งเต้านมจากไขมัน โดยได้ฉีดไวรัสชนิดพิเศษนี้ให้ ผลปรากฏว่าแม้จะไม่สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งได้ทั้งหมด แต่ก็หยุดการเจริญเติบโตของมะเร็ง

การใช้ Monoclonal antibody หนึ่งชนิดหรือหลายชนิดเป็น Marker ที่ตอบสนองต่อ CSCs มีโอกาสเห็นผลในการรักษาได้ระดับหนึ่ง เมื่อเร็วๆ นี้มีรายงานว่าแอนติบอดี CD44+ จากมนุษย์ชนิดหนึ่ง (ARH460-16-2) สามารถยับยั้งการเติบโตแพร่กระจายของมะเร็งเต้านม

โปรตีนในกลุ่ม Integrins สามารถควบคุมการปรับตัวในการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดย Integrins สามารถจับตัวเข้ากับส่วนประกอบของสารเคลือบเซลล์ (ECM) ได้โดยตรง ทำให้เกิดการเคลื่อนตัวและบุกรุกของเซลล์ นอกจากนี้ ยังมีส่วนสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดต่อการเพิ่มจำนวนและการแพร่กระจายของเซลล์ มะเร็ง สภาวะแวดล้อมของเซลล์มะเร็งประกอบด้วยเซลล์ที่พักอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก ได้แก่ เซลล์เยื่อบุผิวของผนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดเลือด (Endothelial cells) เซลล์บริเวณผนังหลอดเลือดฝอยและล้อมรอบ (Perivascular cells) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (Fibroblasts) (เซลล์ผิวที่คอยผลิตคอลลาเจน และอีลาสติน ซึ่งสูญเสียไปตามธรรมชาติ) และเซลล์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (inflammatory cell) โดยเซลล์เหล่านี้ทำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่สร้างท่อน้ำเหลืองใหม่ ปฏิกริยาที่เกิดจากการซ่อมแซมเนื้อเยื่อใหม่ (Desmoplasia) และการอักเสบ ซึ่งช่วยให้มะเร็งพัฒนาตัวขึ้น ขณะที่ Integrins ที่อยู่บริเวณเปลือกผิวของเซลล์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญยิ่งต่อกระบวนการดังกล่าว จากหลักฐานที่พิสูจน์ว่า Integrins มีการแสดงออกที่ชัดเจนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณเปลือกผิวเซลล์ที่มีเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการรักษาด้วย Integrins แบบมุ่งเป้า จึงสามารถควบคุมการแพร่ขยายของมะเร็งได้

ปัจจุบันได้มีการให้ความสำคัญอย่างมากต่อการนำแนวคิดพันธุศาสตร์ด้านกระบวนการเหนือพันธุกรรม (Epigenetic) มาประยุกต์ใช้ในการรักษามะเร็ง แนวคิดดังกล่าวที่สร้างความแตกต่าง ได้แก่ การ hypermethylation และ hypomethylation ของดีเอ็นเอ ตลอดจน การตัดแปลงโปรตีนฮิสโตน (histone modifications) ทำให้เกิดโครงสร้างใหม่ในการย้อมสีของโครมาติน (chromatin) เป็นเหตุให้การแสดงออกของยีนทั่วไปผิดปกติเป็นจำนวนมาก ซึ่งแตกต่างจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุศาสตร์ (Genetics) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งตามแนวคิดกระบวนการเหนือพันธุกรรม หรือ Epigenetic สามารถทำให้เกิดปฏิกริยาย้อนกลับ (undo) ได้ด้วยการควบคุม DNA Methylation และโปรตีน Histone acetylation ดังนั้น มีผู้ป่วยมะเร็งระยะพื้นฟูหรือก่อน

การรักษาทางคลินิกจำนวนมากที่ยอมเข้ารับยาในกลุ่มออกฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกของยีน ยาต้านมะเร็งที่สำคัญได้แก่ DNA methyltransferase inhibitor (DNMTi) และ Histone deacetylase inhibitors (HDACi) โดยยาเหล่านี้ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรค มะเร็ง โดยสามารถใช้รักษาเพียงลำพังหรือใช้ร่วมกันในการรักษา ใช้กับการบำบัดด้วยรังสี (radiation therapy) หรือวิธีการรักษาด้วยฮอร์โมนบำบัด (Hormone therapy)

2.7.4.2. ระบบภูมิคุ้มกันบำบัดแบบมุ่งเป้า (Immune Targeting Systems: ITS)

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายนั้น มีความสำคัญต่อการพัฒนาและการแพร่กระจายของมะเร็งอย่างยิ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออยู่ในระยะแพร่กระจายของมะเร็ง ได้มีการใช้วัคซีนของมะเร็งในการรักษามะเร็งปากมดลูกและมะเร็ง Melanoma โดยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในเซลล์ต่อมน้ำเหลืองแบบเฉพาะเจาะจงให้ต่อต้านมะเร็ง Cui และคณะพบว่า มะเร็งที่ผ่านการสังเคราะห์จากหนูที่พบได้ยากชนิดหนึ่งสามารถทำลายตัวเองตามธรรมชาติ โดยพบว่า มะเร็งในหนูทดลองถูกเซลล์เม็ดเลือดขาวหลายชนิดกำจัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเซลล์เหล่านี้ประกอบด้วย แมคโคเฟจ (Macrophage), นิวโทรฟิล (neutrophil), NK cell (Natural Killer Cell) เป็นต้น เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ได้จากหนูต้านมะเร็งเหล่านี้สามารถรวมตัวกันอย่างแน่นหนาบริเวณโดยรอบของเซลล์มะเร็งชั้นเป็นชั้นๆ รวกลีบกุหลาบ ทำให้เซลล์มะเร็งเน่าตาย วิธีการตรวจจับของภูมิคุ้มกันในสารก่อภูมิแพ้ (Allergens) ชนิดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สว่นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียวกันแตกต่างจากวิธีการรักษามะเร็งด้วย T Cell ซึ่งได้รับการพิสูจน์แล้วว่าได้ผลในการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง Melanoma จำนวนหนึ่ง สำหรับรับการทดลองในกลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรงพบว่า ยังมีเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่สามารถทำลายเซลล์มะเร็งได้น้อยอยู่ จากการศึกษาในหนูต้านมะเร็งและตัวอย่างจากผู้ป่วยจริงได้พิสูจน์ถึงการคงอยู่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งได้

การศึกษาเกี่ยวกับมะเร็งในอเมริกาได้เริ่มวางกลยุทธ์ในการรักษาแบบใหม่ใน ระยะที่ 2 โดยมีเป้าหมายเพื่อตรวจวัดผลของการรักษาและการเกิดผลข้างเคียงจากจากใช้ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มียื่นก่อภูมิแพ้ (Allergens) นี้ จากการศึกษาทางคลินิกพบว่า วิธีการรักษาแนวใหม่นี้อาจสามารถนำมาใช้ในการรักษาเพื่อยับยั้งมะเร็งระยะ แพร่กระจาย โดยกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งทั้งหมดหรือบางส่วนเกิดการฝ่อตัว

วัคซีนดีเอ็นเอ (DNA Vaccines) มีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็ง Xiang และคณะได้ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ *Salmonella typhimurium* เจือจางลง โดยจัดทำเป็นวัคซีนดีเอ็นเอแบบรับประทานได้ 4 ชนิด และได้ทดลองกับหนูเพื่อพิสูจน์ว่า วัคซีนดังกล่าวสามารถยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็งได้ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ของมะเร็ง มีการเพิ่มจำนวนของ T cell ที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง กระตุ้นการทำหน้าที่ของ NK cell และ dendritic cell (DC)

Adoptive Cellular Immunotherapy การรักษาโดยการย้ายเซลล์ที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งเข้าไปในร่างกายผู้ป่วย ได้แก่ T cell และ dendritic cell (DC) เป็นต้น จากกรณีตัวอย่างผู้ป่วยที่คัดเลือกไว้พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาค่อนข้าง ดี Hunder และคณะประสบความสำเร็จในการใช้แอนติบอดี NY-ESO-1 ร่วมกับ CD4+ T cell ทำให้ผู้ป่วยโรคมะเร็ง Melanoma ที่รักษาด้วยวิธีการอื่นๆ ให้มีภูมิคุ้มกัน โดยผู้ป่วยมีการตอบสนองดีมาก รอยโรคเก่ายุบหายไปหมด ทั้งนี้ มีผู้พบว่า memory cell ชนิด CD8+ ที่ได้จากเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cell) สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองอย่างแรงต่อภูมิคุ้มกันมะเร็ง (antitumor immunity) โดยเซลล์ในกลุ่มนี้ที่อยู่รอดมาได้ด้วยยาที่เลียนแบบแนวทางการส่งสัญญาณของ Wnt เกิดเป็น T cell ที่เป็นภูมิคุ้มกันมะเร็ง (T Cell Wnt Signaling) ซึ่งแม้จะมีเพียงจำนวนน้อย (40,000 เซลล์) ก็สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์มะเร็ง Melanoma ได้เป็นจำนวนมาก (พันล้านเซลล์)

คุณสมบัติพิเศษของเซลล์มะเร็งก็คือคุณสมบัติในการกลายพันธุ์ ซึ่งพบได้จากจำนวนเซลล์ที่แตกต่างไปเมื่อถูกย้อมสี และระดับการสูญเสียหรือขยายตัวของยีนย้อมสีที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีลักษณะการแสดงออกของยีนทางชีววิทยาที่แตกต่างกันไป (เช่น การเจริญเติบโตได้ดีความสามารถในการปรับเปลี่ยนตัวเอง คุณสมบัติในการดื้อยา/รังสีรักษา เป็นต้น) แอนติบอดีและปัจจัยภูมิคุ้มกัน (Immune Factors) จึงให้ผลที่ไม่เหมือนกันต่อเซลล์มะเร็งที่แตกต่างกัน เนื่องจากการรักษาด้วยภูมิคุ้มกันที่ต่างต่างนั้น มีกลไกและผลรับที่ไม่เหมือนกันเสียทีเดียว ดังนั้น การรักษาด้วยแอนติบอดีเพียงชนิดเดียวอาจไม่สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งได้ทั้งหมด การใช้วิธีการรักษาด้วยแอนติบอดีหลายชนิดร่วมกัน น่าจะเป็นกลยุทธ์ที่น่าจะเป็นไปได้ในเวลานี้ ปัจจุบัน ในหมู่แอนติบอดีที่ใช้ในการรักษาทางคลินิกนั้น วัคซีน DC ทำหน้าที่หลักเป็นแอนติเจน ส่วนเซลล์ CIK และ T cell ทำหน้าที่เป็นเซลล์พิษ ที่สามารถฆ่าเซลล์มะเร็งแบบเฉพาะเจาะจงได้โดยตรง โดยวัคซีนที่เพาะจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถเหนี่ยวนำให้แอนติบอดีต่อต้าน มะเร็งแบบไม่เฉพาะเจาะจง เป็นต้น ทั้งนี้ ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรดาวัคซีนเหล่านี้ทุกชนิดได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีส่วนต่อการรักษาโรค มะเร็ง หรือสามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งเกิดการ “พังก้าว” ซึ่งหากใช้วิธีการของภูมิคุ้มกันบำบัดหลายชนิดร่วมกัน หรือมีการใช้ตามลำดับขั้นตอนแล้ว ตามหลักการย่อมจะมีส่วนช่วยเสริมแรงซึ่งกันและกัน

การรักษามะเร็งด้วยภูมิคุ้มกันบำบัด (Immunotherapy) จำเป็นต้องเอาชนะอุปสรรคสำคัญ คือ การหลีกเลี่ยงของมะเร็งจากระบบตรวจสอบของแอนติบอดีในร่างกาย หรือการปรับตัวของเซลล์มะเร็งเข้ากับกลไกภูมิคุ้มกันในร่างกายจนกลายเป็น แอนติบอดีชนิดหนึ่งไป ปัจจุบัน ได้ศึกษาวิจัยว่าด้วยผลการรักษาแบบมุ่งเป้าโดยการควบคุมตัวรับสัญญาณการสนอง ตอบของแอนติบอดี

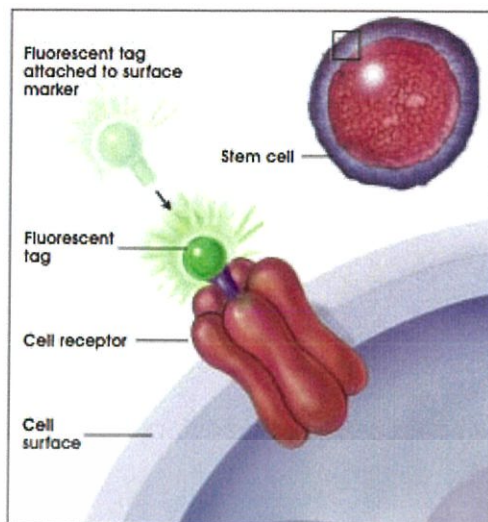
2.7.5 การใช้มาร์กเกอร์ (Marker) ในการหาแหล่งเซลล์ต้นกำเนิด

การใช้มาร์กเกอร์ (Marker) ในการหาแหล่งเซลล์ต้นกำเนิด เซลล์ต้นกำเนิดไม่ได้มีมากมายเหมือนเซลล์ทั่วไป เราอาจพบเซลล์ต้นกำเนิดเพียง 1 เซลล์ใน 100,000 เซลล์ทั่วไป ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงจำเป็นต้องหาวิธีการในการจับเซลล์ต้นกำเนิด นั่นก็คือการใช้ Marker โดย Marker นี้จะไปทำการเคลือบผิวของเซลล์ที่มีลักษณะโปรตีนที่จำเพาะ หรือที่เราเรียกว่า Receptor ซึ่งจะมีความสามารถในการเลือกจับหรือยึดเกาะติดกับโมเลกุลเซลล์ที่ปล่อยสัญญาณที่จำเพาะออกมา ดังนั้นหากเราเลือก Marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ชนิดที่เราต้องการก็ย่อมที่จะแยกความแตกต่างในส่วนของสัญญาณที่แตกต่างกัน จึงทำให้เราแยกชนิดของเซลล์ได้นั่นเอง แต่โดยมากแล้วไม่จำเป็นว่า เซลล์ชนิดนี้จะต้องจับกับ Marker ตัวนี้ตัวเดียวเท่านั้น ตัวอย่างเช่น เราใช้ CD34+ เป็น Marker ของ HSC แต่แท้ที่จริงนั้น ในส่วนของกลุ่ม CD34+ ที่เราจับได้นั้นมีหมายความว่าในนั้นมี HSC ปรากรวมอยู่ด้วย ไม่ใช่ว่า CD34+ ทั้งหมดนั้นเป็น HSC

2.7.5.1 ชนิดของมาร์กเกอร์ (Marker)

2.7.5.1.1. Fluorescent Tags

การใช้ Fluorescent tags ซึ่งจะไปจับกับ Cell receptor ที่ผนังของเซลล์ต้นกำเนิดที่จำเพาะต่อ Marker ชนิดนี้ ซึ่งจะพบการเรืองแสงของ Tag หรือไม้ก็ได้ หากเกิดการเรืองแสงเราก็จะใช้สัญลักษณ์ + แต่หากไม่พบการเรืองแสงก็จะใช้สัญลักษณ์ -



รูปที่ 2.61 Fluorescent Tags ไปจับกับ Cell receptor

2.7.5.1.2. Fluorescent-activated cell sorting (FACS)

เป็นการใช้เครื่อง Flow Cytometry ช่วยในการจำแนก โดยใช้หลักการของ Cell size และ Granularity ที่มีความแตกต่างกัน สามารถตรวจนับหรือวัดลักษณะจำเพาะของ particle และ เซลล์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใส่สารเรืองแสง เช่น Fluorescence or immuno-fluorescence เพื่อเป็น Surface marker และ Intracellular markers

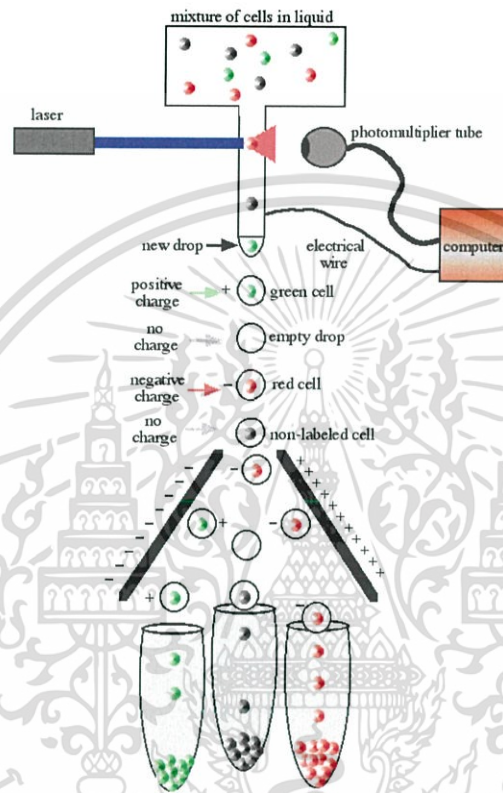
Fluidic system มีหน้าที่ในการสร้างกระแสการไหลของ Fluid หรือ Isotonic buffer saline solution ที่มีเซลล์ หรือ Particles ที่ต้องการตรวจนับเป็นแวนลอยอยู่ และมีตัวบังคับให้เซลล์ไหลเรียงเดี่ยว ด้วยความเร็วที่เท่าๆ กันให้ผ่าน Flow chamber ซึ่งมีตัวปล่อยแสง Laser ส่องมากระทบเซลล์ที่ไหลผ่าน * Optical system ทำหน้าที่สร้างลำแสง ซึ่งส่วนมากเป็นแสง Laser เนื่องจากเป็น monochromatic และ high intensity เมื่อลำแสงส่องกระทบเซลล์ที่ตกลงใน Flow chamber ก็จะทำให้เกิดการหักเหของแสง 2 แบบ คือ Forward scatter (low angle) ซึ่งจะแปรผันตามขนาดของเซลล์ และเกิดการหักเหแบบ Side scatter (high angle) ซึ่งจะแปรผันตาม granularity ของเซลล์นั้นๆ นอกจากนี้หากทำการย้อมสีก็จะพบการเรืองแสงตามชนิดของ dye นั้นๆ ออกมาทาง side scatter อีกด้วย

Detector system มีหน้าที่ตรวจรับสัญญาณแสงทั้ง 2 ชนิดที่ออกมา รวมทั้ง Fluorescent signal โดยมี photo-multiplier tube หรือ light detectors ทำหน้าที่รับสัญญาณแสงแล้วแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้า โดยจะมีตัว detector อย่างน้อย 4 ตัว (4 Channels) โดยมีสำหรับ forward scatter และ side scatter อย่างละ 1 ตัว อีก 2 ตัวที่เหลือสำหรับ fluorescent สีเขียว (ที่ 525 nm ของ fluorescein isothiocyanate, FITC) และสีแดง (ที่ 575 nm ของ rhodamine phycoerythrin, RPE) อย่างละ 1 ตัว แต่สำหรับเครื่องที่มีประสิทธิภาพสูงจะมี Detector เพิ่มขึ้นอีก 2 ตัวสำหรับความยาวคลื่นแสงที่ 620

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

nm และ 675 nm รวมแล้วสามารถรับสัญญาณ Fluorescence ได้ทั้งหมด 4 channels

Data process system มีหน้าที่รวบรวมสัญญาณไฟฟ้าที่ได้รับมาจาก detector system แล้วนำไปประมวลผล เรียบเรียงให้เป็น histogram ซึ่งทั้งหมดนี้จะเป็นการทำงานของระบบคอมพิวเตอร์แล้วแสดงออกมาที่หน้าจอหรือพิมพ์ออกมาในกระดาษได้



รูปที่ 2.62 การจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดแบบ Fluorescent-activated cell sorting

2.7.5.1.3. Microscopic Image of Fluorescent-Label Stem cell

คือ การใส่ Reporter gene ที่เรียกว่า Green fluorescent protein or GFP เข้าไปในเซลล์ต้นกำเนิด โดยเซลล์ที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลง (differentiate) จะติดสีและเรืองแสงออกมา ในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดที่มีเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์จำเพาะอื่นๆแล้วจะไม่แสดง signal หรือเรืองแสงให้เห็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 Fluorescein isothiocyanate Isomer I



รูปที่ 2.63 สารประกอบ FITC (จาก Sigma Aldrich)

Fluorescein isothiocyanate Isomer I เรียกสั้นๆว่า FITC เป็นอนุพันธ์ของ fluorescein มีการใช้งานที่หลากหลายในกระบวนการ cytometry FITC สารต้นกำเนิดคือ fluorescein และทำปฏิกิริยากับกลุ่ม isothiocyanate ($-N=C=S$) แทนที่ hydrogen ด้านล่างของโครงสร้าง อนุพันธ์นี้เป็นปฏิกิริยาระหว่างนิวคลีโอไทด์ ร่วมกับเอมีน และหมู่ sulfhydryl

มีลักษณะเป็นผง เป็นสารเรืองแสงที่ใช้นำมาย้อมตัวอย่างที่สนใจ และในการเลือกใช้ในการทดลองและเลือกฟิลเตอร์ที่เหมาะสม และ Photo detector FITC มีพิคความยาวคลื่นของแสงกระตุ้น และแสงปลดปล่อยราวๆ 492 และ 518 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งอยู่ย่านแสงสีเขียว วิธีการใช้คือนำมาผสมน้ำกลั่น ในอัตราส่วนที่กำหนดไว้แต่ละชนิด เก็บในที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

แผนระเบียบวิจัย

3.1 แผนการดำเนินงาน

โครงการวิจัยนี้เป็นการออกแบบและสร้างกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์แบบพกพาที่สามารถใช้งานร่วมกับสมาร์ตโฟน และ โฟโต้ดีเทคเตอร์เพื่อนำสิ่งที่ตรวจจับได้มาวิเคราะห์ร่วมกับแอปพลิเคชันบนระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์โดยหลักการออกแบบจะแบ่งเป็น 2 ส่วนหลักๆ ได้แก่ ฮาร์ดแวร์ซึ่งคือส่วนของตัวกล้องจุลทรรศน์และส่วนของโฟโต้ดีเทคเตอร์ที่ออกแบบให้รองรับกับตัวกล้องจุลทรรศน์ที่ออกแบบไว้ และ ในส่วนซอฟต์แวร์ซึ่งคือส่วนของแอปพลิเคชันบนระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ในการนับจำนวนวัตถุและการแสดงผลบนกราฟฮิสโตแกรมของคลื่นแสงที่ตรวจจับได้ ซึ่งนอกจากนี้ยังมีการใช้โปรแกรม Zemax เพื่อที่จะหาค่าการหักเหและจำนวนกำลังขยายจากเลนส์ต่างๆ ส่วนตัวกล้องจุลทรรศน์จะมีการนำวัตถุใส่สไลด์แล้วย้อมสีฟลูออเรสเซนซ์ขึ้นมา ก่อนจากนั้นจะนำไปใส่กับกล้องจุลทรรศน์ที่สร้างขึ้นและติดกับตัวสมาร์ตโฟน จากนั้นจึงใช้กล้องถ่ายรูปบนสมาร์ตโฟนรับภาพและทำการประมวลผลโดยใช้หลักการทางอิมเมจโปรเซสซิ่งเพื่อนับจำนวนวัตถุหรือหากนำตัวกล้องไปใช้งานร่วมกับโฟโต้ดีเทคเตอร์ ก็จะสามารถเลือกใช้งานในแอปพลิเคชันเพื่อดูช่วงคลื่นแสงผ่านกราฟฮิสโตแกรมได้

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ขั้นตอนในงานดำเนินงานวิจัยในงานวิจัย มีดังนี้

- 3.2.1 การศึกษาหาข้อมูลต่างๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย รวมถึงข้อมูลต่างๆที่เกี่ยวข้องการออกแบบตัวกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ และกล้องจุลทรรศน์แบบพกพา
- 3.2.2 ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในการออกแบบกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ เช่น โปรแกรมต่างๆที่เกี่ยวข้องในการออกแบบบนคอมพิวเตอร์หรือการพัฒนาแอปพลิเคชันแอนดรอยด์เพื่อเพิ่มทักษะในการออกแบบชิ้นงาน
- 3.2.3 เริ่มทำการทดลอง ออกแบบชิ้นงานและแอปพลิเคชัน
- 3.2.4 ตรวจสอบจุดบกพร่องของชิ้นงานและทำการแก้ไขชิ้นงานให้ดีขึ้น

3.3 การออกแบบงานวิจัย

สำหรับงานวิจัยนี้แบ่งส่วนที่ดำเนินงานออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วน Analyze และ Simulate (เลนส์) ส่วนของฮาร์ดแวร์และส่วนซอฟต์แวร์

3.3.1 ส่วน Analyze และ Simulate

โดยในส่วนนี้ได้ใช้โปรแกรม Zemax OpticStudio คือซอฟต์แวร์ที่จำเป็นของแพลตฟอร์มสำหรับวิศวกรในทางออปติคอล เป็นซอฟต์แวร์ที่มีการผสมผสานกันของอินเตอร์เฟซในหน้าจอผู้ใช้งาน หลักการทางฟิสิกส์ที่ซับซ้อนและการแสดงผลแบบอินเตอร์แอคทีฟที่รวดเร็วในการประมวลผล ซึ่งช่วยลดค่าใช้จ่ายในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาได้ การใช้งานซอฟต์แวร์ทางออปติคอลนี้เป็นประโยชน์ต่อวิศวกร , นักวิจัยและบรรดานักวิทยาศาสตร์ทั้งหลายในการออกแบบเพื่อความสามารถในการวิจัย

Zemax เป็นเครื่องมือการออกแบบที่รวดเร็วและถูกต้องที่วิศวกรสามารถใช้งานออปติคอลผ่าน OpticStudio™ ได้ การตั้งค่าเครื่องมือแต่ละตัวเป็นขั้นตอนสำคัญในการออกแบบทางด้านวิศวกรรม กระบวนการการสร้างฟังก์ชันการทำงานหลักของซอฟต์แวร์ได้ การวิเคราะห์การปรับแต่งและการปรับแต่งของชุดเครื่องมือที่ประกอบไปด้วยที่หลากหลายของ algorithms ทางฟิสิกส์ เพื่อวิเคราะห์การจำลองและการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานระบบออปติคอลทั้งหมดอยู่ในข้อมูลจำเพาะและลดความคลาดเคลื่อน

โดยในตัวซอฟต์แวร์ Zemax OpticStudio นี้ ได้ประกอบไปด้วยเครื่องมือฟังก์ชันหลักๆในการทำงานที่ครอบคลุมดังต่อไปนี้

3.3.1.1. เครื่องมือการวิเคราะห์

เป็นการนำเอาเตียในการออกแบบระบบโดยมีแพลตฟอร์มซึ่งประกอบด้วยซอฟต์แวร์ที่ทำงานอย่างได้อย่างดีทั้งในทางอุตสาหกรรมและด้านการออกแบบ ที่มีการตั้งค่าที่ครอบคลุมการวิเคราะห์ และการจำลองการทำงานของเครื่องมือต่างๆในการสร้าง / ปรับปรุง , การส่องสว่าง , ออปติคอลไดรฟ์และระบบเลเซอร์

3.3.1.2. เครื่องมือการปรับปรุงประสิทธิภาพ

มีฟังก์ชันการปรับปรุงประสิทธิภาพและการทำงานของออปติคอลไดรฟ์ อีกทั้งการปรับปรุงการออกแบบการรัศมีของแสงตามที่ใช้กำหนด อีกทั้งยังประหยัดเวลาและลดความจำเป็นในการทำการทดสอบการออกแบบด้วยตนเองที่ต้องทำซ้ำ ๆ

3.3.1.3. เครื่องมือการหาเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน

เครื่องมือขั้นสูงและคุณสมบัติที่จะช่วยให้วิศวกรออกแบบการผลิตเพื่อหาข้อจำกัดของการออกแบบในการตรวจสอบให้แน่ใจว่าความสามารถในการผลิตและการใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพของการผลิต

3.3.1.4 Lens Data Editor

ใช้คอมพิวเตอร์ช่วยในการออกแบบเลนส์ตามลำดับ ลำแสงจะถูกตรวจสอบจากพื้นผิวแบบเดียวกับใน ครั้งถัดไปจะแสดงในรายการ ในการดำเนินการนี้ให้ Zemax OpticStudio จะใช้รูปแบบสเปรดชีทที่เรียกว่าตัวแก้ไขข้อมูลเลนส์ (LDE)

เมื่อเปิด Zemax OpticStudio LDE จะปรากฏขึ้นในหน้าต่าง OpticStudio Zemax หลักหน้าต่างหลักของ Zemax OpticStudio มีพื้นที่ว่างขนาดใหญ่พร้อมด้วยแถบชื่อเรื่อง แถบเมนู และแถบเครื่องมือที่อยู่ด้านบน LDE ที่เป็นส่วนหลักที่สเปรดชีทและเป็นที่ยึดที่มีการป้อนข้อมูลของเลนส์ได้ ส่วนของรายการหลักมีดังต่อไปนี้

Surf: Type ประเภทของพื้นผิว (มาตรฐาน , Asphere , การกระจายแสง , ฯลฯ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Comment	เป็นส่วนเสริมสำหรับการพิมพ์ข้อมูลความคิดเห็นที่เฉพาะเจาะจง
Radius	พื้นผิวรัศมีรัศมีโค้ง (ค่าผกผันของความโค้ง) ในชุดเลนส์
Thickness	ความหนาของชุดเลนส์ที่ไปตามรัศมีของพื้นผิว
Material	วัสดุพื้นผิวเช่น แก้ว , อากาศ ซึ่งแยกจากผิวหนึ่งและพื้นผิวในรายชื่อที่มีอยู่ใน LDE
Semi-Diameter	ขนาดครึ่งหนึ่งของพื้นผิวเลนส์

Edit Solves Options Help

Surf:Type	Comment	Radius	Thickness	Glass	Semi-Diameter
OBJ Standard		Infinity	Infinity		0.000000
STO Standard		Infinity	0.000000		0.000000
IMA Standard		Infinity			0.000000

รูปที่ 3.1 หน้าสเปรดชีทของตัวโปรแกรม

3.3.2 ส่วนของฮาร์ดแวร์

ในโปรเจกต์นี้ ได้ทำการออกแบบฮาร์ดแวร์โมเดลจากโปรแกรม Solidwork

3.3.2.1 SolidWorks

SolidWorks พัฒนาขึ้นในปี 1995 โดยบริษัทDassault System ในฝรั่งเศสเป็นซอฟต์แวร์เพื่อให้ทันกับผู้ใช้ เป็นเครื่องมือในการออกแบบทางวิศวกรรม เพื่อสร้างตัวอย่างผลิตภัณฑ์จำลองใน Computer ก่อนที่จะสร้างผลิตภัณฑ์ต้นแบบจริง โดยตัวซอฟต์แวร์จะจัดอยู่ในตระกูล CAD (Computer Aided Design) ซึ่งสามารถสร้างชิ้นงานจำลองในรูปแบบ 3D Solid Models เป็นแบบงานแยกชิ้น (Part) และแบบงานประกอบ (Assembly) เพื่อนำไปสร้างเป็น 2D Standard Engineering (CADD = Computer Aided Design and Drafting)

โปรแกรม Solidwork เป็นโปรแกรมที่มีความยืดหยุ่นในการทำงานสูงมาก คือ สามารถที่จะทำงานมากมายหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นชิ้นงานที่ต้องขึ้นเป็น solid หรือ surface ก็มีเครื่องที่รองรับเป็นอย่างดี เมื่อสร้างชิ้นงานเสร็จเรียบร้อยแล้วสามารถที่จะประกอบชิ้นงานได้ใน Mode ของชุดคำสั่ง Assembly รวมทั้งผู้ต้องการ Drawing ของชิ้นงาน ก็เพียงลากชิ้นงานมาวางในใบงานแล้วขนาด จะมองเห็นได้ว่าผู้ใช้งาน สามารถ ที่จะประหยัดเวลาในการทำงานและสนุกกับการทำงานอีกด้วย

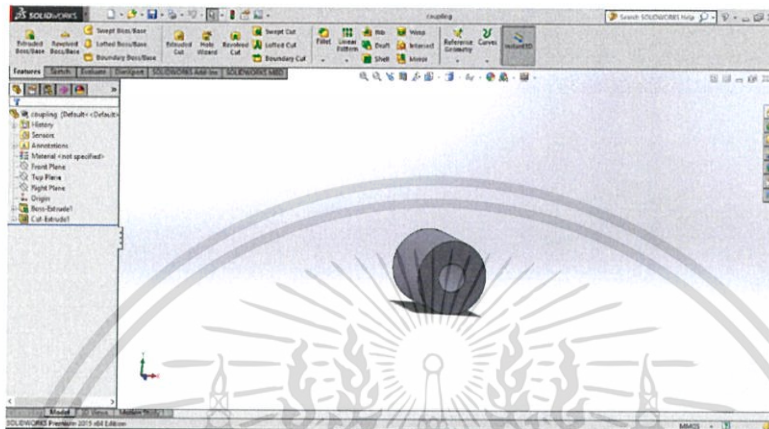
ประสิทธิภาพของ SolidWorksเป็นการเจาะลึกให้นักออกแบบสามารถสร้างชิ้นงานจำลองทางด้าน Mechanical Engineering Design ได้อย่างสมบูรณ์แบบ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ในการคำนวณทางวิศวกรรม และการตรวจสอบความผิดพลาดของ 3D Solid Models เพื่อลดต้นทุนในการผลิต และลดระยะเวลาการทำงานในการออกแบบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานในบริษัทและองค์กร

SolidWorksแบ่งหมวดการทำงานหลักออกเป็น 3 หมวดคือ Part, Assembly และ Drawing โดยรูปแบบการทำงานทั้ง 3 หมวดมีลักษณะการใช้งานดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.1.1 Part Mode

เป็นหมวดการทำงานเริ่มต้นก่อนที่จะก้าวสู่การทำงานในหมวด Assembly และ Drawing ในขั้นนี้จะมีการแบ่งการทำงานออกเป็น 2 ส่วน คือ การใช้ 2D Sketch เพื่อนำไปสู่การสร้างเป็น 3D Feature และมีเงื่อนไขเป็น Feature-Based Modeling และ Parametric โดยมีการอ้างอิงจาก Solid Mode



รูปที่ 3.2 Part Mode ใน Solidwork

1. Feature-Based Modeling คือ การออกแบบซอฟต์แวร์ให้สามารถทราบถึงคุณสมบัติต่างๆของ Solid Model ที่สร้างขึ้นมา เพื่อให้ผู้ใช้งานสามารถเปลี่ยนแปลงและแก้ไข Model ในลำดับการทำงานแต่ละขั้นได้ง่ายและรวดเร็ว
2. Parametric Model คือ การออกแบบซอฟต์แวร์ซึ่งใช้เงื่อนไขทางคณิตศาสตร์ในการแก้ไขขนาดรูปร่าง ทางเรขาคณิตของ Model ที่สร้างขึ้นมา
3. Solid Model คือ แบบจำลองบนคอมพิวเตอร์ที่สามารถแสดงค่าต่างๆ เช่น Density, Material, Mass, Weight เป็นต้น และยังสามารถมองเห็น 3D Model ได้ทุกมุมมอง

3.3.2.1.2 Assembly Mode

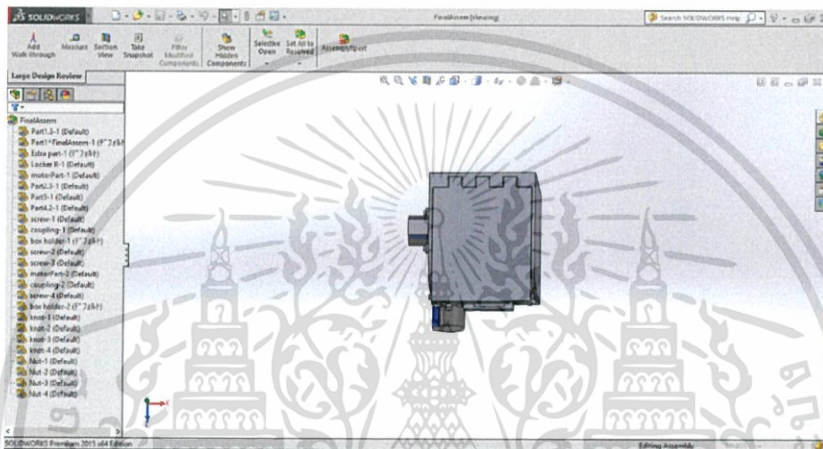
เป็นหมวดการทำงานเพื่อนำ Part Model เข้าไปประกอบเป็นเครื่องจักรกลหรือกลไกต่างๆ และมีเงื่อนไขเป็น Feature Base และ Parametric เช่นเดียวกับ Part Model โดย Part Model และ Assembly จะมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน เมื่อทำการแก้ไขในหมวดใด อีก หรือมีการประกอบที่ซ้อนหรือทับกันหมวดจะมีการเปลี่ยนแปลงตามการแก้ไขไปด้วย การทำงานใน Assembly สามารถช่วยให้นักออกแบบหรือวิศวกรสามารถตรวจสอบความผิดพลาดในการสร้าง Part ได้โดยการใช้คำสั่งต่างๆ เช่น คำสั่ง Interference Detection เพื่อตรวจสอบการขัดกันเมื่อมีการเคลื่อนที่ โดยใช้คำสั่ง Move Component เพื่อตรวจสอบการเคลื่อนที่ของกลไก คำสั่ง Simulation เพื่อจำลองต้นกำลังในการทำงานจริงของเครื่องจักร หรือหากชิ้นงานจำลองที่ออกแบบมีข้อผิดพลาด ก็สามารถแก้ไข Part

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน Assembly ได้เลย ทำให้การออกแบบเป็นเรื่องง่าย และผู้ออกแบบจะสนุกกับการทำงาน Design

การทำงานใน Assembly Mode มีลักษณะการทำงาน 2 กรณีได้แก่

1. Bottom-Up Assembly คือ การนำ 3D Models ต่างๆ ที่สร้างเสร็จแล้วใน Part Mode ไปวางในหน้าต่าง Assembly เพื่อทำการประกอบ โดยการใช้คำสั่ง Mate หรือ Smart Mate ซึ่งวิธีนี้จะเหมาะสำหรับผู้ใช้ในระดับเริ่มต้นหรือขั้น Basic
2. Top-Down Assembly คือการสร้าง 2D Sketch เป็นโครงร่างระหว่างชิ้นส่วนต่าง ๆ ระหว่าง Part หรือการสร้าง Part ใน Assembly โดยให้มีขนาดและรูปร่างที่มีการอ้างอิงกับ Part อื่น ๆ ทั้งในส่วน Sketch และ Feature วิธีนี้เหมาะกับผู้ใช้ในระดับ Advance



รูปที่ 3.3 Assembly Mode ใน Solidwork

3.3.2.1.3 Drawing Mode เป็นหมวดการทำงานเพื่อสร้าง 2D Standard Engineering โดยในหมวดนี้เป็นการสร้างมุมมองและกำหนดรายละเอียดตามระบบมาตรฐานต่าง ๆ โดยจะแบ่งการทำงานออกเป็น 2 ส่วนคือ

1. Generative Drafting ซึ่งเป็นการสร้าง 2D Sketch และ Interaction Drafting ซึ่งเป็นการนำ 3D Model จาก Part และ Assembly มาวางใน Drawing เพื่อสร้างเป็น 2D Drafting จะมีลักษณะเป็น Parametric และ Relation เช่นกัน แต่จะไม่สามารถใช้คำสั่งใน Drawing Commands ได้ เพราะคำสั่งต่าง ๆ จะต้องอ้างอิงกับ 3D Model
2. Interaction Drafting คือการนำ 3D Model จาก Part และ Assembly มาวาง Drawing เพื่อสร้างเป็น 2D Drafting การทำงานในหมวดนี้สามารถใช้คำสั่งจาก Annotation Command และ Drawing Command เพื่อสร้างมุมมองและกำหนดรายละเอียดได้โดยอัตโนมัติ

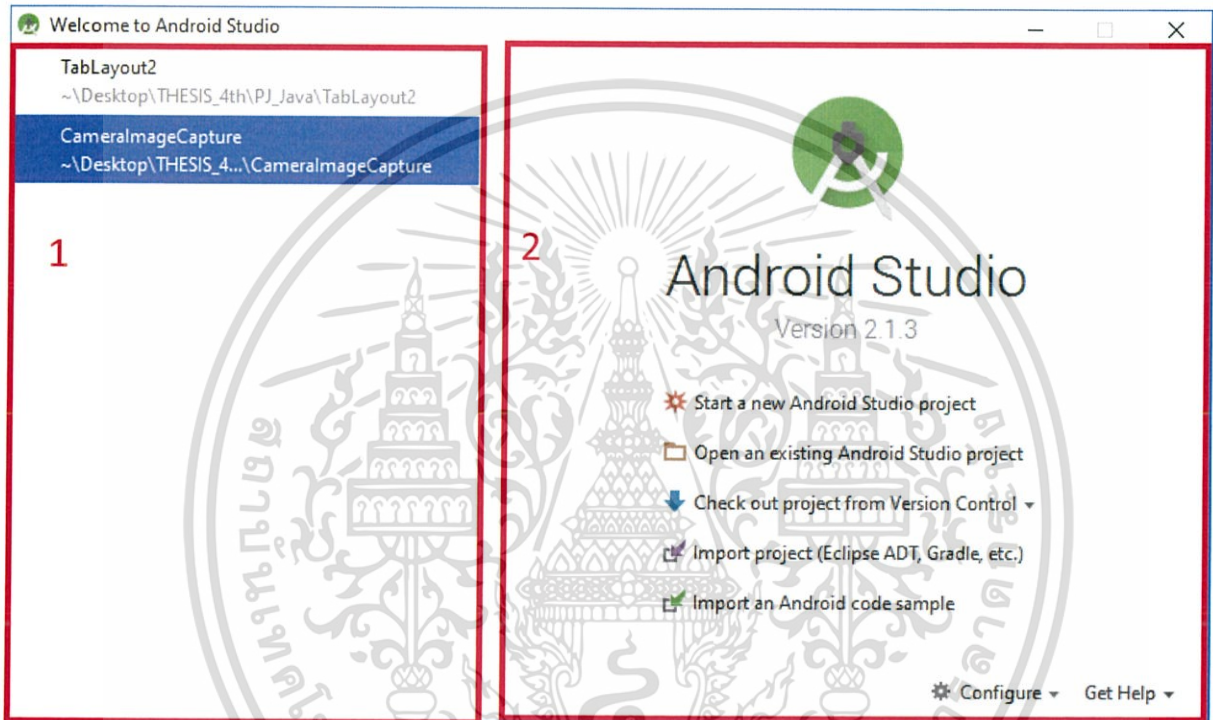
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 ส่วนซอฟต์แวร์

การออกแบบ Android Application เพื่อทำการประมวลผลภาพ

การออกแบบผ่านโปรแกรม AndroidStudio นั้น โดยเบื้องต้นจะต้องมีการติดตั้งส่วนการพัฒนาโปรเจกแอนดรอยด์เพิ่มเข้ามาก่อนรวมถึงlibraryเสริมต่างๆเช่น OpenCV ก็ต้องติดตั้งก่อนการทำงานด้วย จากนั้นจึงเริ่มการสร้างโปรเจคได้โดย

1. ทำการออกแบบผ่านโปรแกรม Android Studio



รูปที่ 3.4 หน้าต่างเริ่มต้นของโปรแกรม Android Studio

เมื่อเปิดใช้งาน Android Studio ครั้งแรกก็จะเจอกับหน้าต่างแบบนี้








1. Recent Project โปรเจคที่เคยเปิดบน Android Studio จะถูกแสดงบนนี้เพื่อให้สามารถเลือกเปิดได้ทันที
2. Quick Start แถบเมนูเริ่มต้นสำหรับ Android Studio ที่จะให้เลือกว่าจะทำอะไรบน Android Studio ซึ่งจะประกอบไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Android Studio

Version 2.1.3

- 1  Start a new Android Studio project
 - 2  Open an existing Android Studio project
 - 3  Check out project from Version Control ▼
 - 4  Import project (Eclipse ADT, Gradle, etc.)
 - 5  Import an Android code sample
-  Configure ▼  Get Help ▼

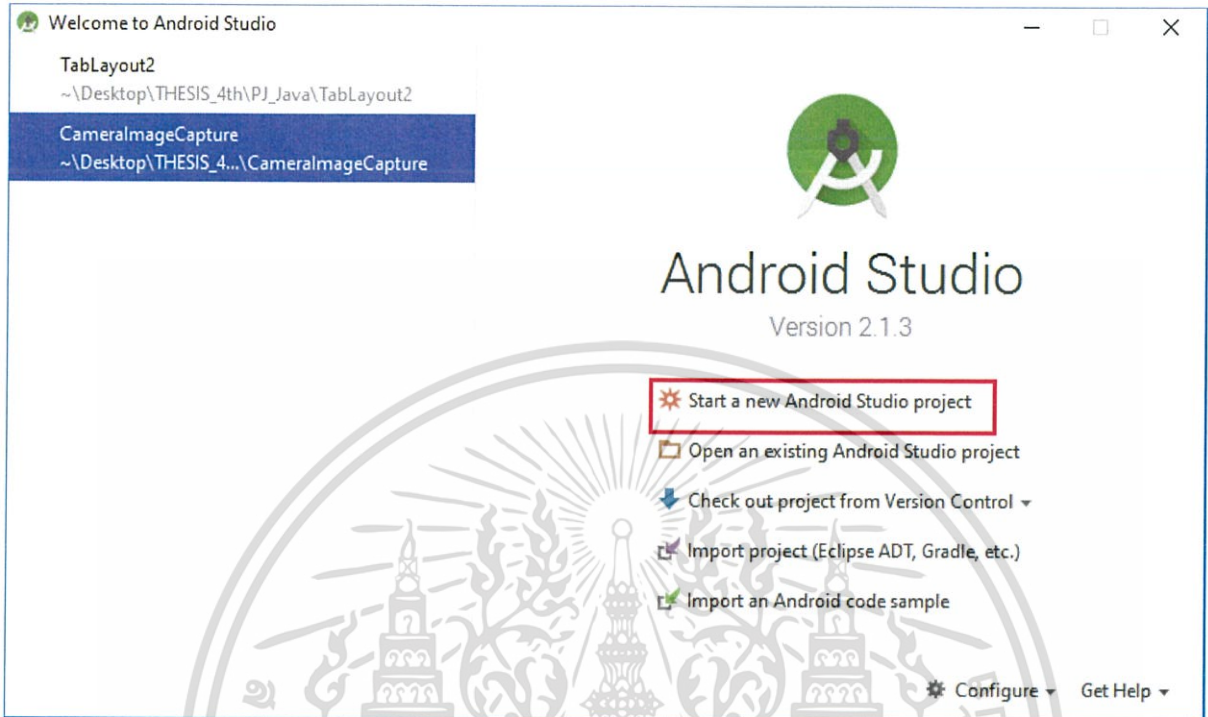
รูปที่ 3.5 หน้าต่างเริ่มต้นของโปรแกรม Android Studio ส่วน Quick Start

1. Start a new Android Studio Project สร้างโปรเจกต์ขึ้นมาใหม่
2. Open an existing Android Studio project เปิดโปรแกรมที่มีอยู่แล้ว
3. Check out project from Version Control ดึงโปรเจกต์มาจาก Version Control โดยจะมีให้เลือกว่าจะดึงจาก Version Control แบบไหน
4. Import project (Eclipse ADT, Gradle, etc.) โหลดและแปลงไฟล์โปรเจกต์ที่ดาวน์โหลดมาหรือโปรเจกต์จากโปรแกรมอื่นๆ เช่น Eclipse
5. Import an Android code sample ดาวน์โหลดโค้ดตัวอย่างของแอนดรอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเริ่มต้นสร้างโปรเจกใหม่

1. ทำการเปิด Android Studio เลือก Start a new Android Studio Project

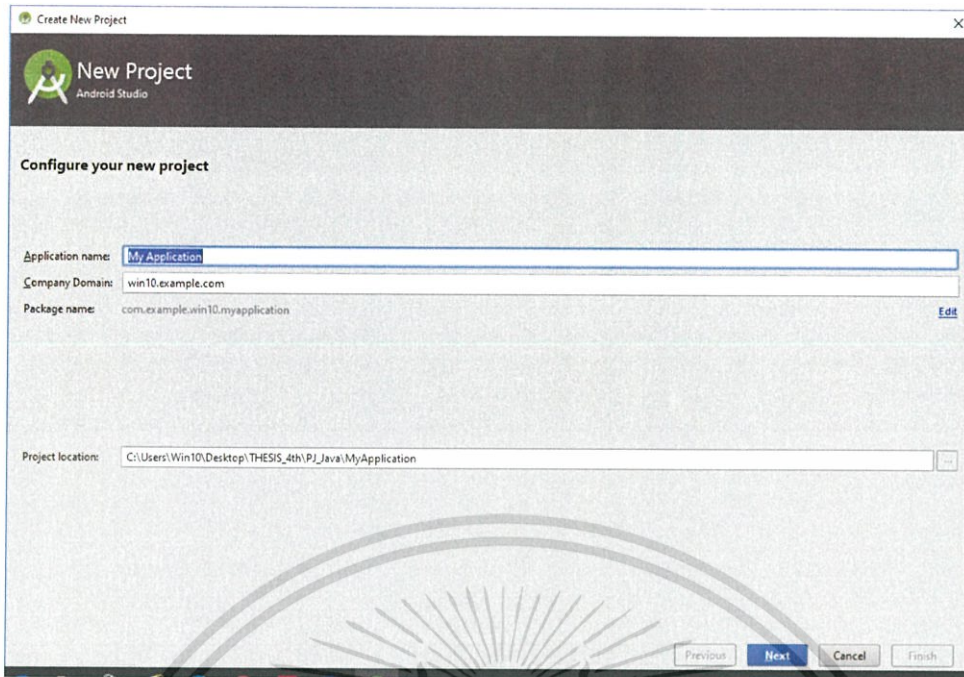


รูปที่ 3.6 หน้าต่างเริ่มต้นของโปรแกรม Android Studio

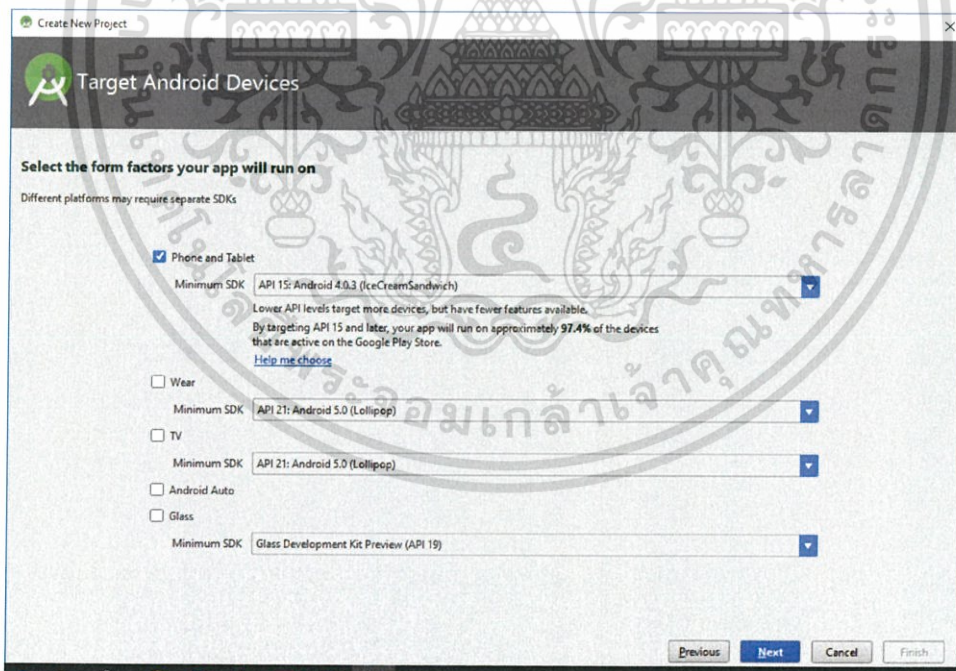
2. จากนั้นจะมาถึงหน้า ตั้งชื่อแอปพลิเคชัน และตั้งค่า SDK ต่างๆ

- Application name : ชื่อแอปพลิเคชันที่ต้องการ
- Module name : ชื่อโมดูลที่ต้องการ ส่วนมากจะตั้งว่า app หรือ main (ใน Eclipse มันคือ Project)
- Package name : : เลือกแพคเกจของแอปพลิเคชัน
- Project location : : เลือกที่อยู่ที่ต้องการจัดเก็บตัวแอปพลิเคชัน
- Minimum required SDK : กำหนดเวอร์ชันแอนดรอยด์ขั้นต่ำที่จะให้รองรับ
- Target SDK : กำหนดเวอร์ชันแอนดรอยด์ที่จะใช้ในโปรเจ็ค
- Compile with : กำหนดเวอร์ชันของแอนดรอยด์ที่จะใช้ compile โปรเจ็คนี้ (แนะนำให้ใช้เวอร์ชันล่าสุด)
- Language Level : ตรงส่วนนี้เป็นส่วนของ Core Java เลือกแบบ default ไปคือ 6.0 -@Override in interfaces
- Theme : เลือกธีมที่จะใช้ในแอปพลิเคชันนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



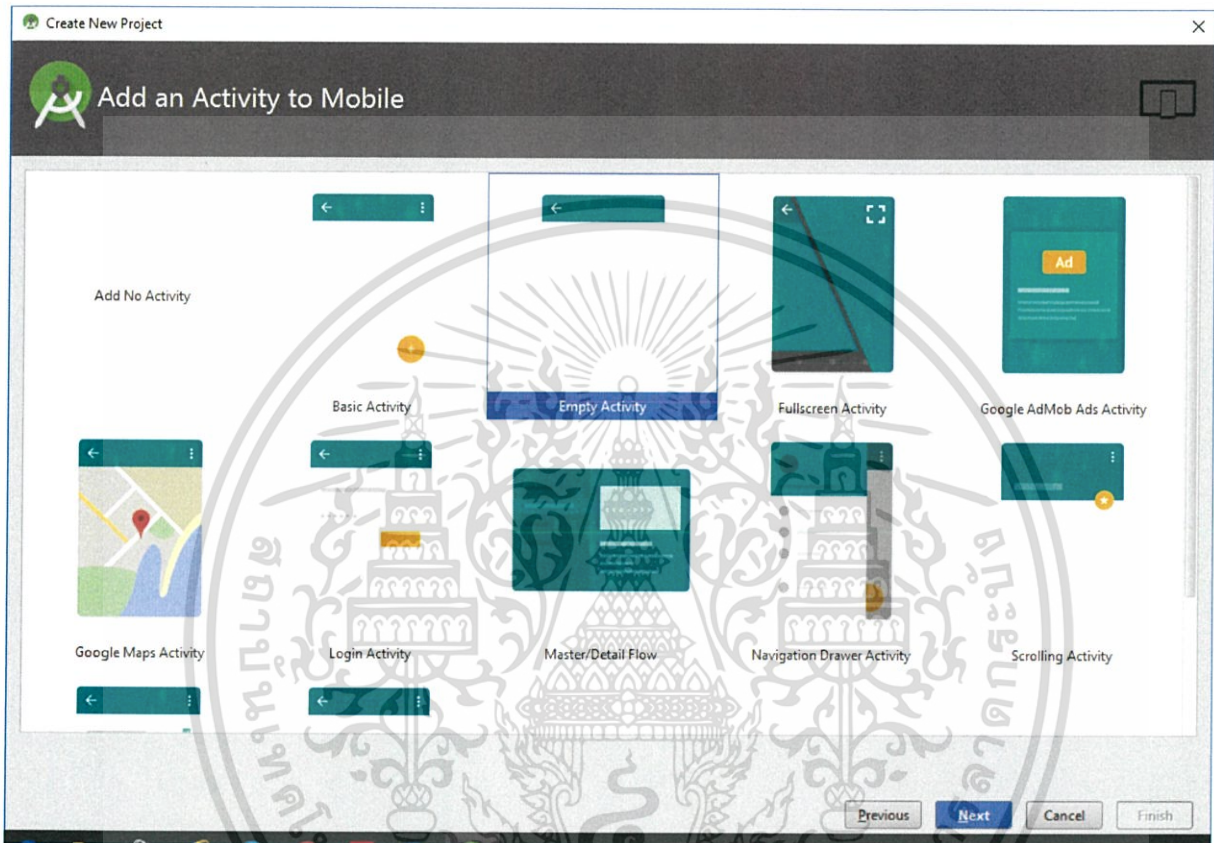
รูปที่ 3.7 การตั้งชื่อแอปพลิเคชันที่ต้องการ



รูปที่ 3.8 การกำหนดเวอร์ชันแอนดรอยด์ขั้นต่ำที่จะให้รองรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

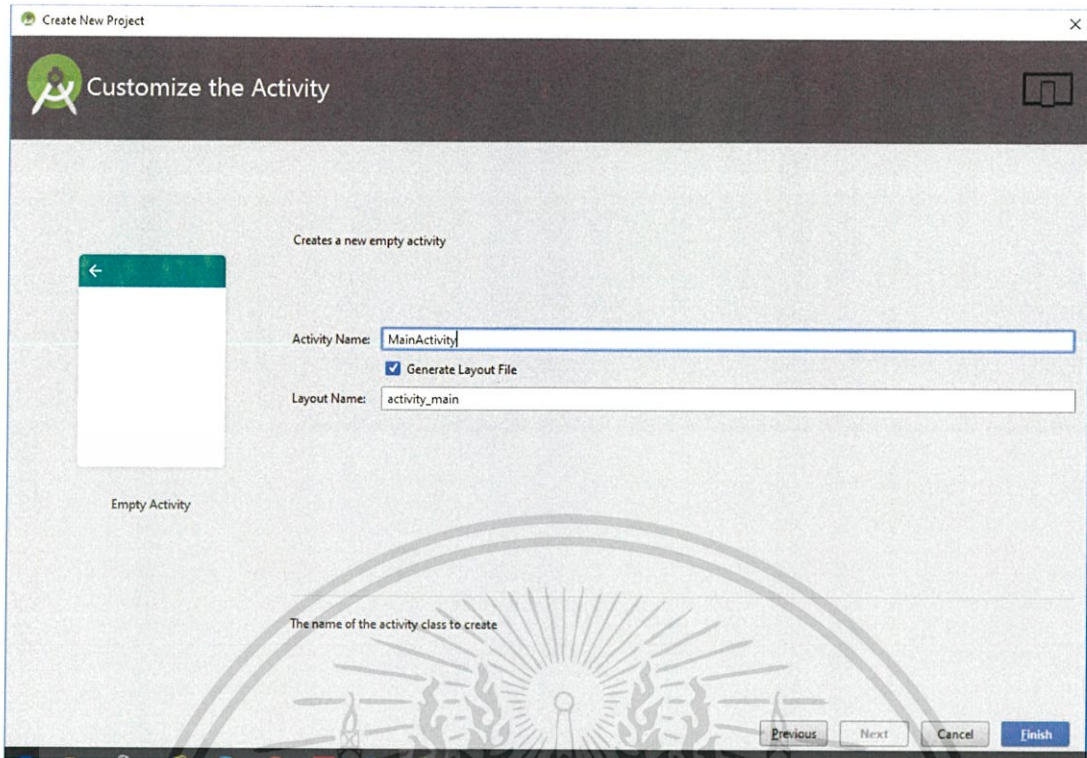
3. จากนั้นจะมาถึงหน้าปรับแต่งไอคอนของตัวแอปพลิเคชัน สามารถปรับแต่งได้ตามสะดวก ได้ทั้ง image, clipart หรือ Text หรือไอคอนที่มีเตรียมไว้เป็นค่าเริ่มต้น เพราะโปรแกรมมันจะ generate ให้เอง
4. ขั้นตอนนี้จะให้เราเลือก Template ของ Activity เช่น Blank Activity จากนั้นกด Next



รูปที่ 3.9 Template แบบต่างๆ

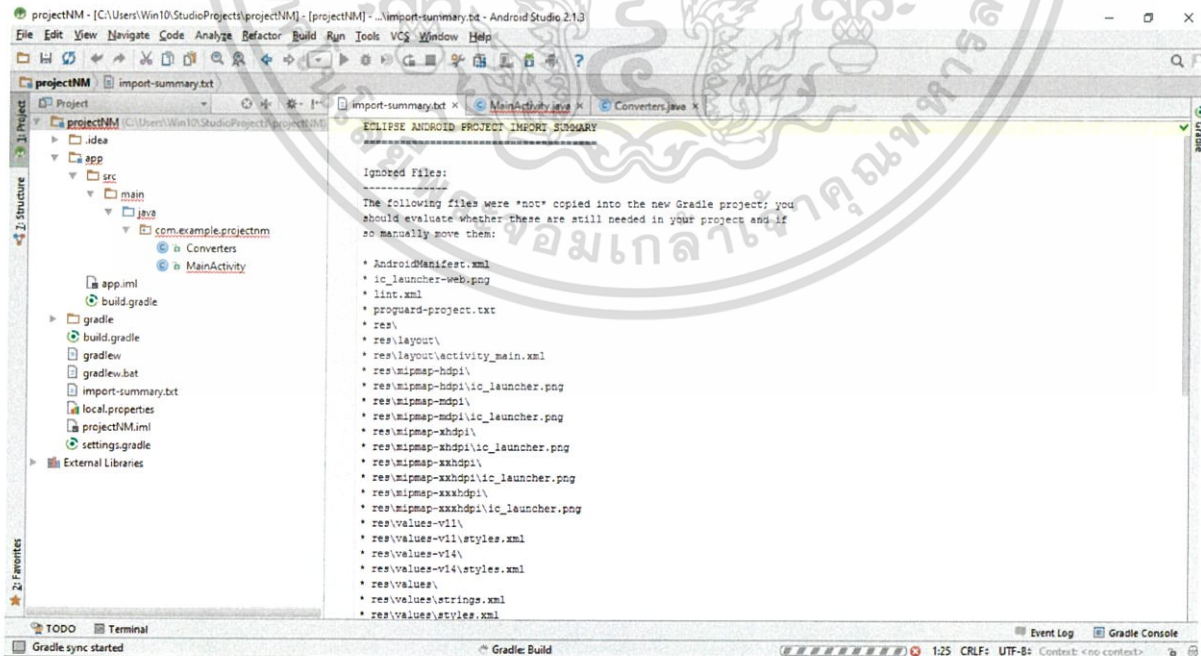
5. มาถึงส่วนนี้ จะเป็นการตั้งชื่อให้กับ Activity หลัก และชื่อให้กับ Layout หลัก ส่วนนี้ใช้ชื่อที่เป็น Default เลยก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 การตั้งชื่อให้กับ Activity หลัก

เมื่อเสร็จขั้นตอนการสร้างโปรเจกใหม่ ก็จะเข้าสู่หน้าจอส่วนการเขียนโปรแกรม Android Application



รูปที่ 3.11 หน้าจอโปรแกรม Android Studio

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย ช่อง Application Name ให้ใส่ชื่อแอปพลิเคชันที่ต้องการ และทำการเลือกรุ่น Minimum Required SDK ,Target SDK, Compile With และTheme ที่ต้องการออกแบบ และดำเนินการจนเสร็จสิ้น เมื่อเข้าสู่หน้าต่างการออกแบบ ก็จะมีฟังก์ชันและหน้าต่างเมนูต่างๆของ Activitymain ดังนี้

- package explorer มีไว้เพื่อแสดงส่วนต่างๆในโปรเจค
- Palate มีไว้เพื่อแสดงส่วนรูปแบบต่างๆที่จะเลือกใช้แสดงผลบนหน้าจอ
- Outline เป็นกล่องเครื่องมือช่วยในการสร้าง ลบ จัดลำดับก่อนหลังของ Element ต่างๆ
- Properties เป็นกล่องเครื่องมือเพื่อกำหนดคุณสมบัติต่างๆ ของ Element

ซึ่งส่วนที่เราสามารถออกแบบได้ จะมีด้วยกัน 2 รูปแบบ คือ การออกแบบหน้าจอในส่วน layout เป็นไฟล์สกุล xml เพื่อให้รูปแบบแสดงผลตามที่ต้องการ และ การเขียนโค้ดลงไปที่ส่วนของการเขียน Class ต่างๆลงไปเพื่อออกแบบในส่วนฟังก์ชันการใช้งานของโปรแกรม ซึ่งเป็นไฟล์สกุล Java

ในส่วนของแอปพลิเคชันที่ออกแบบนั้น จะทำการประมวลผลหรือวิเคราะห์ภาพที่ถ่ายได้จากกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์แบบพกพา จะเป็นส่วนแสดงการเข้าถึงแอปพลิเคชันเริ่มต้น และ จะเป็นหน้าหลักในการเรียกใช้ฟังก์ชันต่างๆเพื่อทำการประมวลผลภาพสำหรับการตรวจจับและนับจำนวนวัตถุจากรูปภาพ ในส่วนจากรูปภาพที่ทำการเลือกอาจมาจากการถ่ายรูปหรือรูปภาพจากอัลบั้มรูป โดยจะมีการนำภาพมาทำการประมวลผลโดยเรียกใช้ผ่านปุ่มกด เช่น การทำให้รูปอยู่ในระดับสีเทา จากความเข้มเฉลี่ยของสีทั้งสามเฉด หรือ ผ่านการกรองแสงตามสี แดง เขียว และน้ำเงิน เพื่อให้เกิดความสอดคล้องกับภาพที่ต้องการทำมากขึ้น จากนั้นนำภาพไปทำเป็นรูปแบบไบนารีเพื่อทำการแยกบริเวณรูปออก โดยใช้การทำ Threshold แบบต่างๆ ซึ่งมีทั้งส่วนที่ต้องป้อนค่าและไม่ต้องใส่inpux เข้าไปเพื่อให้เหมาะสมกับรูปภาพที่เลือก นอกจากนี้ยังสามารถกำจัดภาพส่วนเกินออกได้จากการทำ Morphology เพื่อให้ได้ภาพที่เหมาะสมที่สุดก่อนจะทำการนับโดยในขั้นตอนนี้จะมีการตรวจจับให้ดูก่อนการตัดสินใจนับ เมื่อทำการนับ จะมีการแสดงผลออกมาเป็นตัวเลขในช่องต่างๆ หรือ การทำ correlation เพื่อทำการแมทซึ่งวัตถุในภาพกับวัตถุต้นแบบ ซึ่งออกแบบไว้เพื่อให้ใช้งานกับภาพวัตถุในลักษณะที่อาจเกิดการซับซ้อน ซึ่งไม่สามารถตรวจจับและแยกวัตถุออกจากกันได้ด้วยวิธีแยกบริเวณ หรือภาพที่มีวัตถุลักษณะอื่นที่ไม่ต้องการปะปนอยู่ ซึ่งวิธีนี้จะช่วยหาความสอดคล้องเฉพาะกับวัตถุนั้นและตรวจจับได้ นอกจากนี้จะมีส่วนแสดงรูปภาพที่เลือกทำการประมวลผล และภาพจากผลการทำการประมวลผลในบางส่วนรวมถึงการเซฟภาพในหน้าต่างการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ในบทนี้จะกล่าวถึงผลจากการออกแบบตัวชิ้นงานและการพัฒนาซอฟต์แวร์ตามที่ได้กำหนดไว้ตามขอบเขตการวิจัย คือ การสร้างกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์แบบพกพาทั้งแบบที่มีต้นทุน ราคาไม่สูงและแบบต้นทุนสูง โดยคำนึงถึงหลักการฟลูออเรสเซนส์เบื้องต้นทั้งสองแบบ และซอฟต์แวร์เพื่อนับจำนวนวัตถุด้วยการใช้ทฤษฎีทางการประมวลผลภาพดิจิทัล ซึ่งผู้วิจัยจึงได้ทำการทดสอบชิ้นงาน ที่ได้ออกแบบขึ้นมาโดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ การทดสอบฮาร์ดแวร์ ซึ่งประกอบด้วย กล้องจุลทรรศน์ ฟลูออเรสเซนส์แบบพกพาทั้งสองรูปแบบ และในส่วนของซอฟต์แวร์ การแสดงผลบนแอปพลิเคชัน บนแอนดรอยด์สมาร์ตโฟน

4.1 การทดสอบในส่วนของการซิมูเลชัน (Simulation)

ได้นำโปรแกรม Zemax มาเป็นเครื่องมือการออกแบบที่ระบบแสง(Light systems) โดยการใช้งานทางใช้งานออปติคอลฟังก์ชัน

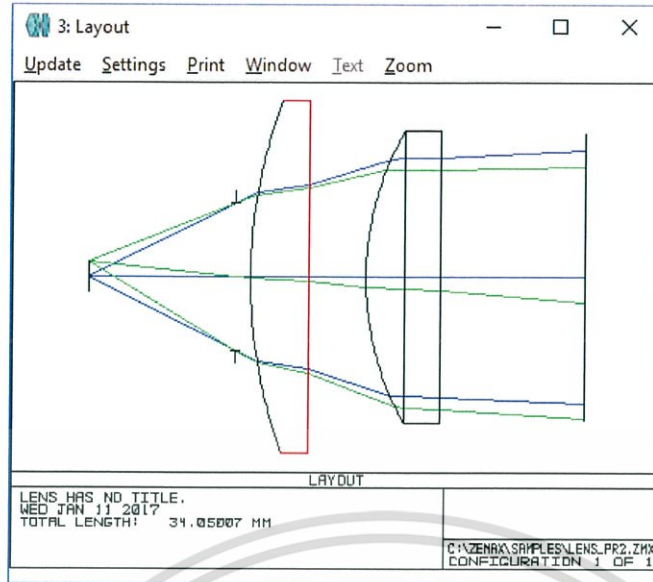
การวิเคราะห์การปรับแต่งและการปรับแต่งของชุดเครื่องมือที่ประกอบไปด้วยที่หลากหลายของ algorithms ทางฟิสิกส์ เพื่อวิเคราะห์การจำลองและการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานระบบออปติคอลทั้งหมด อยู่ภายในข้อมูลจำเพาะและลดความคลาดเคลื่อน

โดยในตัวซอฟต์แวร์ Zemax OpticStudio นี้ ได้ประกอบไปด้วยเครื่องมือฟังก์ชันหลักๆที่ใช้ในการทำงานโปรเจกต์นี้ ซึ่งครอบคลุมดังต่อไปนี้

4.1.1. การออกแบบ Light system

โดยมีการทดลองเพื่อหาค่ากำลังขยาย ทางเดินของแสง ลักษณะภาพที่เกิด และ ความคลาดเคลื่อนของการเกิดภาพ เพื่อที่จะสามารถเลือกใช้เลนส์ที่เหมาะสมกับโปรเจกต์นี้ โดยแบ่งการทดลองดังนี้

1. Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ Tunable lens EL-10-30-TC และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens



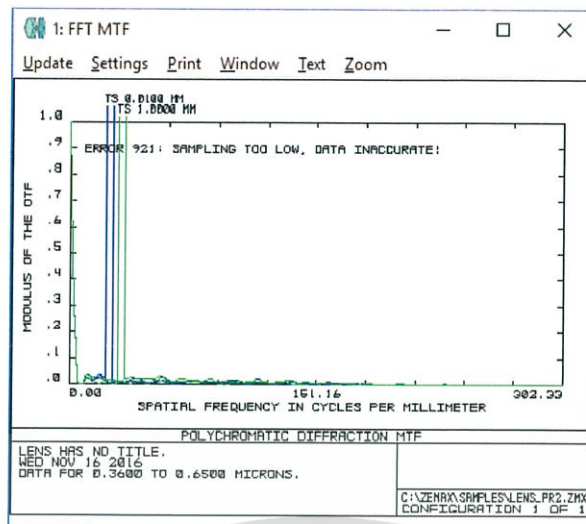
รูปที่ 4.1 แบบจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ Tunable lens EL-10-30-TC และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens

โดยมีค่าสำคัญในการกำหนดพารามิเตอร์ดังนี้

SF11	BK7
Ca=11	CA=10
F1/#=1	F2/#=12
R1=9.42	H=2.45
ET=184	T=T-thick
CT=4.00	=5-2.6635
EFL=12	=2.3365

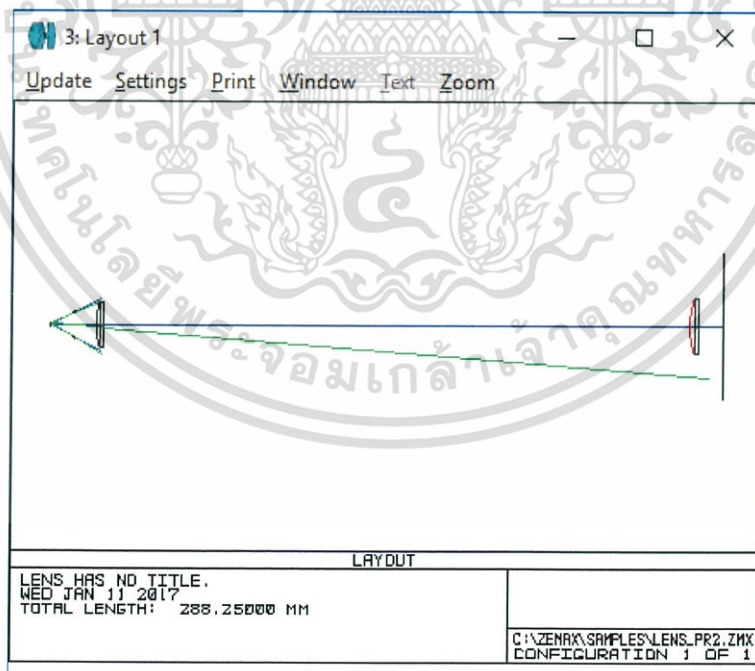
ผลคือเมื่อคำนวณและพล็อตออกมาเป็นกราฟ FFT MTF แล้ว ค่าของ performance ยังไม่ดีเท่าที่ควร จึงต้องมีการปรับปรุงระบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ Tunable lens EL-10-30-TC กับ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens

2. Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens



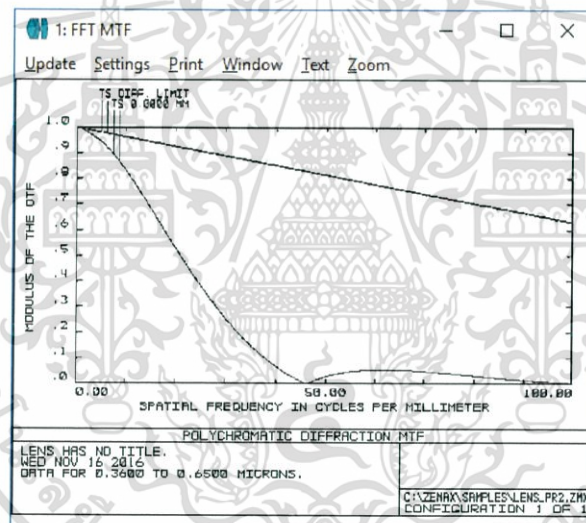
รูปที่ 4.3 แบบจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมีค่าสำคัญในการกำหนดพารามิเตอร์ดังนี้

BK7	BK7
Ca=11	CA=10
F1/#=1	F2/#=12
R1=9.42	H=2.45
ET=184	EFL=12
CT=4.00	do2=11.4
EFL=12	

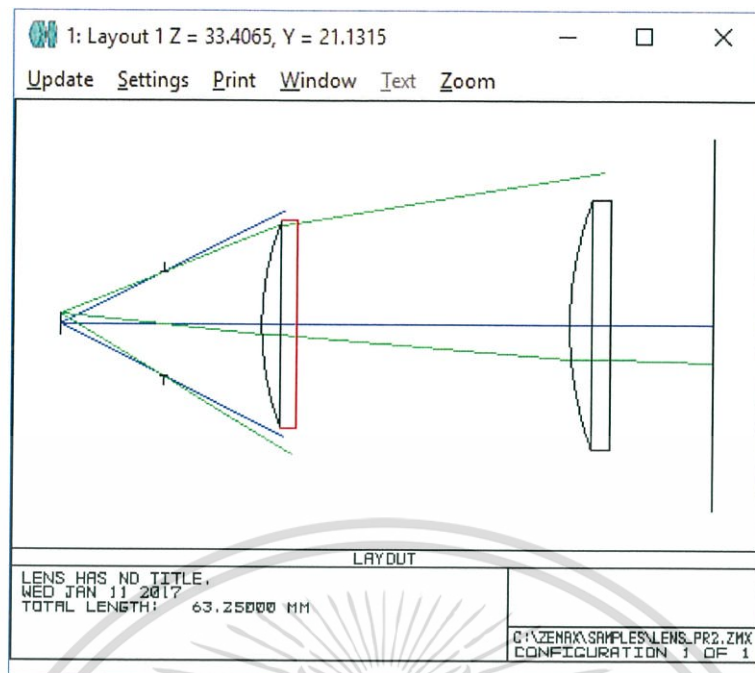
ผลคือเมื่อกำหนดและพล็อตออกมาเป็นกราฟ FFT MTF แล้ว ค่าของ performance ดีขึ้น แต่ไม่มากพอเท่าที่ควร นอกจากนี้ ถึงจะได้ค่า resolution ที่ดี แต่ด้วยระยะ do2 ที่มากตามไปด้วย จึงไม่เหมาะกับการออกแบบเครื่องมือที่ต้องการขนาดที่เล็ก และพกพาได้ จึงต้องมีการปรับปรุงระบบเพิ่มเติม



รูปที่ 4.4 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens

- Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens ที่ระยะ do1 ต่ำสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แบบจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens

โดยมีค่าสำคัญในการกำหนดพารามิเตอร์ดังนี้

BK7

Ca=11

F1/#=1

R1=9.42

ET=184

CT=4.00

EFL=12

BK7

CA=10

F2/#=12

H=2.45

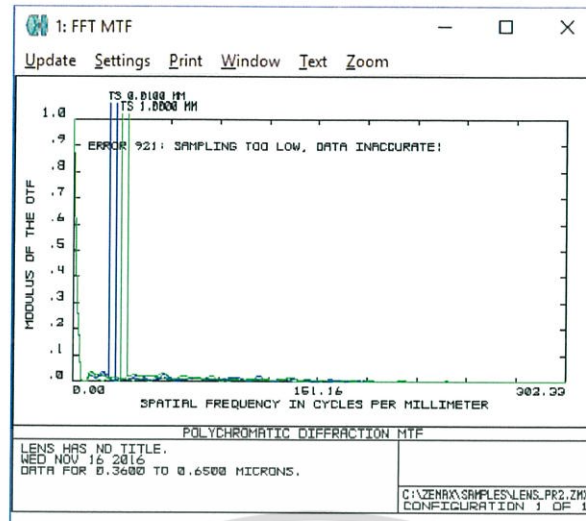
EFL=12

do2=11.4

do1=6

ผลคือเมื่อคำนวณและพล็อตออกมาเป็นกราฟ FFT MTF แล้ว ค่าของ performance ยังไม่ดีเท่าที่ควร จึงต้องมีการปรับปรุงระบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

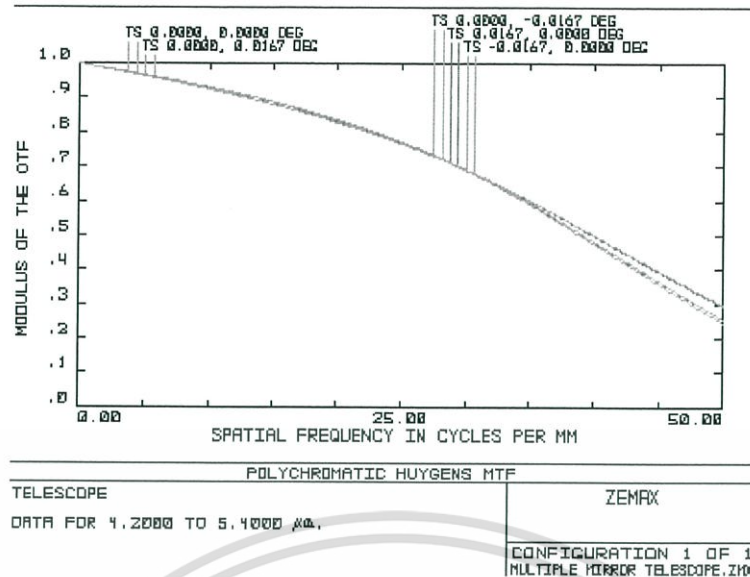


รูปที่ 4.6 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens และ 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens ที่ระยะ do1 ต่ำสุด

โดยจากการทดลองเหล่านี้ จะเห็นได้จากแบบจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system พบว่าถึงแม้ว่าจะปรับปรุงระบบให้ได้ค่า resolution และ performance ที่สูง แต่ระยะระหว่างเลนส์ก็จะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย (ตามค่าที่เหมาะสมที่สุดที่คำนวณจาก do,di) จึงไม่เหมาะกับการออกแบบเครื่องมือที่ต้องการขนาดเล็ก และพกพาได้ จึงต้องมีการปรับปรุงระบบเพิ่มเติม

โดยการเปลี่ยนไปใช้ระบบ Single lens แทน ซึ่งจะได้ค่าที่ดีกว่า และระยะระหว่างเลนส์ก็มีค่าน้อย เหมาะแก่การใช้งานในโปรเจกต์นี้ ซึ่งจากการคำนวณพบว่า เลนส์ 6.0mm Dia. X 6.0 EFL Plano convex lens เหมาะสมสำหรับโปรเจกต์นี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟ FFT MTF ของการจำลอง Light system ระบบ Multiple lens system โดยจำลองระบบแสงโดยใช้เลนส์ 6.0mm Dia. X 6.0 EFL Plano convex lens

4.2 การทดสอบในส่วนของฮาร์ดแวร์

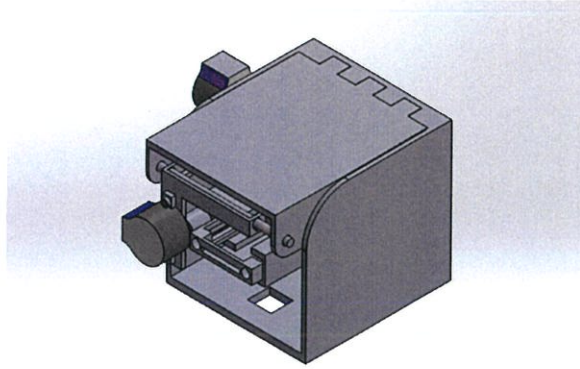
4.2.1 การออกแบบตัวกล้อง

จุดมุ่งหมายเบื้องต้นของการออกแบบส่วนฮาร์ดแวร์ของกล้องฟลูออเรสเซนส์แบบพกพานั้น คือ ออกแบบให้ทางเดินแสงเป็นแบบส่องผ่าน สามารถใช้ได้กับโทรศัพท์มือถือทุกยี่ห้อตามท้องตลาด และต้องเป็นระบบปิดกันแสงภายนอก หลังจากที่ได้ทำการศึกษา และทำการร่าง ออกแบบงาน กำหนดขนาดบนแผ่นกระดาษแล้ว ก็เริ่มทำการศึกษาการใช้งานโปรแกรม Solidwork และเริ่มออกแบบบนโปรแกรม

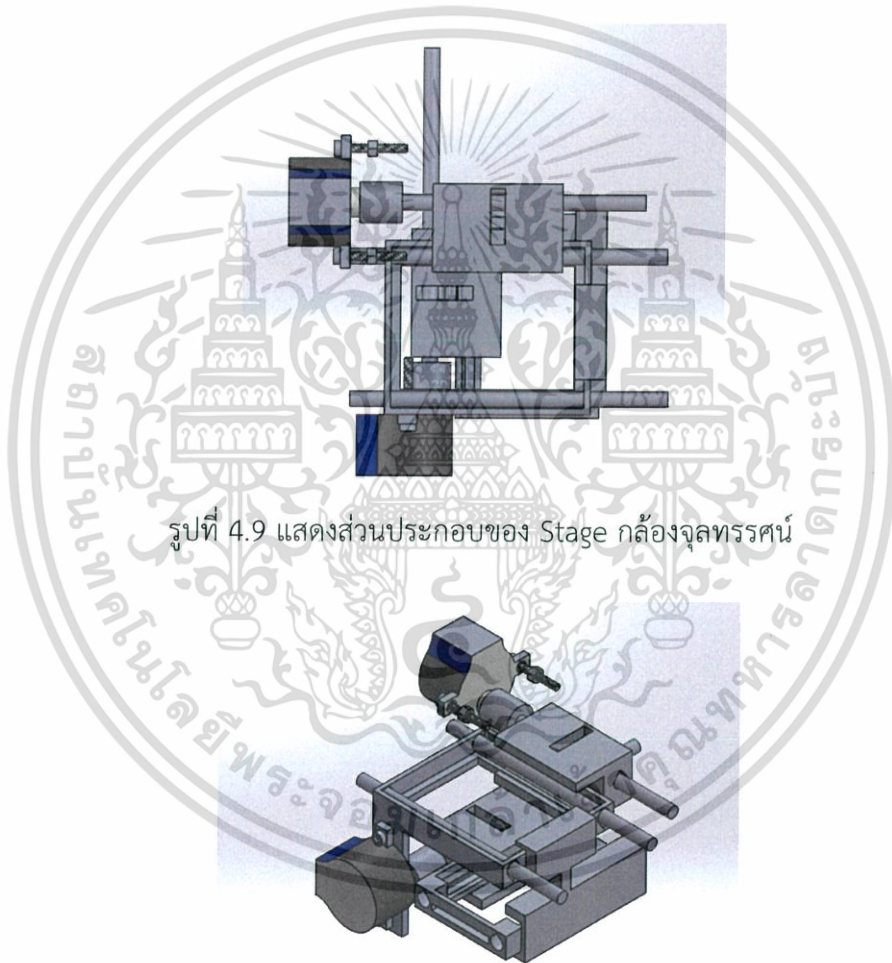
1. กล้องตัวแรก ได้ออกแบบให้กล้องมีส่วนประกอบที่มีคุณสมบัติ คือ

- ใช้เทคนิค Fluorescence
- สามารถปรับ Stage สำหรับ Sample เลื่อนแกน x, y, z ได้ โดยที่สามารถเลื่อนแกน x, y ได้โดยอัตโนมัติจากการควบคุมด้วยมอเตอร์
- ให้ภาพที่มี Field of View ที่กว้าง คือประมาณ 10x10 mm
- ใช้เลนส์กำลังขยายต่ำ คือ Plano-Convex Lens ขนาด 12.0mm Dia. และ 12.0mm FL, Uncoated

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



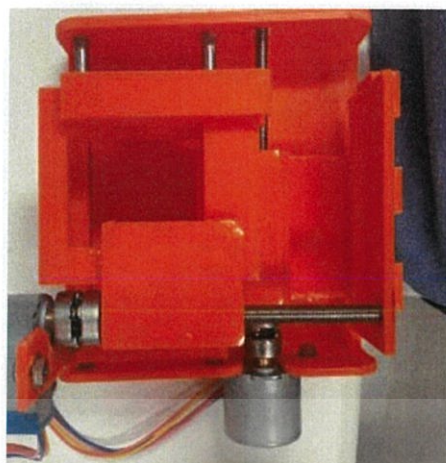
รูปที่ 4.8 แสดงโมเดลกล่องจุลทรรศน์ตัวแรก



รูปที่ 4.9 แสดงส่วนประกอบของ Stage กล้องจุลทรรศน์

รูปที่ 4.10 แสดงส่วนประกอบของกล่องและการปรับระยะแกนต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 แบบแสดงกล้องจุลทรรศน์ หลังการพิมพ์สามมิติ ในส่วนของ stage



รูปที่ 4.12 แบบแสดงกล้องจุลทรรศน์ หลังการพิมพ์สามมิติ ในส่วนของ cover

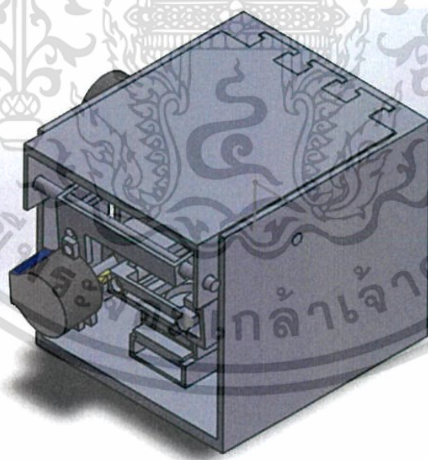
2. กล้องตัวที่สอง ได้ออกแบบและปรับแต่งให้กล้องมีส่วนประกอบที่มีคุณสมบัติต่างๆ
 - ใช้เทคนิค Bright field
 - ปรับ Stage สำหรับ Sample ได้คือ แกน Z
 - มีการเพิ่ม Lens case ที่รองรับตัวเลนส์ขนาดต่างๆ ทำให้สามารถเปลี่ยนเลนส์ขนาด EFL ที่ต่างกันได้หลายแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



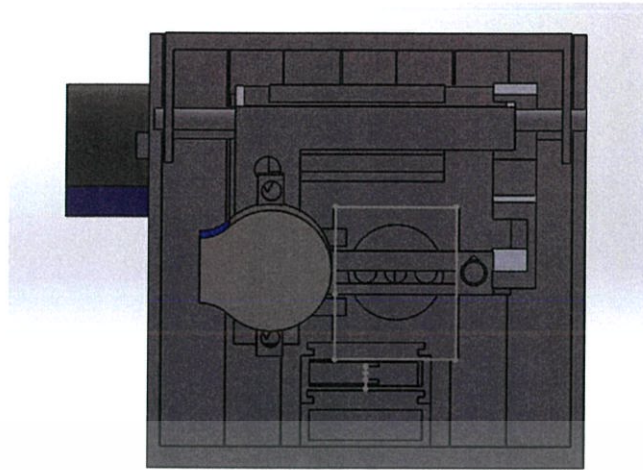
รูปที่ 4.11 แบบแสดงกล้องจุลทรรศน์ตัวที่สอง

3. กล้องตัวที่สาม ได้ออกแบบและปรับแต่งให้กล้องมีส่วนประกอบที่มีคุณสมบัติต่างๆ
 - ใช้เทคนิค Fluorescence
 - ปรับ Stage สำหรับ Sample ได้ทั้งสามแกน คือ แกน X Y และ Z
 - ออกแบบตามความต้องการจาก Hong Kong University of Science and Technology ซึ่งกำหนดกำลังขยายที่ต้องการในช่วง X10-X40
 - ใช้เลนส์ Plano-Convex Lens ขนาด 6.0mm Dia. และ 6.0mm EFL



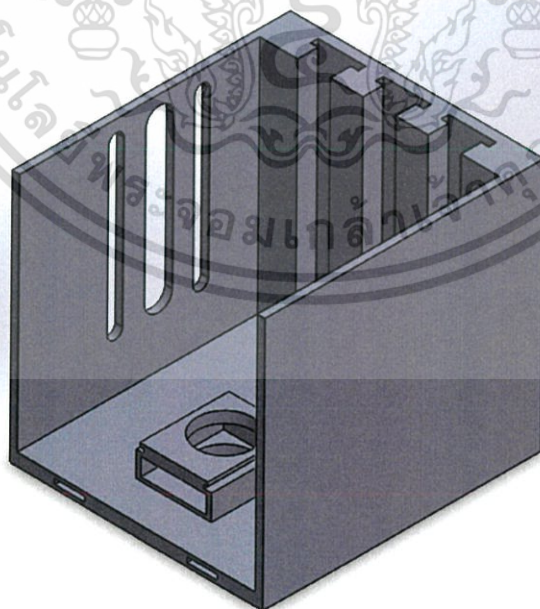
รูปที่ 4.12 แสดงโมเดลกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



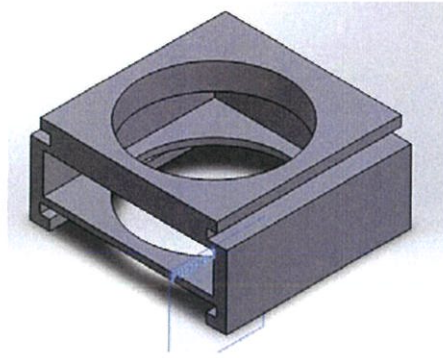
รูปที่ 4.13 แสดงด้านหน้าของโมเดลกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์

- มีการเพิ่ม Lens box รวมไปถึงตัว Lens case ที่รองรับตัวเลนส์ขนาดต่างๆ ทำให้สามารถเปลี่ยนเลนส์ขนาด EFL ที่ต่างกันได้หลายแบบ
- Filter box สำหรับ Excitor filter และ Emitter filter
- เพิ่มในส่วนของสปริงเพื่อเพิ่มความฝืดของการเลื่อน stage เพื่อให้การเลื่อนแกนมีความนิ่งขึ้น
- เพิ่ม Fluorescence LED housing ส่วนที่ต่อกับตัวฐาน box holder เพื่อให้ฉายในระนาบตามขวางของตัวอย่างทดลอง
- มีตัว cover ปิดตัวกล้องจุลทรรศน์ ทำให้เป็นระบบปิด



รูปที่ 4.14 Filter box

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



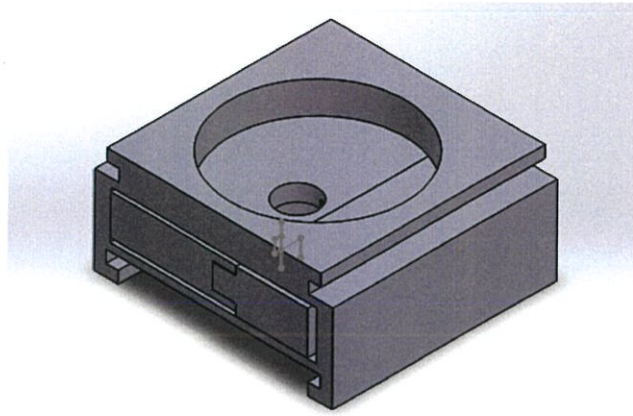
รูปที่ 4.15 Lens box



รูปที่ 4.16 Fluorescence LED housing

รูปที่ 4.17 Lens Case สำหรับเลนส์ขนาด 6.0mm Dia.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



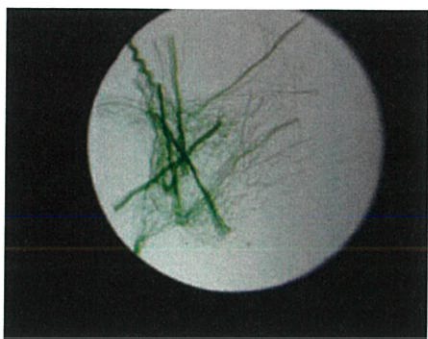
รูปที่ 4.18 แสดงโมเดลหน้า Lens Case และ Lens box มาประกอบกัน



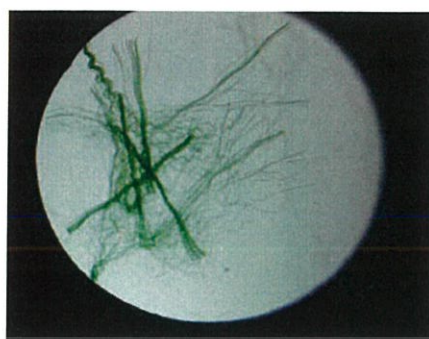
รูปที่ 4.19 cover ของตัวกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ได้จากการทดลองกล้องจุลทรรศน์



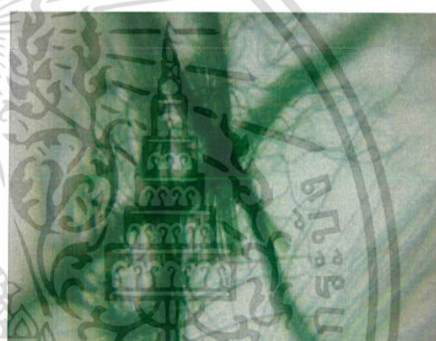
รูปที่ 4.20



รูปที่ 4.21



รูปที่ 4.22



รูปที่ 4.23

รูปที่ 4.20 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 12.0mm Dia. X 12.0 EFL Plano convex lens

รูปที่ 4.21 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 10.0mm Dia. X 10.0 EFL Plano convex lens

รูปที่ 4.22 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 6.0mm Dia. X 6.0 EFL Plano convex lens

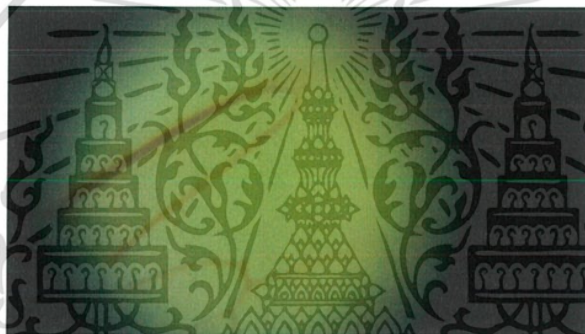
รูปที่ 4.23 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ไฟเบอร์ เมื่อใช้เลนส์ขนาด 2.0mm Dia. X 2.0 EFL Plano convex lens

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

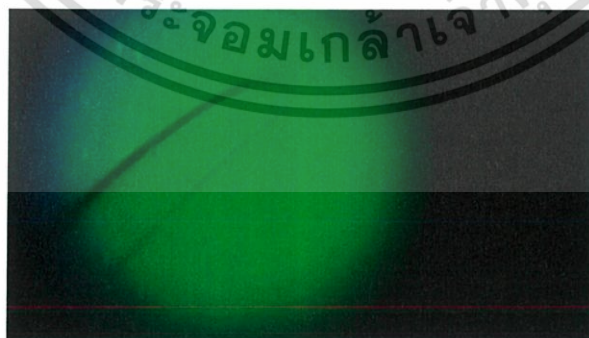
ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลง เมื่อผ่าน filter แบบต่างๆ



รูปที่ 4.24 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ (ไม่ได้ผ่าน filter)

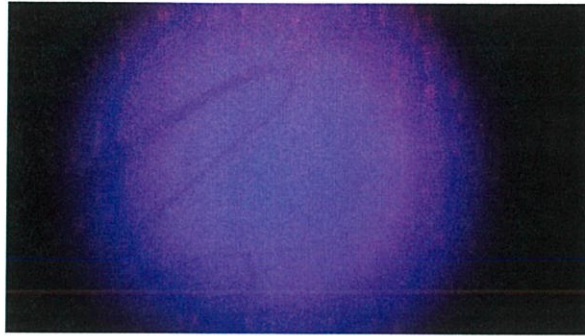


รูปที่ 4.25 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ ผ่าน Longpass Filter, Cut-On wavelength: 450 nm



รูปที่ 4.26 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ ผ่าน Bandpass Filter, Cut-On wavelength: 440 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 ภาพจากตัวอย่างสไลด์ปีกแมลงตัวต้นแบบ ผ่าน Bandpass Filter, Cut-On wavelength: 520 nm

4.3 การทดสอบในส่วนของซอฟต์แวร์

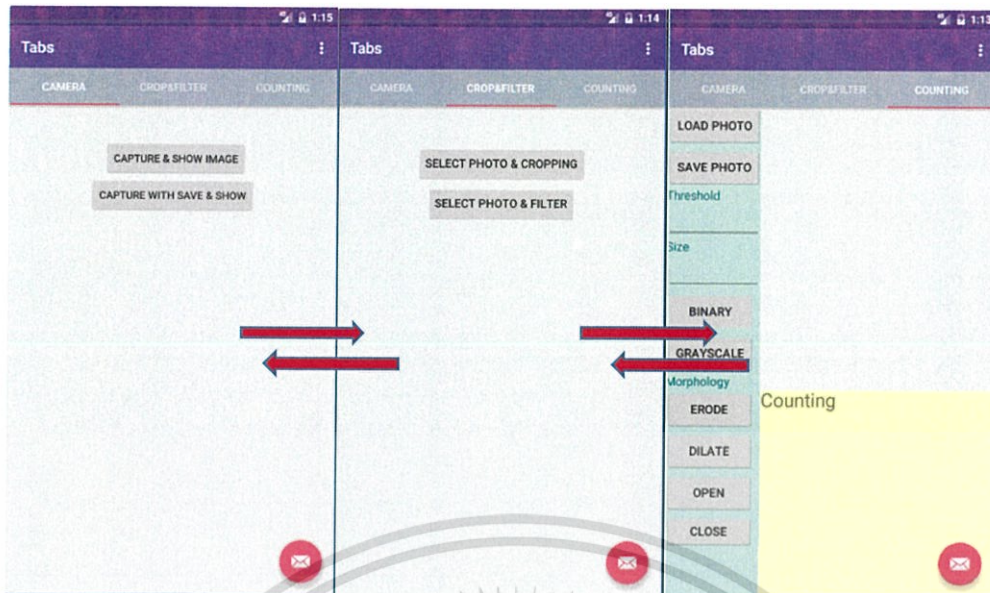
ในส่วนของซอฟต์แวร์ที่พัฒนาขึ้นมีรูปแบบหน้าต่างของแอปพลิเคชัน



รูปที่ 4.28 ไอคอนของแอปพลิเคชัน

โดยมีการออกแบบแอปพลิเคชันให้แบ่ง fragment อย่างชัดเจนถึง 3 ส่วน เรียงกันที่ละชั้นตอน เพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน

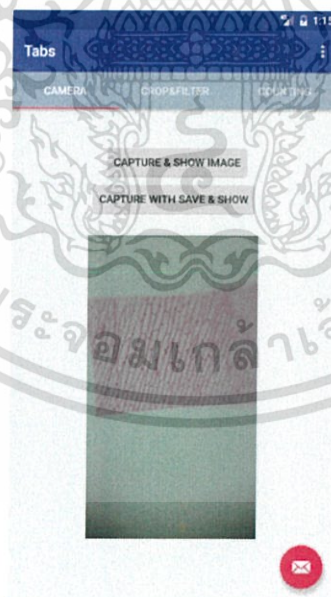
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 หน้าจอแอปพลิเคชันของแต่ละ Fragment ต่างๆกัน สามารถเปลี่ยนแต่ละหน้าจอได้โดยการสไลด์ไป
ด้านข้าง

แบ่งเป็นขั้นตอน 3 ขั้นตอน ดังนี้

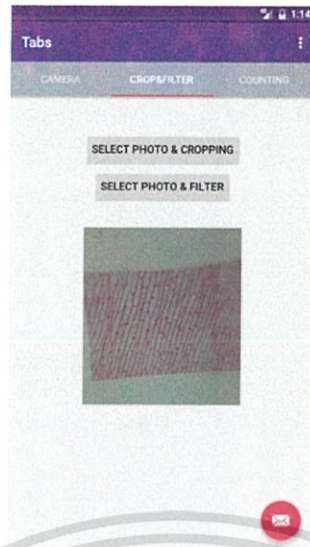
1. Fragment ที่หนึ่งจะเป็นส่วนของกล้องถ่ายภาพ บันทึกรูปภาพ และนำมาใช้งานต่อ



รูปที่ 4.30 หน้าจอแอปพลิเคชันของ Fragment แรก หลังจากการถ่ายรูปเซลล์เยื่อหุ้ม และบันทึกเสร็จสิ้น

2. Fragment ที่สองจะเป็นในส่วนของการปรับแต่งรูปภาพ ไม่ว่าจะเป็นการครอบรูป หมุนภาพ ฟิลเตอร์กรองสีต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.31 หน้าจอแอปพลิเคชันของ Fragment ที่สอง หลังจากการปรับแต่งรูป ครอปรูปภาพเซลล์เยื่อหุ้มให้มีขนาดที่เหมาะสม และบันทึกเสร็จสิ้น

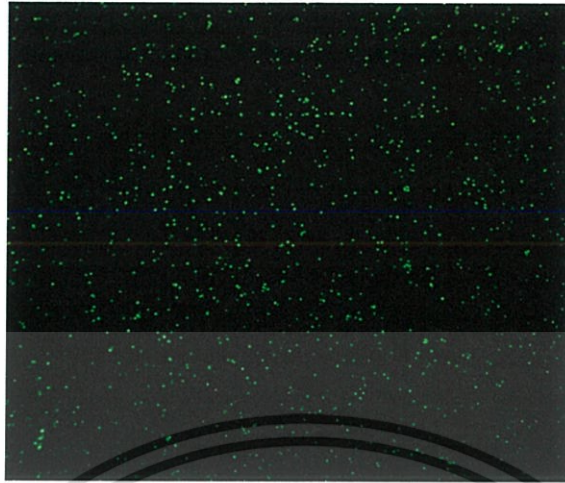
- Fragment ที่สามจะเป็นในส่วนของการปรับแต่งรูปภาพที่เกี่ยวข้องกับการนับจำนวนวัตถุไม่ว่าจะเป็น Threshold, binary, grayscale และ Morphology ต่างๆ



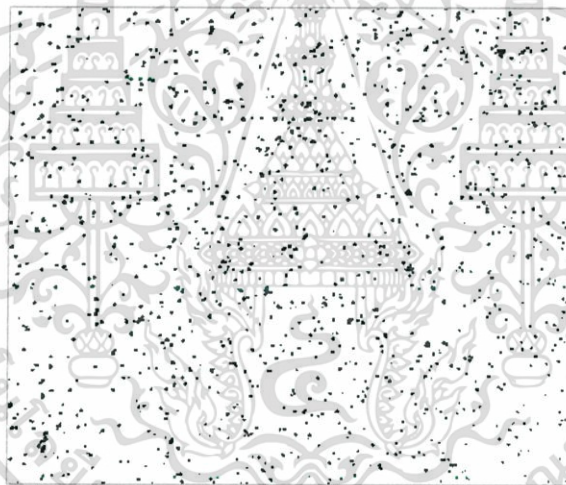
รูปที่ 4.32 หน้าจอแอปพลิเคชันของ Fragment ที่สาม หลังจากการปรับแต่งรูป Grayscale ของภาพเซลล์เยื่อหุ้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของรูปต่างๆที่ได้จากการบันทึกภาพ และขั้นตอนต่างๆสามารถแสดงได้ดังนี้

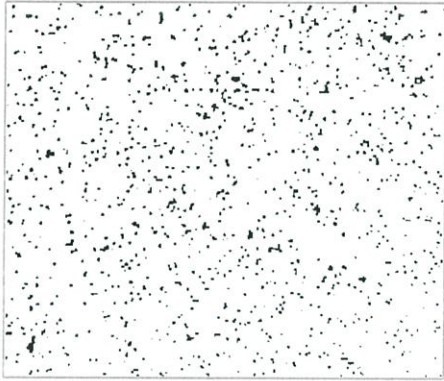


รูปที่ 4.33 ภาพสไลด์การทดลองต้นแบบที่ใช้โดยมีวัตถุคือเชื้อ E. coli

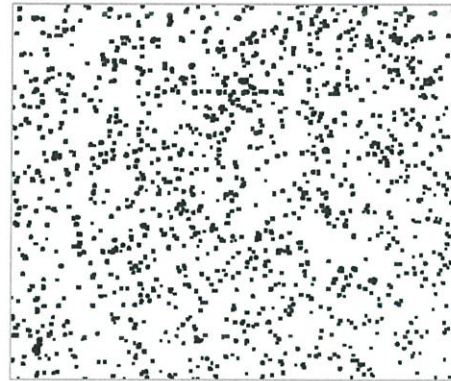


รูปที่ 4.34 ภาพสไลด์การทดลองเชื้อ E. coli หลังจากการ Threshold ที่ 40 และ binary

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35



รูปที่ 4.36

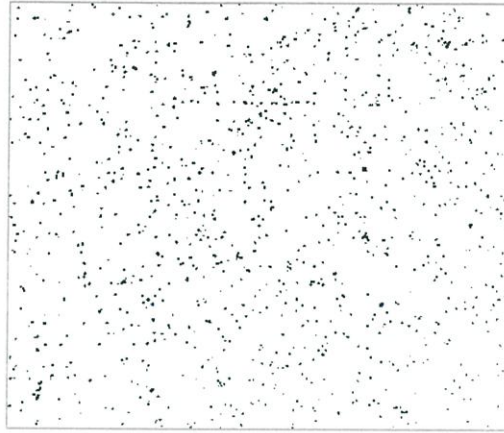


รูปที่ 4.37

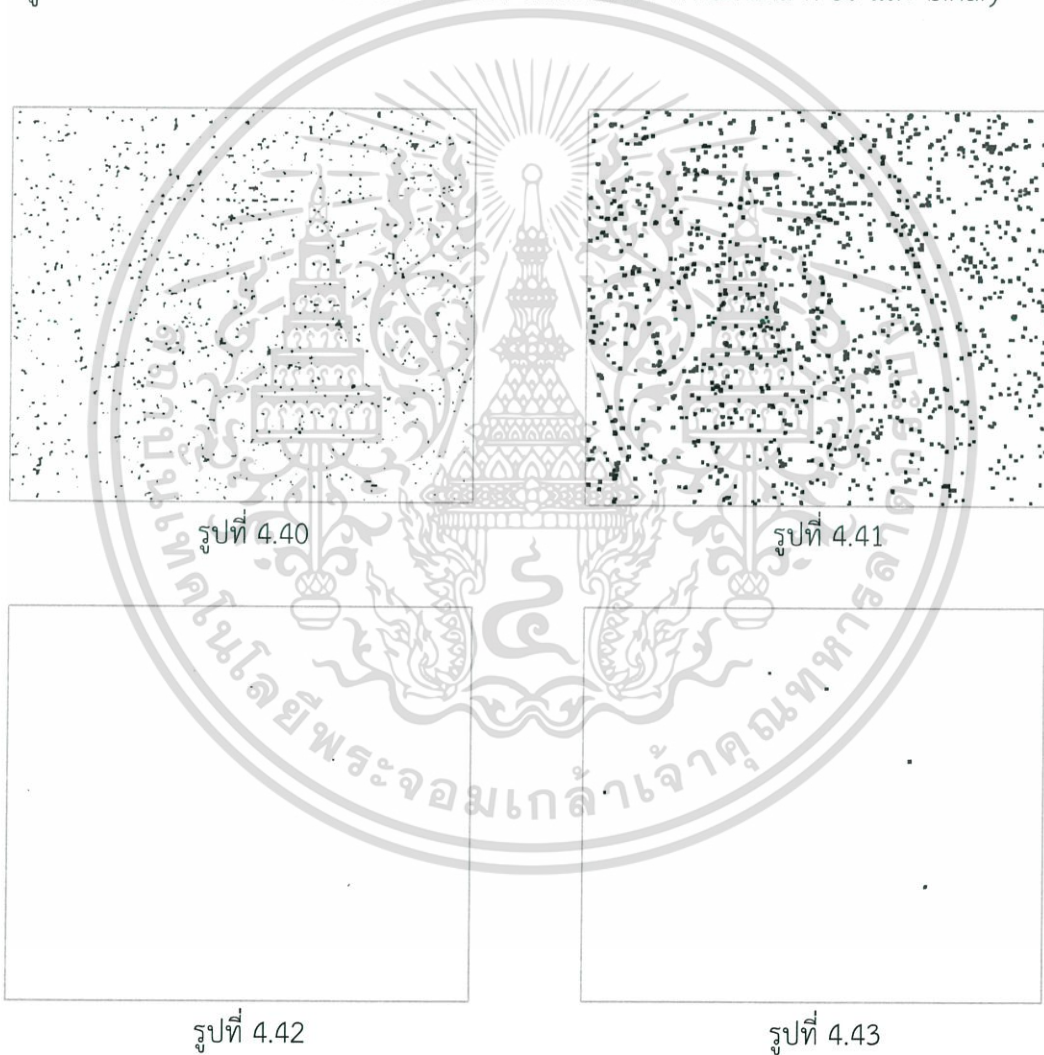
รูปที่ 4.38

- รูปที่ 4.35 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 40 และทำการอโรชั่น
 รูปที่ 4.36 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 40 และทำการดิเลชั่น
 รูปที่ 4.37 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 40 และทำการโอเพนนิ่ง
 รูปที่ 4.38 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 40 และทำการโคลสซิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.39 ภาพสไลด์การทดลองเชื้อ E. coli หลังจากการ Threshold ที่ 80 และ binary



- รูปที่ 4.40 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 80 และทำการอีโรชั่น
 รูปที่ 4.41 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 80 และทำการดิเลชั่น
 รูปที่ 4.42 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 80 และทำการโอเพนนิ่ง
 รูปที่ 4.43 ภาพจากการทำเทรตไซด์ที่ระดับ 80 และทำการโคลสซิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนผลของการนับวัตถุด้วยวิธีต่างๆสามารถบันทึกผลและแสดงได้ดังตารางต่างๆต่อไปนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงการนับวัตถุที่ทำการประมวลผลโดยเทรตไซด์ที่ระดับ 40 และการทำมอลโฟโลยี

Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean
E.coli	1109	6678	6.022	4.02	64.968
E.coli Erode	58	23.5	0.405	0.056	255
E.coli Dilate	671	2997.45	4.467	7.98	255
E.coli Open	56	154.25	2.754	0.37	255
E.coli Close	598	1380.886	2.309	3.309	255

ตารางที่ 4.2 แสดงการนับวัตถุที่ทำการประมวลผลโดยเทรตไซด์ที่ระดับ 80 และการทำมอลโฟโลยี

Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean
E.coli	250	431.255	1.725	1.04	255
E.coli Erode	5	2.483	0.497	0.006	255
E.coli Dilate	749	3020.103	4.032	7.24	255
E.coli Open	5	14.982	2.996	0.036	255
E.coli Close	125	350.623	2.805	0.842	255

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ

ในส่วนของการทำฮาร์ดแวร์หรือตัวกล่องจุลทรรศน์และซอฟต์แวร์นี้เป็นเพียงต้นแบบ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ส่วนของซอฟต์แวร์ ใส่ฟังก์ชันหรือวิธีการแยกวัตถุเพื่อให้ได้ความแม่นยำ เพื่อให้หน้าการใช้งานที่ปรับได้โดยผู้ใช้งานอาจปรับให้มีฟังก์ชันการใช้งานที่มากขึ้น พร้อมกับวิธีในการแยกวัตถุที่หลากหลายขึ้นใน ส่วนของการทำคอลลิเรชัน ตัวภาพที่ต้องการจะตรวจจับวัตถุ โดยการเปิดกล้องและถ่ายภาพออกมา แล้ว จากนั้นจึงทำการผ่านเข้าไปในระบบการทำไบนารี Morphology ต่างๆ

2. ในส่วนของ ฮาร์ดแวร์ ออกแบบให้มีความเสถียรในการปรับ Stage Slide ได้ ด้วยการ ใส่มอเตอร์ เพื่อช่วยขับเคลื่อนการปรับให้นิ่งและแม่นยำมากขึ้น โดยควบคุมด้วย Arduino และออกแบบให้สามารถปรับ กำลังขยายทั้งสูงและต่ำได้จากการใช้ระบบ Single lens และมีชุด lens case สำหรับเปลี่ยนไปใช้เลนส์อื่นๆ ได้ สามารถปรับแกน X Y Z ได้ และทำให้เป็นระบบปิด แต่ยังคงมีแสงภายนอกผ่านเข้าไปได้เล็กน้อย มีการใช้ LED ที่มีความจำเพาะต่อช่วงของเทคนิค Fluorescent

ข้อเสนอแนะในการพัฒนาต่อไป

1. ในส่วนของซอฟต์แวร์ ออกแบบตัวแอปพลิเคชันให้มีหน้าต่างที่ใช้งานมากขึ้น และเพิ่มในส่วน ของ Morphology ต่าง ๆ ใส่ฟังก์ชันในการแยกวัตถุที่ติดกันให้ดียิ่งขึ้น เพิ่มในส่วนของคอลลิเรชัน และปรับค่าให้ตรงกับค่าจริงที่มาจากภาพต้นแบบ
2. ในส่วนของ ฮาร์ดแวร์ ออกแบบให้มีความเสถียรในระดับไมโครเมตร เนื่องจากต้องการความละเอียดในการเก็บแฉมเปิด และสามารถตรวจวัดวัตถุเป้าหมายซึ่งนี่ก็คือเซลล์มะเร็งได้อย่างครอบคลุม โดยการออกแบบให้เปลี่ยนไปใช้มอเตอร์ที่มี accuracy ที่มากขึ้น รวมไปถึงพัฒนาให้มีระบบปิด 100% คือไม่ให้แสงจากภายนอกเข้าไปได้เลย อีกทั้งปรับในส่วน of stage ให้มีการเคลื่อนได้อย่างราบรื่น ลดขนาดของ screw และออกแบบชิ้นงานให้ให้มีขนาดเล็กยิ่งขึ้นเพื่อให้พกพาได้สะดวก และ LED ทำตัวควบคุมเพื่อให้สามารถปรับค่าความสว่างได้มากหรือน้อยตามต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก.

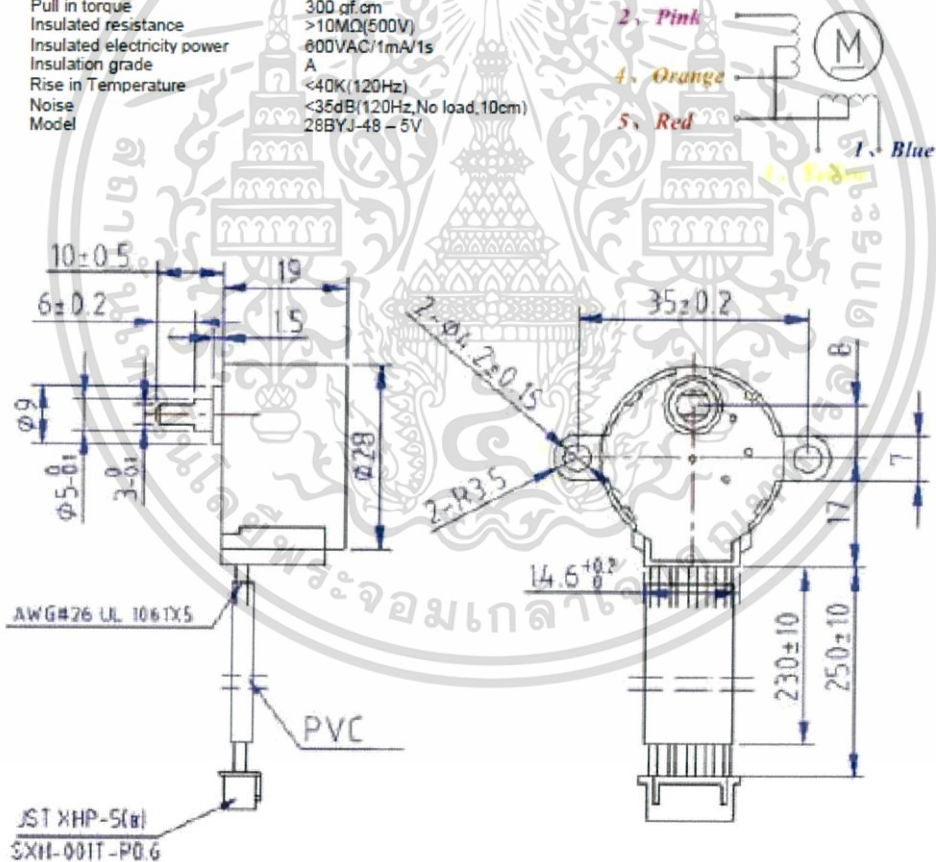
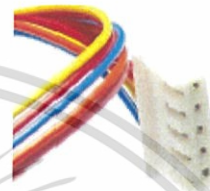
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28BYJ-48 – 5V Stepper Motor

The 28BYJ-48 is a small stepper motor suitable for a large range of applications.



Rated voltage :	5VDC
Number of Phase	4
Speed Variation Ratio	1/64
Stride Angle	5.625°/64
Frequency	100Hz
DC resistance	50Ω±7%(25°C)
Idle In-traction Frequency	> 600Hz
Idle Out-traction Frequency	> 1000Hz
In-traction Torque	>34.3mN.m(120Hz)
Self-positioning Torque	>34.3mN.m
Friction torque	600-1200 gf.cm
Pull in torque	300 gf.cm
Insulated resistance	>10MΩ(500V)
Insulated electricity power	600VAC/1mA/1s
Insulation grade	A
Rise in Temperature	<35dB(120Hz, No load, 10cm)
Noise	<35dB(120Hz, No load, 10cm)
Model	28BYJ-48 – 5V



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fast Electrically Tunable Lens EL-10-30 Series



Option	EL-10-30	EL-10-30-C	EL-10-30-Ci
Cover glass coatings	VIS ¹ , NIR ²	VIS, NIR, 1064 ³	VIS, NIR, 1064 ⁴
Optional offset lens	No	Yes	Yes

¹400-700 nm broad band ²700-1100 nm infra-red broad band ³narrow band 1064 nm

Mechanical specifications

	EL-10-30	EL-10-30-C	EL-10-30-Ci	
Clear aperture	10	10	10	mm
External diameter	30	30	Oval shape 48x30.5	mm
Thickness	10.75	24.6	24.6	mm
Weight	22.9	34.0	46.0	g
Connector length	300	100	1000 ¹	mm
Lifecycles (10-90% sinusoidal)	>1'000'000'000	>1'000'000'000	>1'000'000'000	
Temperature sensor & memory	-	Yes (SE97B)	Yes (SE97B)	

Electrical specifications

Absolute maximum voltage	5	V
I2C supply voltage	3.3 (nominal), 3.6 (maximum)	V
Nominal control current with Lens Driver 4	0 to 250	mA
Absolute max. control current	0 to 400	mA
Power consumption	0 to 0.9 (nominal), 0 to 2.0 (absolute max.)	W
Response time (10%-90% step)	<2.5	ms
Settling time (typical at 30°C)	15 (rectangular step), 6 (controlled step)	ms

Optical specifications

	EL-10-30 (LD liquid)	EL-10-30-C & Ci (LD liquid)	
Focal tuning range @ 30°C ²	+50 to +120	+100 to +200	mm
Dispersion (at 20°C) 486 nm		1.302	
589 nm		1.300	
656 nm		1.299	
800 nm		1.298	
1065 nm		1.297	
1550 nm		1.296	
Abbe number V		100	
Wavefront error (@530 nm, 0 mA)	<0.25 / <0.5	<0.15 / <0.25	λ RMS
Optical axis vertical / horizontal			
Lens type		plano-convex	
Transmission spectrum		see Figure 7	
Optical damage threshold @ 1064 nm		10	kW/cm ²
Centration		<2	arcminutes
Polarization		preserving	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

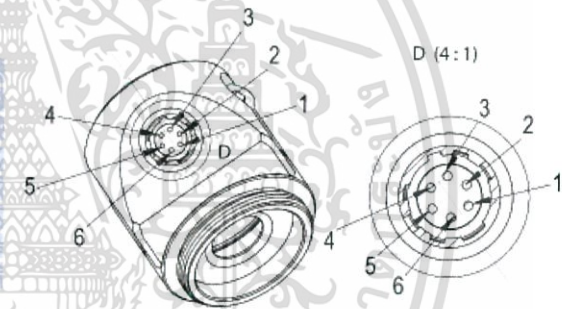
Thermal specifications

	EL-10-30 (LD liquid)	EL-10-30-C & Ci (LD liquid)	
Storage temperature	[-40,+85]	[-40,+85]	°C
Operating temperature ²	[-20,+65]	[-20,+65]	°C

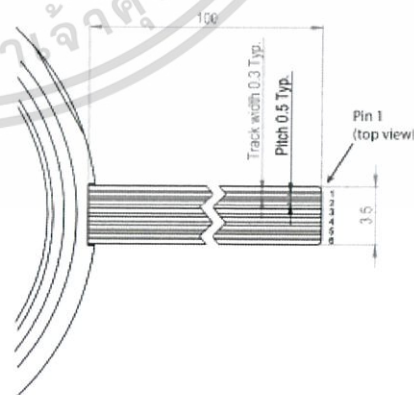
Overview of available standard products

Standard products	Tuning range ²	Refractive index	Cover glass coating	RMS wave-front error ³	Integrated offset lens	Temperature sensor
EL-10-30-VIS-LD	+8.3 to +20 dpt	1.30	400 – 700 nm	<0.50 λ	No	No
EL-10-30-NIR-LD	+8.3 to +20 dpt	1.30	700 – 1100 nm	<0.50 λ	No	No
EL-10-30-C-VIS-LD	+5 to +10 dpt	1.30	400 – 700 nm	<0.25 λ	No	Yes
EL-10-30-C-NIR-LD	+5 to +10 dpt	1.30	700 – 1100 nm	<0.25 λ	No	Yes
EL-10-30-C-VIS-LD-MV	-1.5 to +3.5 dpt	1.30	400 – 700 nm	<0.25 λ	Yes (-150 mm)	Yes
EL-10-30-C-NIR-LD-MV	-1.5 to +3.5 dpt	1.30	700 – 1100 nm	<0.25 λ	Yes (-150 mm)	Yes
EL-10-30-Ci-VIS-LD	+5 to +10 dpt	1.30	400 – 700 nm	<0.25 λ	No	Yes
EL-10-30-Ci-NIR-LD	+5 to +10 dpt	1.30	700 – 1100 nm	<0.25 λ	No	Yes
EL-10-30-Ci-VIS-LD-MV	-1.5 to +3.5 dpt	1.30	400 – 700 nm	<0.25 λ	Yes (-150 mm)	Yes
EL-10-30-Ci-NIR-LD-MV	-1.5 to +3.5 dpt	1.30	700 – 1100 nm	<0.25 λ	Yes (-150 mm)	Yes

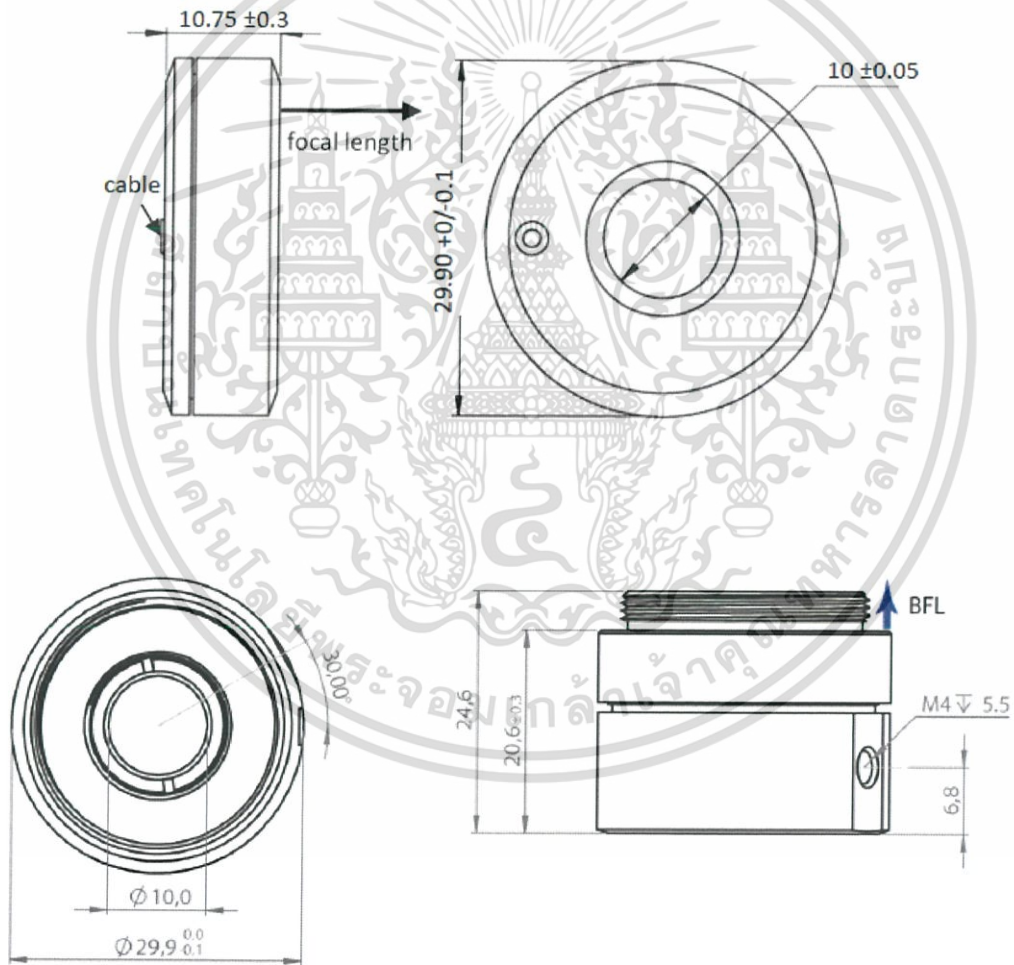
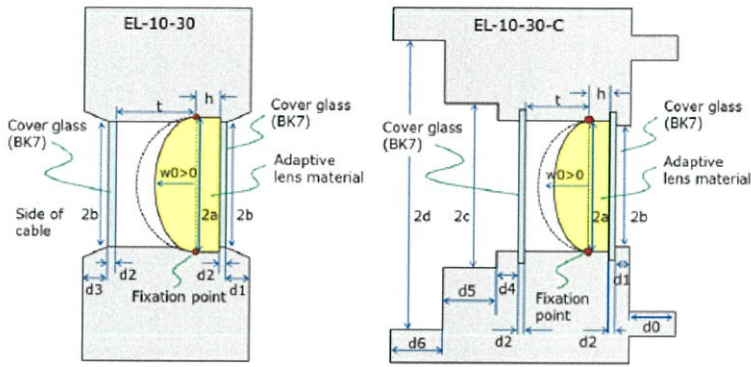
Pinning EL-10-30-Ci		
Position	Function	SE97B Pins
1	Lens (+ pole)	-
2	Lens (- pole)	-
3	SE97B Gnd	1-4
4	SE97B Vcc 3.3V	8
5	SE97B SCL	6
6	SE97B SDA	5



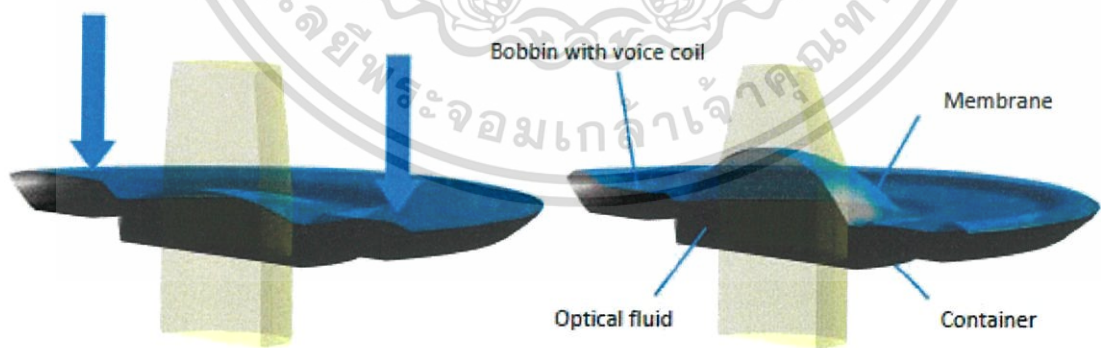
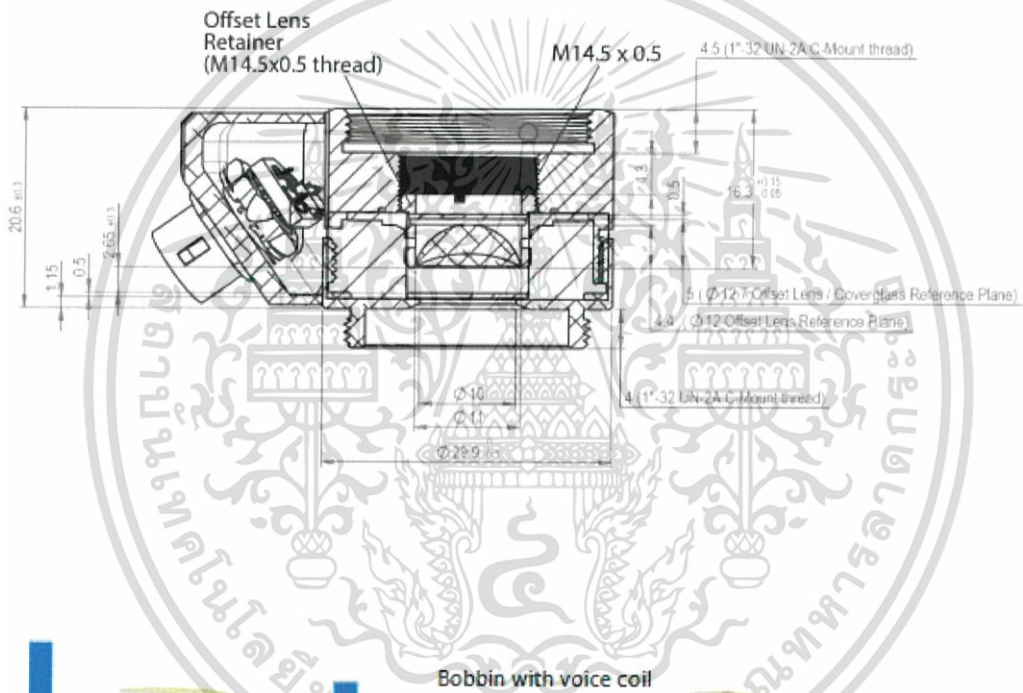
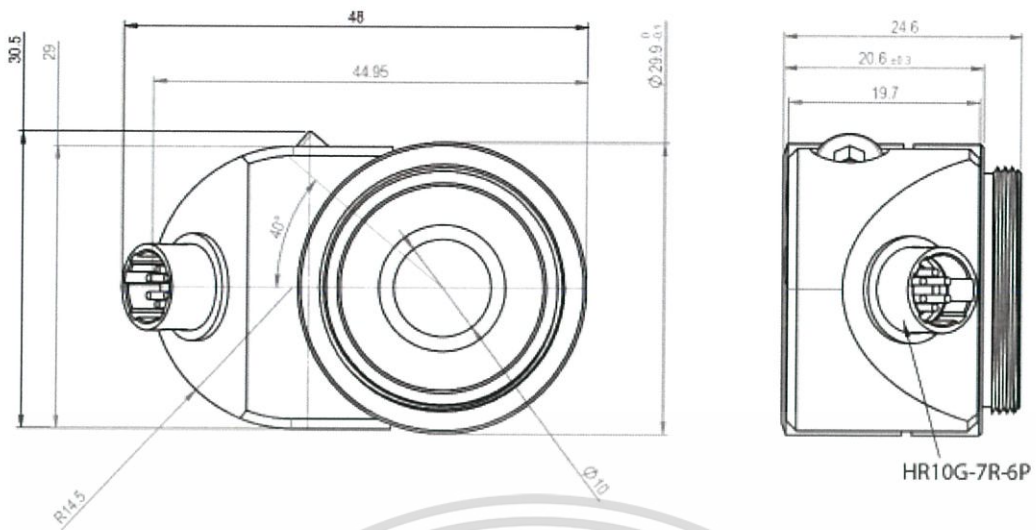
Pinning EL-10-30-C		
Position	Function	SE97B Pins
1	SE97B Gnd	1-4
2	Lens (- pole)	-
3	Lens (+ pole)	-
4	SE97B SDA	5
5	SE97B SCL	6
6	SE97B Vcc 3.3V	8



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

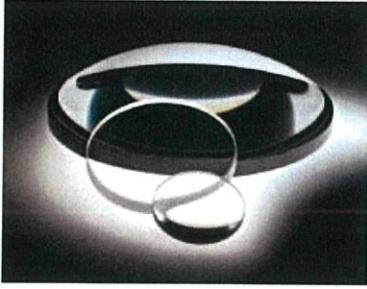


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TECHSPEC® 12.0mm Dia. x 12.0mm FL, Uncoated, Plano-Convex Lens

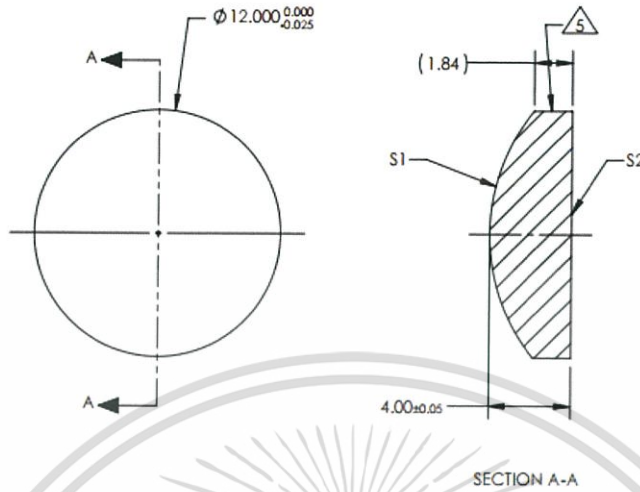


Specifications


Diameter (mm):	12.0
Back Focal Length BFL (mm):	9.76
Diameter Tolerance (mm):	+0.0/-0.025
Centering (arcmin):	<1
Edge Thickness ET (mm):	1.84
Clear Aperture CA (mm):	11.00
Numerical Aperture NA:	0.50
Type:	Plano-Convex Lens
Wavelength Range (nm):	400 - 2500
Effective Focal Length EFL (mm):	12.0
Substrate:	N-SF11
Center Thickness Tolerance (mm):	±0.1
Center Thickness CT (mm):	4.00
Radius R ₁ (mm):	9.42
f/#:	1
Focal Length Specification Wavelength (nm):	587.6
Bevel:	Protective bevel as needed

RoHS: **Compliant**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




Edmund Optics®

THIRD ANGLE PROJECTION		TITLE	12.0mm Dia. x 12.0mm FL, Uncoated, Plano-Convex Lens
ALL DIMS IN	mm	DWG NO	45083
			SHEET 1 OF 1

	S1	S2
SHAPE	CONVEX	PLANO
RADIUS	9.42	INFINITY
SURFACE QUALITY	40 - 20	40 - 20
MIN CLEAR APERTURE	$\varnothing 11.00$	$\varnothing 11.00$
MIN COATING APERTURE	N/A	N/A
POWER AT 632.8nm	3.00 RINGS	3.00 RINGS
IRREGULARITY AT 632.8nm	0.50 RINGS	0.50 RINGS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TECHSPEC® 6.0mm Dia. x 6.0mm FL, Uncoated, Plano-Convex Lens

Stock No. #45-077

Specifications

Diameter (mm)	6.0
Diameter Tolerance (mm)	+0.0/-0.025
Clear Aperture CA (mm)	5.4
Effective Focal Length EFL (mm)	6.0
Back Focal Length BFL (mm)	4.60
Focal Length Tolerance (%)	±1
Focal Length Specification Wavelength (nm)	587.6
Radius R ₁ (mm)	4.71
Edge Thickness ET (mm)	1.42
Center Thickness CT (mm)	2.50
Center Thickness Tolerance (mm)	±0.1
Centering (arcmin)	±3
Surface Quality	40-20
Bevel	Protective bevel as needed
Substrate	N-SF11
Coating	Uncoated
f/#	1
Numerical Aperture NA	0.50
Type	Plano-Convex Lens
Wavelength Range (nm)	400 - 2500
Irregularity (P-V) @ 632.8nm	λ/4
Power (P-V) @ 632.8nm	1.5λ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้