

การหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากภาพถ่ายจากกล้องเอชอีเอ็ม โดยเทคนิค
การหารูปร่างจากความสัมพันธ์ของแสงและเงาของภาพ



นางสาวสุภาพร บุญฤทธิ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์คอมพิวเตอร์ ภาควิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์


คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-347-252-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DETERMINATION OF ERYTHROCYTE'S SURFACE SHAPE FROM SEM IMAGES
USING SHAPE FROM SHADING TECHNIQUE



Miss Supaporn Bunrit

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Computer Science

Department of Computer Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

ISBN 974-347-252-2

สุภาพร บุญฤทธิ์ : การหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากภาพถ่ายจากกล้องเอชอีเอ็ม โดยเทคนิคการหารูปร่างจากความสัมพันธ์ของแสงและเงาของภาพ (DETERMINATION OF ERYTHROCYTE'S SURFACE SHAPE FROM SEM IMAGES USING SHAPE FROM SHADING TECHNIQUE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.นงลักษณ์ โควาศิราช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร.บัณฑิต ทิพากร, 79 หน้า. ISBN 974-347-252-2.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเทคนิค Shape from Shading (SFS) มาใช้เป็นแนวทางในการหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากภาพถ่ายด้วยกล้อง SEM จากการศึกษาและการนำรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM มาประยุกต์ใช้กับวิธีการแบบทั่วไปของเทคนิค SFS ที่มีอยู่ ซึ่งใช้หลักการประมาณแบบเชิงเส้น พบว่าการเกิดค่าระดับเทาในฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ซึ่งแปรตามฟังก์ชันของ secant นั้นไม่เหมาะสมกับการใช้หลักการประมาณแบบเชิงเส้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เสนอวิธีการที่ใช้หลักการประมาณแบบ ไม่เชิงเส้นที่ปรับปรุงมาจากวิธีการแบบเชิงเส้นสำหรับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM จากการทดสอบวิธีการที่เสนอกับรูปที่สร้างขึ้นตามหลักการทดสอบของเทคนิค SFS โดยใช้ภาพทรงกลมและภาพแจกันที่ทราบความสูง พบว่ามีค่าความผิดพลาดจากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงเป็น 0.9 ทั้งของภาพทรงกลมและภาพแจกัน ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับวิธีการที่ใช้หลักการประมาณแบบเชิงเส้น และลักษณะพื้นผิวที่ได้ก็มีความใกล้เคียงกับลักษณะของพื้นผิวจริงของภาพที่สร้างขึ้นมากกว่า

ผลการนำวิธีการที่เสนอไปใช้หาลักษณะพื้นผิวของภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ได้ผลลัพธ์เป็นค่าความสูงของแต่ละจุดในภาพ และสามารถแสดงให้เห็นลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงได้จากค่าความสูงที่แสดงเป็น 3 มิติ นอกจากนี้ยังได้นำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงมาใช้ในการอธิบายลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ ดังนั้นการนำเทคนิค SFS มาหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากภาพ SEM จึงสามารถนำข้อมูลใน 3 มิติที่ได้มาใช้ในการอธิบายลักษณะของเม็ดเลือดแดงได้ ในขณะที่วิธีอธิบายลักษณะของเม็ดเลือดแดงแบบเดิมที่ใช้ทางด้านการแพทย์เป็นการนำข้อมูลใน 2 มิติมาใช้เท่านั้น

ภาควิชา	วิศวกรรมคอมพิวเตอร์	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์คอมพิวเตอร์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2543	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4070472121 : MAJOR COMPUTER SCIENCE

KEY WORD: SURFACE SHAPE/ SEM IMAGES/ SFS TECHNIQUE

SUPAPORN BUNRIT : DETERMINATION OF ERYTHROCYTE'S SURFACE SHAPE FROM SEM IMAGES USING SHAPE FROM SHADING TECHNIQUE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NONGLUK COVAVISARUCH THESIS CO-ADVISOR : BUNDIT THIPAKORN, Ph.D., 79 pp. ISBN 974-347-252-2.

The purpose of this research is to use the Shape from Shading (SFS) technique as a guideline to determine an erythrocyte's surface shape from SEM images. From the study and the results when applying SEM reflectance model with a general existing linear approximation approach of SFS technique, it has been found that gray scale values production in the SEM reflectance function, which varies upon secant function, are not appropriate with such a linear approximation approach. Therefore, a non-linear approximation approach that is adapted from linear approximation approach for the SEM reflectance model is introduced. This approach has been tested with known depth synthetic images, which are a sphere and a vase that are generated according to an SFS's testing method. From the experiment, the errors of the average magnitude of gradient of depth are 0.9 both on the sphere and the vase. These error values are very low compared to those from the linear approximation approach. The surface shapes are also more similar to the real synthetic surface shapes.

The result from using the proposed approach to determine the erythrocyte's surface shape from SEM images is the depth value of each image pixel. The erythrocyte's surface shape can be viewed by representing the depth values in 3-dimension perspective. Besides, the standard deviation of the gradient of depth is used to describe the erythrocyte's surface shape. Hence, using the SFS technique to determine erythrocyte's surface shape from SEM images can describe the erythrocyte's shape from the 3-dimension information whereas the existing methods in medicine use only 2-dimension information.

Department	Computer Engineering	Student's signature.....
Field of study	Computer Science	Advisor's signature.....
Academic year	2000	Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ ผศ.นงลักษณ์ โควาศิลาวิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.บัณฑิต ทิพากร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งได้สละเวลาให้คำแนะนำ เสนอแนะข้อคิดเห็นและแนวทางในการค้นคว้าตลอดมาในช่วงที่ผู้วิจัยทำงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบคุณ นพ.บรรลือศักดิ์ อาชวานันทกุล แพทย์ประจำหน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ได้เอื้อเฟื้อชุดภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM เพื่อนำมาใช้ทดลองในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.สุเทพ มาตราศรี อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจสอบที่มาของสมการทางคณิตศาสตร์หลัก ๆ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.สิริจุฑารัตน์ โควาศิลาวิช อาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับแหล่งข้อมูลต่าง ๆ ในการค้นคว้าความรู้เกี่ยวกับกล้อง SEM รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ ที่ควรทราบเกี่ยวกับกล้อง SEM

ขอขอบคุณ พี่ศุภางค์ มณีศรี เจ้าหน้าที่ทางเทคนิคหน่วยจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับหลักการทำงานของกล้อง SEM และวิธีการมองภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM

ขอขอบคุณน้อง ๆ และเพื่อนร่วมงานในห้องปฏิบัติการ CGCI ทุกคน ที่ได้ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมาในระหว่างการทำวิจัย โดยเฉพาะน้องทศพล ธนะทิพานนท์ ที่ได้คำแนะนำเกี่ยวกับการเขียนโปรแกรมทดสอบสำหรับงานวิจัยนี้ และน้องนันทนา อินรุ่งโรจน์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจสอบหลักภาษาที่ใช้ในรูปเล่มวิทยานิพนธ์นี้

ท้ายที่สุดนี้ผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณบิดามารดาที่ให้การอุปการะเลี้ยงดู อบรมสั่งสอน รวมทั้งส่งเสริมให้การศึกษาอย่างต่อเนื่องให้กับผู้วิจัยตลอดมา

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 ปัญหาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ขอบเขตการวิจัย	4
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
2 ความรู้และทฤษฎีเบื้องต้น	
2.1 หลักการทำงานของกล้อง SEM	6
2.1.1 ส่วนประกอบพื้นฐานของกล้อง SEM.....	6
2.1.2 การเกิดภาพจากกล้อง SEM.....	8
2.2 เม็ดเลือดแดง.....	9
2.2.1 รูปร่างลักษณะและขนาดเม็ดเลือดแดง.....	9
2.2.2 ภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM.....	11
2.3 เทคนิค Shape from Shading (SFS Technique).....	11
2.3.1 หลักการของเทคนิค Shape from Shading	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	14
2.5 เทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการประมาณแบบเชิงเส้น	16
3 เทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการประมาณแบบไม่เชิงเส้น	
3.1 หลักการทั่วไปที่ใช้ทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS	21
3.1.1 การสร้างภาพทดสอบ	21
3.1.2 การประเมินผล	23
3.2 การนำวิธีการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM.....	24

3.3	การปรับปรุงวิธีการประมาณแบบเชิงเส้นไปเป็นการประมาณแบบไม่เชิงเส้น.....	26
3.4	การวิเคราะห์ผลจากการทดสอบและประเมินและข้อสรุปที่ได้	29
3.4.1	การวิเคราะห์ผลการทดสอบและประเมิน	29
3.4.2	ผลสรุปวิธีการที่จะนำไปใช้กับภาพจริงที่ถ่ายจากกล้อง SEM	31
4	การใช้เทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการแบบไม่เชิงเส้นกับภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM	
4.1	การจัดเตรียมข้อมูลภาพเม็ดเลือดแดง.....	32
4.2	การนำเทคนิค SFS ไปใช้กับข้อมูลภาพเม็ดเลือดแดง.....	34
4.3	แนวทางการวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้จากเทคนิค SFS	36
4.4	ข้อสรุปที่ได้จากการนำเทคนิค SFS ไปประยุกต์ใช้กับเม็ดเลือดแดง	38
5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1	สรุปผลการวิจัย.....	39
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	40
	รายการอ้างอิง.....	41
	ภาคผนวก	
	ภาคผนวก ก	
	ผลการทดลองจากแต่ละชุดภาพเม็ดเลือดแดง	44
	ภาคผนวก ข	
	บทความที่นำเสนอในงานการประชุมวิชาการ	71
	ประวัติผู้วิจัย	79

สารบัญตาราง

ตารางที่

3.1	ความผิดพลาดจากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงที่ได้จากการนำวิธีการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM.....	25
3.2	ความผิดพลาดจากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงที่ได้จากวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้.....	29
3.3	ผลลัพธ์จากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง.....	30
4.1	ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง และค่า CIRSf ของตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดง.....	37
ก.1	ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง และค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 1.....	45
ก.2	ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง และค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 2.....	53
ก.3	ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง และค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 3.....	63

สารบัญภาพ

รูปที่

1.1	แผนภาพจำลองวงจรการถ่ายเลือดให้แก่ผู้ป่วยผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ ที่ได้มาจากหน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	2
1.2	ภาพเม็ดเลือดแดงปกติที่ถ่ายจากกล้อง SEM.....	3
1.3	ภาพถ่ายจากกล้อง SEM ของเม็ดเลือดแดงหลังผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ของวงจรถ่ายเลือด ผ่านปั๊มที่หน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้พัฒนาขึ้น.....	3
2.1	ส่วนประกอบพื้นฐานของระบบกล้อง SEM.....	7
2.2	secondary electron ถูกจับโดยอุปกรณ์รวบรวมสัญญาณ.....	9
2.3	ลักษณะของรูปร่างเม็ดเลือดแดงปกติที่เป็น biconcave disc.....	10
3.1	ลักษณะพื้นผิวของทรงกลมและแจกันที่ได้จากการสร้างขึ้นจากสมการคณิตศาสตร์	22
3.2	ภาพระดับเทาที่ได้จากการสร้างจากสมการของ image irradiance equation	23
3.3	ลักษณะพื้นผิวของทรงกลมและแจกันที่ได้จากวิธีการแบบเชิงเส้น	25
3.4	กราฟแสดงค่าของฟังก์ชัน $\cos(\theta)$ และ $\sec(\theta)$	26
3.5	ลักษณะพื้นผิวของภาพทรงกลมและแจกันที่ได้จากที่ได้จากการทดสอบกับวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้.....	29
3.6	ลักษณะพื้นผิวของภาพทรงกลมและแจกันที่ได้จากที่ได้จากการทดลองเพิ่มเติมกับวิธีการแบบเชิงเส้น	30
4.1	ตัวอย่างเม็ดเลือดแดงบางเม็ดที่เลือกออกมาจากภาพต้นฉบับในรูปที่ 1.2	32
4.2	ตัวอย่างเม็ดเลือดแดงจากรูปที่ 4.1 ที่ผ่านการแบ่งส่วนด้วยมือและกำหนดให้พื้นหลังเป็นสีขาว.....	32
4.3	ตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงจากรูปที่ 4.2 ที่ผ่านการ invert แล้ว.....	33
4.4	ลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติที่ได้จากเทคนิค SFS ของเม็ดเลือดแดงทางซ้ายมือ (จากรูปที่ 4.2ค) .	35
4.5	ลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติที่ได้จากเทคนิค SFS ของเม็ดเลือดแดงทางซ้ายมือ (จากรูปที่ 4.2จ) ..	35

บทที่ 1

บทนำ

ในบทนำของงานวิจัยนี้ เริ่มจากการกล่าวถึงปัญหาและความสำคัญของปัญหาที่เกี่ยวข้องในงานวิจัย ตามด้วยวัตถุประสงค์ของการวิจัย ขอบเขตการวิจัย ขั้นตอนการดำเนินงานและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับตามลำดับ

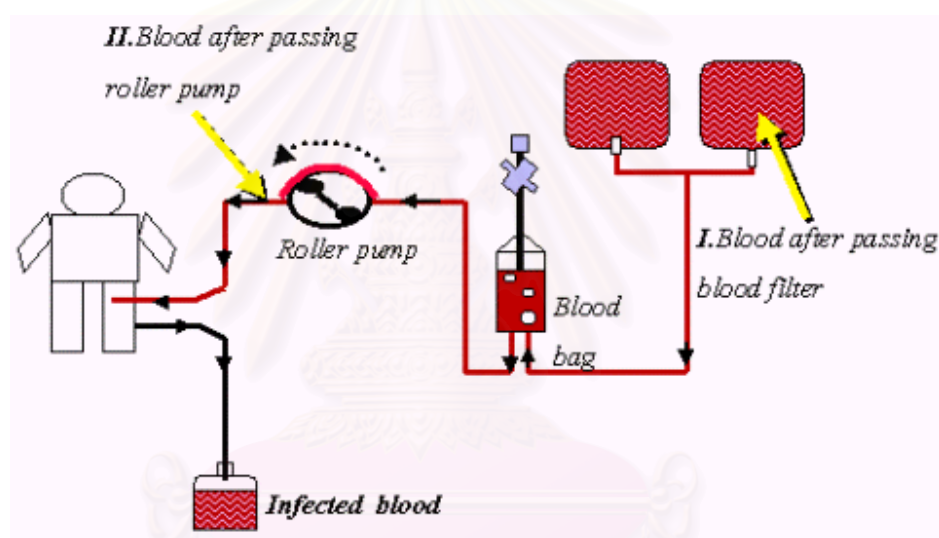
1.1 ปัญหาและความสำคัญของปัญหา

เม็ดเลือดแดง (red blood cell) นั้นเป็นเซลล์ที่มีความจำเพาะไม่เหมือนเซลล์ในอวัยวะอื่นทั้งในลักษณะรูปร่าง คุณสมบัติ ตลอดจนหน้าที่และวิธีการในการทำหน้าที่ [1] และมีสาเหตุต่าง ๆ มากมายที่ทำให้เกิดความผิดปกติขึ้นกับเม็ดเลือดแดง ไม่ว่าจะเป็นความผิดปกติเนื่องจากการสร้างเซลล์ เนื่องจากการเกิดโรคชนิดต่าง ๆ หรือเนื่องจากการผ่านขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์ หรือขั้นตอนในการเก็บรักษาเลือด การศึกษาถึงคุณลักษณะของเม็ดเลือดแดงในสภาวะต่าง ๆ จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจและมีประโยชน์เป็นอย่างมาก

หน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับรูปร่างของเม็ดเลือดแดงในวงจรการถ่ายเลือดให้แก่ผู้ป่วย รูปที่ 1.1 แสดงแผนภาพจำลองวงจรการถ่ายเลือดโดยผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ (roller pump) ที่หน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้พัฒนาขึ้น ภาพเม็ดเลือดแดงจากสภาวะแต่ละสภาวะในวงจร คือสภาวะที่เป็นเม็ดเลือดแดงปกติก่อนผ่านวงจร สภาวะหลังผ่านตัวกรองเลือดในวงจร (ตำแหน่ง I ในรูป) และสภาวะหลังผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ในวงจร (ตำแหน่ง II ในรูป) ซึ่งเป็นภาพที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบกราดลำแสง (*scanning electron microscope, SEM*) นั้นถูกนำไปวิเคราะห์เพื่อต้องการศึกษาว่ารูปร่างของเม็ดเลือดแดงในแต่ละสภาวะในวงจรการถ่ายเลือดนั้นเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ โดยมีการตั้งสมมุติฐานว่าเม็ดเลือดแดงปกติมีรูปร่างกลม ถ้าแต่ละสภาวะในวงจรไม่มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนรูปร่างไป เม็ดเลือดแดงที่เก็บตัวอย่างมากก็ควรจะมีรูปร่างเหมือนเม็ดเลือดแดงปกติ นั่นคือมีรูปร่างกลมเหมือนเดิม ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ในงานวิจัยวิธีหนึ่งคือ ใช้วิธีวิเคราะห์ภาพ (image analysis) เพื่อหาค่าแสดงความกลมของรูปร่าง (*circular shape factor, CIRSf*) [2] ดังสมการที่ 1

$$\text{CIRSF} = \frac{4\pi \times \text{area}}{\text{perimeter}^2} \quad \dots(1)$$

ค่า CIRSF ที่ใช้ในงานวิจัยดังกล่าวข้างต้น ได้มาจากการคัดเลือกเม็ดเลือดแดงที่ละเม็ดที่หันหน้าตรงมายังผู้มอง เรียงตัวในแนวราบ (horizontal) และไม่ซ้อนทับกัน และใช้วิธีการประมวลผลภาพดิจิทัล (digital image processing) มาใช้ในการหาพื้นที่ (area) และเส้นรอบรูป (perimeter) ของภาพเม็ดเลือดแดงเพื่อคำนวณค่า CIRSF ถ้าค่า CIRSF มีค่าเป็น 1 (ซึ่งเป็นค่าสูงที่สุด) แสดงว่าเม็ดเลือดแดงมีรูปร่างกลม และถ้าค่ายิ่งต่ำกว่า 1 ก็แสดงว่ารูปร่างของเม็ดเลือดแดงนั้นเริ่มเปลี่ยนแปลงไปจากรูปร่างกลมมากขึ้น นั่นคือมีรูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปจากเม็ดเลือดแดงปกตินั่นเอง

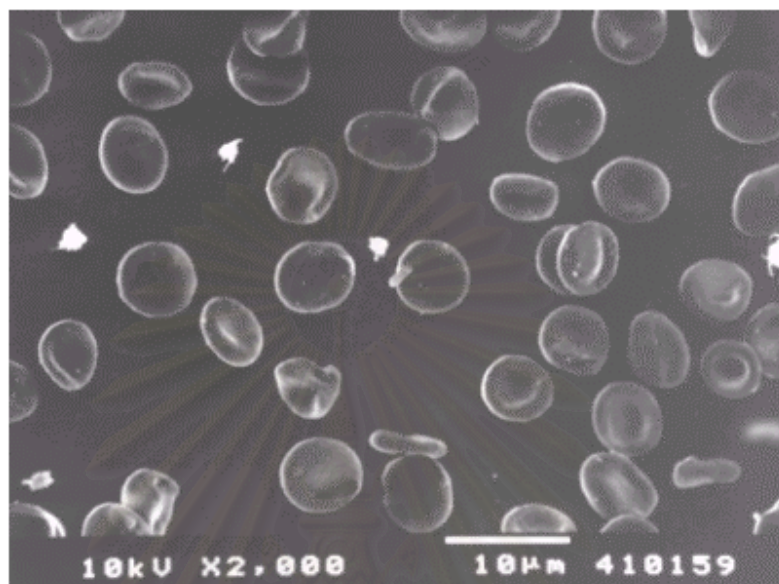


รูปที่ 1.1 แผนภาพจำลองวงจรการถ่ายเลือดให้แก่ผู้ป่วยโดยผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ที่ได้มาจากหน่วยโรคไต

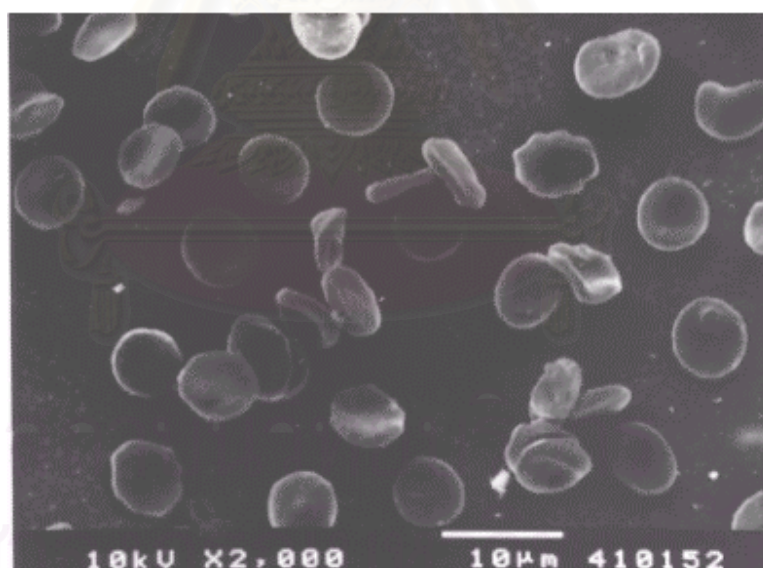
ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

การนำค่า CIRSF มาใช้ในการวิเคราะห์ภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM สังเกตได้ว่าวิธีการวิเคราะห์นี้ไม่ได้รวมข้อมูลในรายละเอียดของภาพที่แสดงถึงลักษณะพื้นผิว (surface shape) ของเซลล์ไว้ ด้วยเพราะเป็นวิธีการวิเคราะห์ภาพที่ใช้ข้อมูลใน 2 มิติจากภาพ แต่จากตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ดังรูปที่ 1.2 และรูปที่ 1.3 จะสังเกตได้ว่าเม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์มีความแตกต่างกันในลักษณะพื้นผิวของเซลล์ ซึ่งความแตกต่างกันในลักษณะพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่สังเกตเห็นนั้นเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง กล่าวคือถ้าเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจนไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมของเม็ดเลือดแดงปกติได้ จะทำให้ลักษณะพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้นเปลี่ยนแปลงไป

ด้วยการที่ลักษณะพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลงไปนั้นเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลทำให้เกิดความผิดปกติทางกายภาพขึ้นแก่เซลล์เม็ดเลือดแดงอีกด้วย [3]



รูปที่ 1.2 ภาพเม็ดเลือดแดงปกติที่ถ่ายจากกล้อง SEM (กำลังขยาย 2000 × 1.7* เท่า)



รูปที่ 1.3 ภาพถ่ายจากกล้อง SEM ของเม็ดเลือดแดงหลังผ่านบีมแบบโรลเลอร์ของวงจรถ่ายเลือดผ่านบีมที่หน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้พัฒนาขึ้น (กำลังขยาย 2000 × 1.7* เท่า)

*1.7 คือกำลังขยายที่เพิ่มขึ้นเมื่อถ่ายภาพ

เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลทำให้เกิดความผิดปกติทางกายภาพแก่เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ได้กล่าวมาข้างต้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งความสนใจไปที่รายละเอียดของภาพที่แสดงลักษณะพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดแดงจากภาพถ่ายเม็ดเลือดแดงจากกล้อง SEM ซึ่งเป็นภาพใน 2 มิติ โดยนำเทคนิคการหารูปร่างจากความสัมพันธ์ของแสงและเงาของภาพ (*shape from shading, SFS*) มาใช้เป็นแนวทางในการหาลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติของเม็ดเลือดแดงจากภาพถ่ายเม็ดเลือดแดงจากกล้อง SEM ซึ่งอาจเป็นแนวทางในการนำข้อมูลลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติของเม็ดเลือดแดงที่ได้ไปใช้ประกอบในการวิเคราะห์ภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อนำเทคนิค SFS มาใช้เป็นแนวทางในการหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากภาพถ่ายเม็ดเลือดแดงจากกล้อง SEM

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ภาพเม็ดเลือดแดงต้นฉบับที่นำมาใช้ในงานวิจัยเป็นภาพเม็ดเลือดแดงที่ได้จากการถ่ายจากกล้อง SEM

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. ศึกษาเทคนิคเกี่ยวกับการประมวลผลภาพดิจิทัล (digital image processing) เทคนิคของ SFS และกระบวนการสร้างภาพของกล้อง SEM
2. ศึกษาลักษณะของภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM
3. ทดลองนำวิธีการ (approach) ต่าง ๆ ของเทคนิค SFS มาใช้กับลักษณะภาพที่ถ่ายจากกล้อง SEM
4. นำวิธีการของเทคนิคของ SFS มาประยุกต์ใช้กับภาพเม็ดเลือดแดงตัวอย่างที่ถ่ายจากกล้อง SEM
5. ทดลองและวิเคราะห์ผลที่ได้
6. สรุปและวิจารณ์ผลที่ได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้จากงานวิจัยนี้อาจนำไปใช้พิจารณาประกอบกับข้อมูลการวิเคราะห์รูปร่างของเม็ดเลือดแดงจากวิธีการอื่น ๆ ในทางการแพทย์เพื่อประโยชน์ในการวิจัยทางการแพทย์ต่อไป
2. งานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับนำข้อมูลภาพอื่น ๆ เพื่อหาลักษณะพื้นผิวของวัตถุต่าง ๆ ในภาพที่ถ่ายจากกล้อง SEM
3. ผลลัพธ์ที่ได้จากการวิจัยและวิธีการที่ใช้ สามารถนำไปเป็นแนวทางในการวิจัยทางแนวนี้ต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ความรู้และทฤษฎีเบื้องต้น

ในบทนี้เป็นการนำเสนอความรู้และทฤษฎีที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ เริ่มจากการนำเสนอความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับหลักการทำงานของกล้อง SEM และความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเม็ดเลือดแดง ตามด้วยทฤษฎีเกี่ยวกับเทคนิค SFS รวมถึงงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

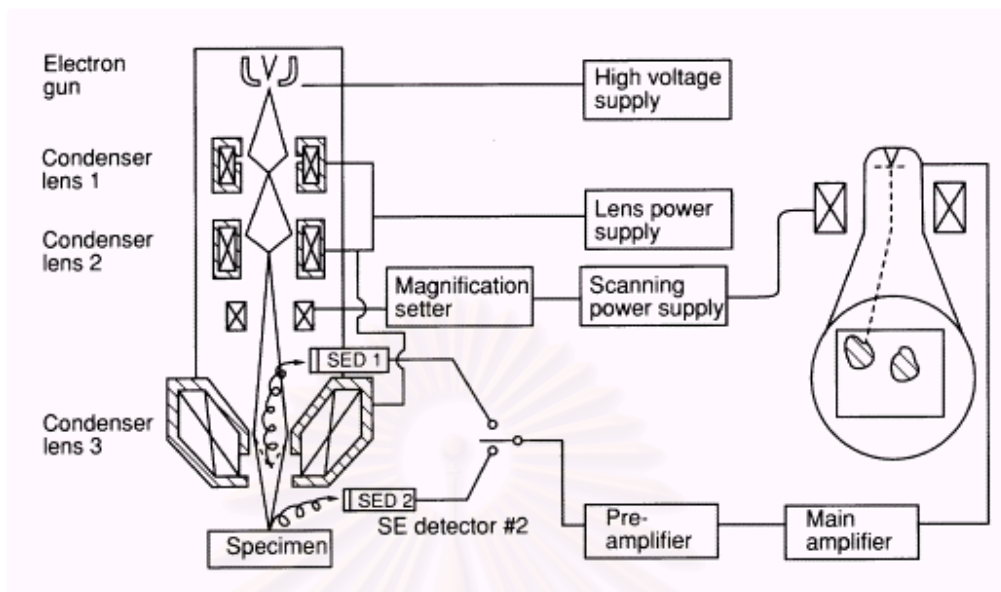
2.1 หลักการทำงานของกล้อง SEM

กล้อง SEM เป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ประเภทกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงที่ใช้ลำแสงอิเล็กตรอนฉายหรือส่องกราดไปบนผิวของตัวอย่างชิ้นงาน (specimen) ที่ต้องการตรวจสอบให้ได้ข้อมูลของลักษณะพื้นผิว ปรากฏเป็นภาพขยายที่สามารถมองเห็นได้ หรืออาจบันทึกภาพที่ปรากฏบนแผ่นฟิล์มได้ ซึ่งมีประโยชน์แก่การตรวจสอบรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวเพราะความสามารถของอุปกรณ์ที่ให้ภาพที่มีความละเอียดสูง สามารถแยกรายละเอียดในระดับที่กล้องจุลทรรศน์ธรรมดาไม่สามารถจะแยกได้ [4]

2.1.1 ส่วนประกอบพื้นฐานของกล้อง SEM [4, 5]

กล้อง SEM ทั่วไปประกอบด้วยโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน โครงสร้างหลักที่เห็นได้ชัดแบ่งออกเป็นส่วนใหญ่ ๆ 2 ส่วนคือ ส่วนที่มีลักษณะคล้ายปล่องภายในกลวง เรียกว่า column และส่วนที่เป็นตู้ควบคุมระบบไฟฟ้าทั้งหมด เรียกว่า console unit ซึ่งนอกจากโครงสร้างหลักที่ไม่ว่า SEM แบบหรือรุ่นใดขาดไม่ได้แล้วยังมีส่วนประกอบพื้นฐานอื่น ๆ (ดังรูปที่ 2.1) ที่จำเป็นสำหรับระบบการทำงานของ SEM อีกดังนี้

1. ปืนอิเล็กตรอน (electron gun) ทำหน้าที่เป็นแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน อยู่ด้านบนปลายบนสุดของ column ซึ่งต่อกับสายไฟฟ้าแรงสูง (high voltage cable) ประกอบด้วยหลอดโลหะทั้งสแตนท์ที่บิดเป็นรูปตัววี (V) เรียกว่า filament และล้อมด้วยโลหะรูปกรวย (Wehnelt cylinder) เมื่อมีกระแสไฟฟ้าเข้ามาสู่ filament หลอดตัววีดังกล่าวก็จะมีความร้อนสูง ประจุอิเล็กตรอนก็จะกระจายออกมา ในสภาวะสุญญากาศภายใน column ประจุอิเล็กตรอนซึ่งเป็นประจุลบจะถูกดึงดูดด้วยขั้วบวก (anode plate) ที่อยู่ด้านล่างของปืน



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบพื้นฐานของระบบกล้อง SEM [5]

อิเล็กตรอน ประจุอิเล็กตรอนส่วนใหญ่จะถูกดึงผ่านรูของกรวยไปยังทิศทางที่กำหนด คือลงสู่สนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่สามารถรวบรวมประจุอิเล็กตรอนที่มีอยู่ให้เป็นลำแสงอิเล็กตรอนที่มีความหนาแน่นเพียงพอสำหรับฉายลงบนตัวอย่างชิ้นงาน

2. เลนส์สนามแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic lens) และขดลวดควบคุมการเคลื่อนลำแสงอิเล็กตรอน (scan coil) เป็นชุดอุปกรณ์ที่ทำงานร่วมกัน ทำหน้าที่รวบรวมอิเล็กตรอนปฐมภูมิ (primary electron) ให้เป็นลำแสงกรวยที่เล็กที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ลำแสงดังกล่าวไปตกกระทบบนผิวตัวอย่างชิ้นงาน และพร้อมกันนั้นก็ใช้สนามแม่เหล็กไฟฟ้าขับหรือผลักให้ลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมิเคลื่อนที่ไปบนผิวตัวอย่างชิ้นงานในแนวที่ต้องการเป็นบริเวณรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส

3. ช่องใส่ตัวอย่างชิ้นงาน (specimen chamber) เป็นช่องว่างใต้เลนส์ชุดสุดท้าย ซึ่งเป็นช่องว่างสุญญากาศกว้างพอที่จะติดตั้งอุปกรณ์ตรวจสอบ หรือรวบรวมสัญญาณต่างๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมิกับผิวของตัวอย่างชิ้นงาน

4. อุปกรณ์รวบรวมสัญญาณ (collector & scintillator) เป็นแท่งแก้วใส มีปลายมนทำด้วยพลาสติก ฉาบผิวด้วยอะลูมิเนียม และส่วนปลายของแท่งนี้ล้อมด้วยตาข่ายโลหะที่ต่อกับวงจรไฟฟ้าประจุบวก ขนาด 30 – 250 โวลต์ (volts) เพื่อดึงดูดประจุอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) อันเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างประจุอิเล็กตรอนปฐมภูมิกระทบบนผิวของตัวอย่างชิ้นงาน อุปกรณ์รวบรวมสัญญาณชนิดอิเล็กตรอน

ทุติยภูมิอยู่ภายในช่องใส่ตัวอย่างชิ้นงานใต้ column และได้จัดวางไว้ให้ทำมุมกับฐานวางตัวอย่างชิ้นงาน เพื่อรวบรวมประจุอิเล็กตรอนทุติยภูมิให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

5. อุปกรณ์สร้างภาพและถ่ายภาพ (imaging & photographic devices) ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ได้รับให้เป็นภาพและภาพที่ปรากฏบนจอ CRT (cathode ray tube) ก็พร้อมที่จะถูกบันทึกไว้ด้วยกล้องถ่ายภาพ การสร้างภาพเริ่มจากประจุอิเล็กตรอนทุติยภูมิถูกจับและรวบรวมไว้แล้วถูกนำสู่ท่อแก้วใสประเภทท่อนำแสง (light pipe) ในลักษณะของแสงโฟตอน (photon) แสงที่ส่งผ่านท่อแก้วนี้จะเคลื่อนไปสู่เครื่องทวีคูณแสง (photo multiplier) ซึ่งจะเปลี่ยนแสงโฟตอนนี้เป็นอิเล็กตรอนอีกครั้งหนึ่ง อิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะผ่านเครื่องขยายให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าให้ปรากฏในจอภาพที่ติดตั้งไว้บน console unit

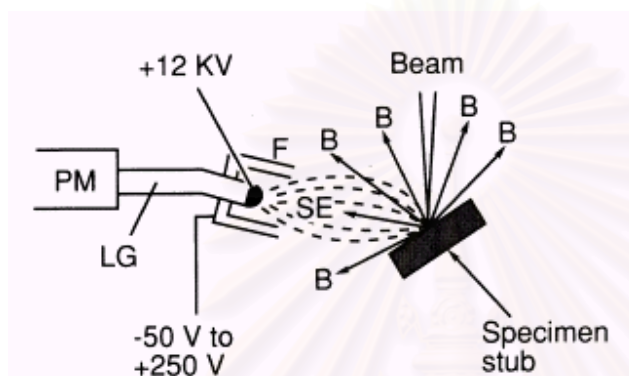
ลำแสงไฟฟ้าของจอภาพสามารถบันทึกไว้ได้ด้วยกล้องถ่ายภาพ ซึ่งการถ่ายภาพแบบนี้เป็นการบันทึกลำแสงเป็นเส้นที่เคลื่อนที่จากซ้ายไปขวาบนจอภาพ (raster scan) ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 1 นาที ภาพถ่ายที่ปรากฏคือการประกอบของเส้นขาวดำที่มีความสว่างและความมืดแตกต่างกันไป และฟิล์มที่ใช้บันทึกภาพนั้นเป็นฟิล์มขาวดำธรรมดา

2.1.2 การเกิดภาพจากกล้อง SEM [5, 6]

กลุ่มอิเล็กตรอนปฐมภูมิที่เกิดจากแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน ถูกรวบรวมโดยระบบเลนส์สนามแม่เหล็กไฟฟ้าให้เป็นลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมิ (primary electron beam หรือ electron probe) เป็นรูปทรงกระบอกมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 – 50 นาโนเมตร (nanometer) ลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมินี้จะถูกกำหนดให้ตกลงบนผิวของตัวอย่างชิ้นงาน พร้อมกับถูกผลักดันให้เคลื่อนไปบนผิวของตัวอย่างชิ้นงานโดยขดลวดควบคุม การเคลื่อนลำแสงอิเล็กตรอน ขณะที่ลำแสงอิเล็กตรอนกระทบผิวของตัวอย่างชิ้นงานก็จะเกิดสัญญาณออกมาหลายรูปแบบ และสัญญาณเหล่านั้นจะถูกจับไว้หรือรวมไว้แล้วแปลงให้เป็นภาพซึ่งถ่ายไว้ได้

เมื่อลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมิกระทบกับตัวอย่างชิ้นงานจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างอิเล็กตรอนกับผิวตัวอย่างชิ้นงาน ทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ ซึ่งมีพลังงานต่ำหนีออกมาจากชั้นบาง ๆ ของพื้นผิว (ไม่เกิน 5 นาโนเมตร) อิเล็กตรอนทุติยภูมิจะถูกจับและรวมเป็นสัญญาณโดยอุปกรณ์รวบรวมสัญญาณ และสัญญาณนี้จะเปลี่ยนไปเป็นโฟตอนของแสงและถูกส่งผ่านท่อแก้วใสไปยังตัวทวีคูณแสง ซึ่งจะเปลี่ยนโฟตอนไปเป็นอิเล็กตรอน ดังรูปที่ 2.2 อิเล็กตรอนชุดหลังนี้จะถูกขยายให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าโดยตัวขยายสัญญาณ (amplifier) ให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมากมาย ในที่สุดสัญญาณไฟฟ้าเหล่านั้นถูกแปลงไปเป็นภาพระดับเทาที่ปรากฏบนจอภาพ และพร้อมที่จะบันทึกภาพบนจอภาพซึ่งเกิดจากความแตกต่างระหว่างค่าระดับเทาด้วยกล้องถ่ายภาพ

ภาพที่ปรากฏบนจอภาพ เป็นภาพขยายของบริเวณสี่เหลี่ยมจัตุรัสของพื้นผิวที่ลำแสงอิเล็กตรอนเคลื่อนผ่านในช่วงเวลานั้น การที่จะเพิ่มหรือลดกำลังขยายของภาพต้องควบคุมเนื้อที่ที่ลำแสงอิเล็กตรอนครอบคลุม เช่น กำหนดให้ลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมิส่องกราดไปบนชิ้นงานตัวอย่างเป็นบริเวณจัตุรัสขนาดเล็ก ภาพที่ปรากฏจะเป็นภาพขยายสูงหรือในทางกลับกัน หากกำหนดให้ลำแสงอิเล็กตรอนเคลื่อนที่ในบริเวณที่กว้าง ภาพที่ปรากฏบนจอภาพก็เป็นภาพที่มีกำลังขยายต่ำ



SE คือ Secondary Electron

B คือ Backscatter Electron

F คือ Faraday Cage

LG คือ Light Guide

PM คือ Photo Multiplier

รูปที่ 2.2 secondary electron ถูกจับโดยอุปกรณ์รวบรวมสัญญาณ [5]

2.2 เม็ดเลือดแดง

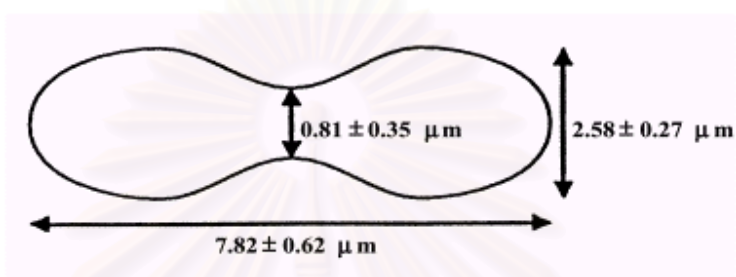
คำว่า เม็ดเลือดแดง โดยความเข้าใจทั่วไปหมายถึงเม็ดเลือดแดงระยะสุดท้าย [1] เป็นเซลล์ที่หลุดออกมาจากไขกระดูกแล้วไหลเวียนในกระแสเลือด ปราศจากนิวเคลียส (nucleus) และออร์แกเนลล์ (organelle) อื่น ๆ ศัพท์ทางวิชาการเรียกว่า erythrocyte (erythros แปลว่า สีแดง cyte แปลว่า เซลล์) หรือ red blood cell บางครั้งเรียก เม็ดเลือดแดงแก่ เพื่อเป็นการเน้น [1]

เม็ดเลือดแดงมีหน้าที่นำพาออกซิเจนที่ได้จากปอดไปแจกจ่ายให้เซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั่วร่างกาย โดยเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงทำหน้าที่เสมือนถุงบรรจุฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่จับและปล่อยออกซิเจน เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้นมีความอืดหยุ่นและยืดหยุ่นได้ดีมาก ทำให้เม็ดเลือดแดงซอกซอนไปสู่เซลล์ทั่วร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ [3]

2.2.1 รูปร่างลักษณะและขนาดเม็ดเลือดแดง

ธรรมชาติได้ออกแบบรูปร่างเม็ดเลือดแดงให้มีลักษณะกลมแบน ตรงกลางมักจะมีส่วนเว้าเข้าหากันเป็นลักษณะที่เรียกว่า biconcave disc จากการวัดเม็ดเลือดแดงปกติที่ทำโดยตรงจากภาพ

Photomicrography ที่ทำการแก้ไขด้วยการร่างด้วยมือควบคู่กับการดูภาพจากกล้องจุลทรรศน์ [7] มีลักษณะรูปร่างอย่างคร่าว ๆ ดังรูปที่ 2.3 ซึ่งพบว่ามีเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 7.82 ± 0.62 ไมโครเมตร (micrometer) มีความหนาตรงกลาง (central thickness) 0.81 ± 0.35 ไมโครเมตร ความหนารอบนอก (peripheral) 2.58 ± 0.27 ไมโครเมตร มีปริมาตร 94 ± 14 เฟมโตลิตร* (femtoliter) และมีพื้นที่ผิว 135 ± 16 ตารางไมโครเมตร



รูปที่ 2.3 ลักษณะของรูปร่างเม็ดเลือดแดงปกติที่เป็น biconcave disc

การที่เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างเช่นนี้ทำให้มีพื้นที่ผิวมากเพียงพอและมีสัดส่วนที่เหมาะสมกับปริมาณฮีโมโกลบินภายในเซลล์ [3] และลักษณะรูปร่างเช่นนี้เป็นรูปร่างทรงธรรมชาติที่เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ง่าย ผ่อนหนักผ่อนเบาต่อแรงกระทำอันเกิดจากแรงดูดของหัวใจและต่อแรงกระทบกระแทกได้ดี โดยในสภาวะธรรมชาติ เมื่อมีแรงกระทำต่อเม็ดเลือดแดง เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเป็นตัวรับแรงกระทำนั้นก่อน หากแรงกระทำนั้นไม่มากนัก เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงก็จะต้านแรงกระทำนั้นได้ โดยที่เยื่อหุ้มเซลล์นั้นจะกระทำตัวเสมือนของแข็ง ถ้าเพิ่มแรงกระทำให้มากขึ้นจนถึงจุดที่เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงไม่สามารถคงสภาพความเป็นของแข็งได้ เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงจะยืดออกตามแรงกระทำนั้น (elastic deformation) แต่ยังคงคุณสมบัติที่จะหดกลับคืนสู่สภาพเดิมได้เมื่อแรงกระทำนั้นหมดไป เมื่อเพิ่มแรงกระทำให้รุนแรงมากขึ้น (มากกว่า 2×10^{-2} dyne/cm) เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงจะยืดออกตามแรงกระทำจนไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ แม้จะหมดแรงกระทำแล้วก็ตาม ซึ่งเซลล์จะมีการสูญเสียคุณสมบัติ elastic deformation กลายเป็น plastic deformation ที่ไม่สามารถคืนสู่สภาพเดิมได้ ทำให้รูปร่างเซลล์เปลี่ยนแปลงไป หรืออาจทำให้เกิดการแตกเป็นชิ้น ๆ (fragmentation) ได้ [3]

* 1 เฟมโตลิตร = 10^{-15} ลิตร

2.2.1 ภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM

เนื่องจากหลักการของกล้อง SEM นั้นใช้ลำแสงอิเล็กตรอนในการฉายหรือส่องกราดไปบนผิวของตัวอย่างชิ้นงาน เพื่อให้ได้สัญญาณออกมาและทำการเก็บรวบรวมสัญญาณที่เกิดขึ้นเพื่อแปลงเป็นภาพ ในการนำเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งถือเป็นวัสดุทางชีวภาพมาดูผ่านกล้อง SEM นั้นต้องผ่านกระบวนการในการเตรียมตัวอย่างชิ้นงานซึ่งต้องเคลือบ (coat) ผิวของตัวอย่างชิ้นงานด้วยทองคำเพื่อให้มีคุณสมบัติที่สามารถจับอิเล็กตรอนได้ [5] รูปที่ 1.2 ที่ได้แสดงไปแล้วข้างต้นเป็นตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ซึ่งเป็นเม็ดเลือดแดงปกติที่ใช้ในการทดสอบกับวงจรการถ่ายเลือดผ่านปั๊มที่พัฒนาขึ้นของหน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ภาพถ่ายเม็ดเลือดแดงจากกล้อง SEM นี้ได้มาจากภาควิชา พยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากการถ่ายด้วยกล้อง SEM รุ่น JSM 5300 ผลิตโดย JEOL

2.3 เทคนิค Shape from Shading (SFS Technique)

ในหัวข้อนี้เป็นการนำเสนอความรู้และทฤษฎีในภาพรวมของเทคนิค SFS ซึ่งประกอบด้วยการนำเสนอเกี่ยวกับหลักการของเทคนิค SFS และแบบจำลองการสะท้อนแสงที่จะแสดงถึงแบบจำลองการเกิดภาพแบบต่าง ๆ

2.3.1 หลักการของเทคนิค Shape from Shading

เทคนิค SFS เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการหาลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติจากภาพ 2 มิติ ซึ่งใช้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับเทาจากภาพระดับเทาต้นฉบับใน 2 มิติเพียง 1 ภาพ ในขณะที่เทคนิคอื่น ๆ ที่ใช้หาลักษณะพื้นผิวใน 3 มิตินั้นมักจะใช้ภาพต้นฉบับ 2 ภาพขึ้นไป สำหรับเทคนิค SFS นั้นเป็นการนำรูปแบบความสัมพันธ์ของแสงกับการเกิดเงา (shade) ในภาพมาใช้ในการตีความหมายของภาพระดับเทาออกมาเป็นลักษณะพื้นผิวที่สามารถแสดงให้เห็นใน 3 มิติได้ [8] ซึ่งการทำเช่นนี้ได้เพราะจำลองการเกิดภาพมาจากการนำหลักการของแบบจำลองการสะท้อนซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าระดับเทากับการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวมาใช้ในการจำลองการเกิดภาพ โดยแสดงความสัมพันธ์ดังสมการที่ 2 ซึ่งเรียกว่า image irradiance equation

$$E(x, y) = R(p, q) \quad \dots(2)$$

เมื่อ $E(x, y)$ เป็นค่าระดับเทาที่ตำแหน่ง x, y ในภาพ

$R(p, q)$ เป็นฟังก์ชันการสะท้อนที่ขึ้นกับค่า p, q โดยที่

$p = \frac{\partial Z}{\partial x}$ และ $q = \frac{\partial Z}{\partial y}$ เป็นเกรเดียนต์ของความสูง (หรือการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิว) ในทิศทางของ

x และ y ตามลำดับ

หลักการของเทคนิค SFS นั้นเริ่มต้นจากการนำความสัมพันธ์จาก image irradiance equation ในสมการที่ 2 ข้างต้นมาใช้ในการจำลองการเกิดภาพของภาพระดับเทาที่ต้องการหาลักษณะพื้นผิว และหาวิธีการที่จะประมาณลักษณะพื้นผิวออกมาจากความสัมพันธ์ในสมการที่ 2 ซึ่งค่าระดับเทาจะขึ้นกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของความสูงเทียบกับตำแหน่งของ x และ y

ดังนั้นการประมาณลักษณะพื้นผิวได้ถูกต้องและใกล้เคียงกับลักษณะพื้นผิวที่เป็นจริงมากที่สุดนั้นจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ 2 อย่าง [9] คือ

1. การใช้แบบจำลองการเกิดภาพที่เหมาะสมกับการเกิดค่าระดับเทาของภาพระดับเทาต้นฉบับ
2. วิธีการประมาณค่าทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ประมาณลักษณะพื้นผิว

แบบจำลองการเกิดภาพที่ดีนั้นควรทำนายการเกิดค่าระดับเทาของพื้นผิวส่วนใหญ่ภายใต้เงื่อนไขของการส่องสว่าง (illumination condition) ได้ถูกต้องและไม่ซับซ้อนมาก โดยที่สามารถประมาณค่าระดับเทาขึ้นมาได้และสามารถนำไปใช้ได้จริง

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าแบบจำลองการเกิดภาพในเทคนิค SFS นั้นได้มาจากการนำหลักการของแบบจำลองการสะท้อนมาใช้ ซึ่งแสดงด้วยฟังก์ชันการสะท้อน $R(p, q)$ ที่จะรวบรวมผลที่เกิดกับลักษณะทางเรขาคณิตของภาพ (imaging geometry) และคุณสมบัติการสะท้อนของพื้นผิวไว้ ในงานวิจัยทางด้าน SFS ในปัจจุบันนั้นยังจำเป็นต้องจำกัดปัญหาเกี่ยวกับฟังก์ชันการสะท้อนลงเพื่อให้สามารถประมาณค่าระดับเทาขึ้นมาได้และสามารถนำไปใช้ได้จริงดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งโดยทั่วไปมักจะตั้งข้อจำกัดต่าง ๆ คือ กำหนดให้แหล่งกำเนิดแสงเป็นจุดกำเนิดแสง (point light source) มีการกำหนดทิศทางของการมองและทิศทางของแหล่งกำเนิดแสงและให้มีการ projection เป็นแบบ orthographic projection การกำหนดข้อจำกัดเหล่านี้สอดคล้องกับแบบจำลองการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต (Lambert Reflectance Model) อย่างง่าย ๆ ที่แสดงค่าระดับเทาตามค่า cosine ของมุมระหว่างเวกเตอร์ปกติของพื้นผิวและทิศทางของแหล่งกำเนิดแสง นอกจากนี้จากข้อจำกัดข้างต้นยังคงนำมาใช้ได้กับลักษณะการเกิดภาพจากกล้อง SEM เนื่องจากชิ้นงานตัวอย่างที่ใช้สำหรับกล้อง SEM นั้นเล็กมากเมื่อเทียบกับระยะทางระหว่างแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนและตัวตรวจจับอิเล็กตรอน (electron detector) ของกล้อง SEM แต่ในแบบจำลองแบบ SEM นั้นจะแสดงค่าระดับเทาเป็นค่าส่วนกลับของ cosine ของมุมระหว่างเวกเตอร์ปกติของพื้นผิวและทิศทางของแหล่งกำเนิดแสงแทน

- แบบจำลองการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต (Lambertian Reflectance Model) [10, 11]

แบบจำลองการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตเป็นแบบจำลองการสะท้อนที่เป็นที่รู้จักและใช้กันทั่วไปสำหรับงานวิจัยทางด้าน computer graphics และ computer vision รวมถึงงานวิจัยเกี่ยวกับเทคนิค SFS ซึ่งในปัจจุบันยังคงถือว่าเป็นแบบจำลองที่จำลองลักษณะการสะท้อนได้ใกล้เคียงกับการสะท้อนของวัตถุส่วนใหญ่ในโลกของความเป็นจริงมากที่สุดและมีรูปแบบที่สอดคล้องกับสมมุติฐานที่กล่าวมาข้างต้น คือ

$$R_{LAM}(p, q) = \rho \cos(\theta) = \rho \hat{n} \cdot \hat{i} \quad \dots(3)$$

$$= \rho \frac{pp_s + qq_s + 1}{\sqrt{p^2 + q^2 + 1} \sqrt{p_s^2 + q_s^2 + 1}}$$

เมื่อ $\hat{n} = \frac{(-p, -q, 1)}{\sqrt{p^2 + q^2 + 1}}$ เป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยที่ตั้งฉากกับพื้นผิว

$\hat{i} = \frac{(-p_s, -q_s, 1)}{\sqrt{p_s^2 + q_s^2 + 1}}$ เป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยในทิศทางของแหล่งกำเนิดแสง

θ เป็นมุมระหว่างเวกเตอร์ \hat{n} และ เวกเตอร์ \hat{i}

และ ρ เป็นสัมประสิทธิ์การสะท้อนของพื้นผิว (ตามปกติจะกำหนดให้มีค่าคงที่)

- แบบจำลองการสะท้อนแบบ SEM (SEM Reflectance Model) [10, 11]

แบบจำลองการสะท้อนแบบ SEM เป็นแบบจำลองการสะท้อนที่อธิบายลักษณะการเกิดภาพจากกล้อง SEM ซึ่งได้มาจากหลักการทางทฤษฎีพื้นฐานของกล้อง SEM ที่เป็นการวัดปริมาณของอิเล็กตรอนที่ถูกปล่อย (emit) ออกมาจากพื้นผิว ดังนั้นจึงแสดงค่าระดับเทาออกมาเป็นส่วนกลับกับลักษณะการสะท้อนในแบบแลมเบิร์ต นั่นคือแสดงออกมาเป็นส่วนกลับของค่า cosine ของมุมระหว่างเวกเตอร์ปกติของพื้นผิวและทิศทางของแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งก็คือค่า secant ของมุมระหว่างเวกเตอร์ปกติของพื้นผิวและทิศทางของแหล่งกำเนิดแสง ดังรูปแบบดังนี้

$$\begin{aligned}
 R_{SEM}(p, q) &= \rho \sec(\theta) = \frac{\rho}{\hat{n} \cdot \hat{l}} \\
 &= \rho \frac{\sqrt{p^2 + q^2 + 1} \sqrt{p_s^2 + q_s^2 + 1}}{pp_s + qq_s + 1} \dots(4)
 \end{aligned}$$

เมื่อ \hat{n}, \hat{l}, θ และ ρ มีค่าเป็นเช่นเดียวกันกับแบบจำลองแบบแลมเบิร์ตข้างต้น

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจกงานวิจัยนี้เป็นการนำเทคนิค SFS มาใช้กับภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ดังนั้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องส่วนใหญ่จึงเกี่ยวกับภาพที่ถ่ายจากกล้อง SEM และเกี่ยวกับเทคนิค SFS ในหัวข้อนี้จึงนำเสนอองานวิจัยที่เกี่ยวข้องในภาพรวม โดยเริ่มจากงานวิจัยที่นำวิธีการประมวลผลภาพดิจิทัลมาใช้ในการวิเคราะห์ภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ตามด้วยงานวิจัยที่ได้มีการเก็บรวบรวมและวิเคราะห์วิธีการต่าง ๆ ของเทคนิค SFS ที่เคยมีการนำเสนอไว้และเป็นที่รู้จัก และสุดท้ายเป็นงานวิจัยที่มีการนำเสนอวิธีการของเทคนิค SFS ซึ่งเป็นวิธีแบบทั่วไป (general) ที่สามารถประยุกต์ใช้ได้กับแบบจำลองการสะท้อนทุกอย่าง

ในปี ค.ศ. 1993 Calzavara และคณะ [2] ได้ร่วมกันพัฒนาวงจรถ่ายเลือดโดยผ่านปั๊มแบบเพริสทอลติกโรลเลอร์ (peristaltic roller) และได้นำภาพเม็ดเลือดแดงในสภาวะก่อนผ่านปั๊มและหลังผ่านปั๊มที่ถ่ายจากกล้อง SEM กำลังขยาย 2000 เท่า มาวิเคราะห์ความผิดปกติในลักษณะรูปร่าง โดยนำวิธีการจำแนกของเบสซิส (Bessis's classification) มาใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพจากการพิจารณาส่วนที่ยื่นออกมา (crenate) ของเม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นการทำด้วยมือโดยผู้เชี่ยวชาญ และใช้วิธีวิเคราะห์ภาพ (image analysis) โดยได้นำค่าแสดงความกลมของรูปร่าง (CIRSF) มาใช้ ซึ่งทำโดยเลือกเม็ดเลือดแดงที่เรียงตัวตามแนวราบ (horizontal) และไม่ซ้อนทับกันมาคำนวณค่า CIRSF ตามสมการที่ 1 ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยใช้วิธีการประมวลผลภาพดิจิทัล ผลที่ได้จากวิธีการทั้งสองเมื่อทำแก่เม็ดเลือดแดงทั้งหมดและวิเคราะห์ออกมาเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของวิธีการแต่ละวิธีแล้วสรุปว่าผลลัพธ์ที่ได้จากวิธีการทั้งสองไม่แตกต่างกัน และค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพเม็ดเลือดแดงของทั้งสภาวะก่อนผ่านปั๊มและหลังผ่านปั๊มก็ไม่แตกต่างกัน

ในปี ค.ศ. 1994 R. Zhang และคณะ [12] ได้ทำการเก็บรวบรวมวิธีการของเทคนิค SFS ที่เป็นที่รู้จัก 8 วิธีการ คือวิธีการของ Brooks และ Horn วิธีการของ Zhang และ Chellappa วิธีการของ Leclerc และ Bobick วิธีการของ Lee และ Kuo วิธีการของ Bichsel และ Pentland วิธีการของ Lee และ Rosenfeld วิธี

การของ Pentland และวิธีการของ Tsai และ Shah โดย Zhang และคณะได้นำวิธีการแต่ละวิธีมาเปรียบเทียบกันเพื่อวิเคราะห์ข้อดีข้อเสียของวิธีการแต่ละวิธีในประเด็นของความถูกต้องและเวลาที่ใช้โดยการทดสอบทั้งกับภาพที่สร้างขึ้นและกับภาพจริงหลายแบบและหลายทิศทางของแสง ทั้งหมดเป็นภาพที่มีรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต ในงานวิจัยของ Zhang และคณะนี้ได้แบ่งวิธีการทั้งหมดที่ได้เก็บรวบรวมมาออกเป็นกลุ่มหลัก ๆ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่เป็นวิธีการแบบ global และกลุ่มที่เป็นวิธีการแบบ local วิธีการแบบ global นั้นเป็นการนำเทคนิคที่หลากหลายทางคณิตศาสตร์มาใช้ในการหาลักษณะพื้นผิวที่มีความสอดคล้องกันแบบ global นั่นคือเป็นการหาลักษณะพื้นผิวออกมาจากการพิจารณาค่าระดับเทาของบริเวณส่วนใหญ่ในภาพ ส่วนวิธีแบบ local นั้นหาลักษณะพื้นผิวมาจากความสัมพันธ์ของข้อมูลของค่าระดับเทาเมื่อพิจารณาในบริเวณย่อยที่ใกล้เคียงกันบนพื้นผิว สำหรับการวิเคราะห์สมรรถนะ (performance) ของวิธีการแต่ละวิธีซึ่งทดสอบและประเมินกับรูปที่สร้างขึ้นนั้นได้ใช้ค่าความผิดพลาดของความสูง (depth error) ค่าความผิดพลาดของเกรเดียนต์ของพื้นผิว (surface gradient error) และการใช้เวลาของ CPU (CPU timing) มาเปรียบเทียบกันในแต่ละวิธีการ จากการเปรียบเทียบกันพบว่า ทุกวิธีการมีข้อจำกัด ไม่มีวิธีการใดจะใช้ได้ผลดีกับทุกภาพ แต่โดยทั่วไปวิธีการแบบ global จะทนทาน (robust) กว่า แต่วิธีการแบบ local จะเร็วกว่า

จากนั้นในปี ค.ศ. 1999 R. Zhang และคณะ [13] ก็ได้นำเสนองานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งซึ่งยังคงเกี่ยวข้องกับการเก็บรวบรวมและวิเคราะห์วิธีการของเทคนิค SFS ที่มีอยู่เช่นเดิมแต่นำเสนอละเอียดมากขึ้นในส่วนของรายละเอียดทางเทคนิคของแต่ละวิธีการที่นำมาวิเคราะห์ รวมถึงมีการนำเสนอรายละเอียดเกี่ยวกับการสร้างภาพทดสอบและการคำนวณค่าความผิดพลาดต่าง ๆ ที่ใช้ในการประเมินวิธีการแต่ละวิธีด้วย นอกจากนี้ Zhang และคณะยังได้เสนอแนะว่ายังคงมีแนวทางการทำวิจัยในอนาคตเกี่ยวกับการวิจัยทางด้านเทคนิค SFS อีกหลายแนวทาง โดยเฉพาะที่เกี่ยวกับรูปแบบการสะท้อนที่นำมาใช้ในเทคนิคนี้ ซึ่งปัจจุบันยังคงเป็นรูปแบบอย่างง่าย (simple) มากเกินไป น่าจะมีการนำเสนอรูปแบบที่มีความใกล้เคียงความจริงมากขึ้น เช่นอาจมีการแทนที่ข้อจำกัดเดิมจากการที่ใช้การ projection แบบ orthographic ไปเป็นการ projection แบบ perspective หรือจากการที่เดิมมีข้อจำกัดเป็น infinite point light source ก็อาจตั้งข้อจำกัดใหม่เป็น non-infinite point light source ซึ่งอาจทำให้ได้รูปแบบจำลองการเกิดภาพที่มีความเสมือนจริงมากขึ้น เป็นต้น

ในปี ค.ศ. 1992 P. S. Tsai และ M. Shah [14] ได้นำเสนอวิธีการใหม่ของเทคนิค SFS เพื่อหาความสูงจากภาพระดับเทาต้นฉบับเพียงภาพเดียว โดยเริ่มจากการหาการประมาณแบบไม่ต่อเนื่อง (discrete approximation) ของเกรเดียนต์ของความสูงโดยใช้ความแตกต่างแบบจำกัด (finite difference) จากนั้นได้ขยายอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชันการสะท้อนในทอมของความสูงจนถึงพจน์ในลำดับที่หนึ่งของอนุกรม และใช้การประมาณแบบเชิงเส้นมาประมาณความสูงจากอนุกรมเทย์เลอร์ข้างต้นด้วยการนำ Kalman gain ในหลักการของ Kalman Filter มาประยุกต์ใช้ วิธีการนี้เป็นวิธีแบบทั่วไป (general) ไม่ซับซ้อนมาก และ Tsai

และ Shah ได้นำเสนอไว้ว่าสามารถประยุกต์ใช้ได้กับรูปแบบการสะท้อนแสงแบบใดก็ได้ แต่ในงานวิจัยของ Tsai และ Shah มุ่งนำเสนอรายละเอียดทางเทคนิคของวิธีการนี้กับรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต และนำเสนอผลจากการทดลองนำไปประยุกต์กับรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตและแบบ Specular ซึ่งได้ผลลัพธ์ที่น่าพอใจกับทั้งสองรูปแบบการสะท้อน โดยเฉพาะเมื่อทดลองกับภาพทรงกลม (Sphere) ที่มีทิศทางของแสงเป็น $(0.01, 0.01, 1)$

จากข้อสังเกตที่ว่าวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah เป็นวิธีแบบทั่วไป ไม่ซับซ้อนมาก และสามารถประยุกต์ใช้ได้กับทุกรูปแบบการสะท้อน ดังนั้นในการทดลองเบื้องต้นสำหรับงานวิจัยนี้จึงนำวิธีการแบบเชิงเส้นนี้มาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ก่อนที่จะได้ปรับปรุงวิธีการเพื่อให้เหมาะสมกับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ที่นำมาใช้ เพื่อให้เห็นภาพของการนำไปประยุกต์ใช้และการปรับปรุงที่จะได้กล่าวถึงในบทต่อไป จึงได้นำเสนอในรายละเอียดทางเทคนิคในงานวิจัยของ Tsai และ Shah ซึ่งเป็นเทคนิค SFS ที่ใช้หลักการประมาณแบบเชิงเส้นเมื่อใช้กับกับรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต ในหัวข้อ 2.5 ต่อไป

2.5 เทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการประมาณแบบเชิงเส้น [14, 15]

ในปี 1992 Tsai และ Shah ได้นำเสนอวิธีการใหม่ของเทคนิค SFS ที่ใช้การประมาณแบบเชิงเส้นกับฟังก์ชันการสะท้อนในเทอมของความสูง ซึ่งเป็นวิธีการที่มุ่งแก้ปัญหาฟังก์ชันการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตเป็นหลัก มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

จากสมการของ image irradiance equation ในสมการที่ 1 ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้นจะได้ว่า

$$0 = E(x, y) - R(p, q) \quad \dots(5)$$

ซึ่งวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah นั้นเริ่มจากการหาการประมาณแบบไม่ต่อเนื่อง (discrete approximation) ของเกรเดียนต์ของความสูง p และ q โดยใช้ความแตกต่างแบบจำกัด (finite difference) นั่นคือ

$$p = \frac{\partial Z}{\partial x} = Z(x, y) - Z(x-1, y) \quad \dots(6)$$

$$q = \frac{\partial Z}{\partial y} = Z(x, y) - Z(x, y-1) \quad \dots(7)$$

ดังนั้นจึงสามารถเขียนสมการที่ 5 ข้างต้นใหม่ได้เป็น

$$\begin{aligned}
0 &= f(E(x, y), R(p, q)) \quad \dots(8) \\
&= f(E(x, y), R(Z(x, y), Z(x-1, y), Z(x, y-1))) \\
&= f(E(x, y), Z(x, y), Z(x-1, y), Z(x, y-1))
\end{aligned}$$

โดยวิธีการของ Tsai และ Shah นั้นประมาณ $f(Z(x, y))$ ด้วยสมการที่ 8 จากการศึกษาอนุกรมเทย์เลอร์ของ $f(Z(x, y))$

จากรูปแบบทั่วไปของอนุกรมเทย์เลอร์ [16] คือ

$$f(x) = f(x_0) + (x - x_0)f'(x_0) + \frac{(x - x_0)^2}{2!} f''(x_0) + \dots + \frac{(x - x_0)^n f^{(n)}(x_0)}{n!} + \dots$$

ซึ่งเมื่อกระจายอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชัน $f(Z(x, y))$ จากสมการที่ 8 ข้างต้นจะได้

$$\begin{aligned}
0 &= f(E(x, y), Z(x, y), Z(x-1, y), Z(x, y-1)) \\
&\approx f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + (Z(x, y) - Z^{\alpha-1}(x, y)) \frac{\partial}{\partial Z(x, y)} f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + (Z(x-1, y) - Z^{\alpha-1}(x-1, y)) \frac{\partial}{\partial Z(x-1, y)} f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + (Z(x, y-1) - Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \frac{\partial}{\partial Z(x, y-1)} f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + \frac{1}{2} (Z(x, y) - Z^{\alpha-1}(x, y))^2 \frac{\partial^2}{\partial Z^2(x, y)} f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + \frac{1}{2} (Z(x-1, y) - Z^{\alpha-1}(x-1, y))^2 \frac{\partial^2}{\partial Z^2(x-1, y)} f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + \frac{1}{2} (Z(x, y-1) - Z^{\alpha-1}(x, y-1))^2 \frac{\partial^2}{\partial Z^2(x, y-1)} f(E(x, y), Z^{\alpha-1}(x, y), Z^{\alpha-1}(x-1, y), Z^{\alpha-1}(x, y-1)) \\
&\quad + \dots \quad \dots(9)
\end{aligned}$$

สำหรับวิธีการของ Tsai และ Shah นั้นใช้การประมาณแบบเชิงเส้นกับฟังก์ชัน $f(Z(x, y))$ ข้างต้น ด้วยการพิจารณาอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชัน $f(Z(x, y))$ ในสมการที่ 9 จนถึงเทอมในลำดับที่หนึ่งของอนุกรม นั่นคือ

$$\begin{aligned}
0 &= f(E(x, y), Z(x, y), Z(x-1, y), Z(x, y-1)) \\
&\approx f(E(x, y), Z^{n-1}(x, y), Z^{n-1}(x-1, y), Z^{n-1}(x, y-1)) \\
&\quad + (Z(x, y) - Z^{n-1}(x, y)) \frac{\partial}{\partial Z(x, y)} f(E(x, y), Z^{n-1}(x, y), Z^{n-1}(x-1, y), Z^{n-1}(x, y-1)) \\
&\quad + (Z(x-1, y) - Z^{n-1}(x-1, y)) \frac{\partial}{\partial Z(x-1, y)} f(E(x, y), Z^{n-1}(x, y), Z^{n-1}(x-1, y), Z^{n-1}(x, y-1)) \\
&\quad + (Z(x, y-1) - Z^{n-1}(x, y-1)) \frac{\partial}{\partial Z(x, y-1)} f(E(x, y), Z^{n-1}(x, y), Z^{n-1}(x-1, y), Z^{n-1}(x, y-1))
\end{aligned} \dots(10)$$

เมื่อกำหนดค่าเริ่มต้นโดยประมาณให้แก่ $Z^0(x, y)$ ค่าความสูง $Z(x, y)$ แต่ละค่าจากการทำซ้ำครั้งที่ n สามารถหาได้จากค่าการประมาณที่ได้มาก่อนคือ $Z^{n-1}(i, j)$ สำหรับทุก $Z(i, j)$ ที่ $i \neq x$ และ $j \neq y$ ซึ่งเมื่อแทนที่ $Z(x-1, y)$ ด้วย $Z^{n-1}(x-1, y)$ และแทนที่ $Z(x, y-1)$ ด้วย $Z^{n-1}(x, y-1)$ ในสมการที่ 10 แล้วจะทำให้พจน์ที่ 3 และที่ 4 ทางขวามือของสมการหายไป ดังนั้นสมการที่ 10 จึงลดรูปได้เป็น

$$\begin{aligned}
0 &= f(Z(x, y)) \\
&\approx f(Z^{*n-1}(x, y)) + (Z(x, y) - Z^{*n-1}(x, y)) D(Z^{*n-1}(x, y))
\end{aligned} \dots (11)$$

เมื่อ $D(Z^{*n-1}(x, y))$ แทน $\frac{df}{dZ(x, y)}(Z^{*n-1}(x, y))$

ดังนั้นเมื่อ $Z(x, y) = Z^n(x, y)$ ค่าความสูงที่การทำซ้ำที่ n สามารถหาได้อย่างตรงไปตรงมาดังสมการที่ 12

$$Z^*(x, y) = Z^{*n-1}(x, y) - \frac{f(Z^{*n-1}(x, y))}{D(Z^{*n-1}(x, y))} \dots (12)$$

เมื่อ

$$D(Z^{*n-1}(x, y)) = -\frac{(p, + q,)}{\sqrt{p^2 + q^2 + 1} \sqrt{p,^2 + q,^2 + 1}} + \frac{(p + q)(pp, + qq, + 1)}{\sqrt{(p^2 + q^2 + 1)^3} \sqrt{p,^2 + q,^2 + 1}} \dots(13)$$

ซึ่งคำนวณมาได้จากสมการที่ 5 เมื่อ $R(p, q)$ ในสมการแทนด้วยฟังก์ชันการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต ($R_{LAM}(p, q)$) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในสมการที่ 3

สมการที่ 12 นั้น $D(Z^{n-1}(x, y))$ อาจเกิดการหารด้วยค่าศูนย์ได้ ซึ่ง $Z^n(x, y)$ จะมีค่าเป็น infinity ดังนั้น Tsai และ Shah แก้ปัญหานี้โดยการนำ Kalman gain ในหลักการของ Kalman filter มาใช้ ซึ่งปรับเปลี่ยนสมการที่ 12 เป็นสมการที่ 14 คือ

$$Z^n(x, y) = Z^{n-1}(x, y) + K^n \{-f(Z^{n-1}(x, y))\} \quad \dots (14)$$

โดย Kalman gain (K^n) ที่นำมาใช้ต้องสอดคล้องตามข้อจำกัด 3 ข้อคือ

1. โดยประมาณแล้ว K^n จะเท่ากับค่าส่วนกลับของ $D(Z^{n-1}(x, y))$
2. K^n เท่ากับศูนย์เมื่อ $D(Z^{n-1}(x, y))$ มีค่าเข้าใกล้ศูนย์
3. K^n จะกลายเป็นศูนย์เมื่อ $Z^n(x, y)$ เข้าใกล้ค่าของ $Z(x, y)$ จริง ๆ

ดังนั้นจากข้อจำกัดข้างต้นจึงกำหนด K^n เป็น

$$K^n = \frac{S_{x,y}^n M_{x,y}}{W_{x,y} + S_{x,y}^n M_{x,y}^2} \quad \dots (15)$$

เมื่อ

$$\begin{aligned} M_{x,y} &= D(Z^{n-1}(x, y)) \\ S_{x,y}^n &= E\left[\left(Z^n(x, y) - Z(x, y)\right)^2\right] \end{aligned}$$

โดยที่ E เป็น expectation operator
 K เป็น Kalman gain
 $W_{x,y}$ เป็น standard deviation ที่สอดคล้องกับ input
 $S_{x,y}$ เป็น state variable

เมื่อแก้สมการที่ 14 ที่ได้ตามหลักการของ Kalman filter เพื่อหาค่าความสูงของแต่ละจุดออกมา ซึ่งเมื่อนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงในแต่ละจุดไป plot ใน 3 มิติ จะแสดงให้เห็นถึงลักษณะของพื้นผิวที่ได้จากวิธีการนี้

บทที่ 3

เทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการประมาณ

แบบไม่เชิงเส้น

ดังที่ได้นำเสนอในหัวข้อที่ 2.4 เกี่ยวกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องแล้วว่าเทคนิค SFS ที่เป็นวิธีการของ Tsai และ Shah ใช้หลักการการประมาณแบบเชิงเส้น เป็นวิธีแบบทั่วไป ไม่ซับซ้อนมากและ Tsai และ Shah ได้นำเสนอไว้ว่าสามารถประยุกต์ใช้ได้กับทุกรูปแบบการสะท้อน แต่ในงานวิจัยของ Tsai และ Shah แสดงรายละเอียดทางเทคนิคให้เห็นเฉพาะการนำไปใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต ดังที่ได้นำเสนอไปแล้ว ในหัวข้อ 2.5 ข้างต้น สำหรับงานวิจัยนี้ต้องการหาลักษณะพื้นผิวของภาพที่ถ่ายจากกล้อง SEM ดังนั้นในเบื้องต้นของงานวิจัยจึงได้ทดลองนำวิธีการแบบเชิงเส้นนี้ไปประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM โดยทดสอบและประเมินกับภาพที่สร้างขึ้นตามหลักการทั่วไปที่ใช้ในการทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS ซึ่งจากผลลัพธ์ที่ได้พบว่าลักษณะพื้นผิวที่ได้ยังไม่ดีเมื่อเทียบกับลักษณะของพื้นผิวจริงที่ได้จากการสร้างขึ้น และค่าความผิดพลาดจากการประเมินยังค่อนข้างสูง น่าจะมีแนวทางปรับปรุงให้ดีขึ้นได้

ในงานวิจัยนี้จึงนำเสนอแนวคิดที่ปรับปรุงจากวิธีการแบบเชิงเส้นไปเป็นวิธีการที่ใช้การประมาณแบบไม่เชิงเส้นเพื่อให้เหมาะสมกับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ซึ่งเป็นแนวคิดที่ได้มาจากการสังเกตความแตกต่างระหว่างรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตและแบบ SEM สำหรับวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอนั้นนั้น จากการทดสอบกับภาพที่สร้างขึ้นตามหลักการเดียวกันพบว่า ผลลัพธ์ที่ได้ดีกว่าวิธีการแบบเชิงเส้นมาก เมื่อเปรียบเทียบผลทั้งจากลักษณะพื้นผิวที่ได้และจากค่าความผิดพลาดในการประเมิน

เพื่อให้เห็นภาพของการนำมาประยุกต์ใช้และการปรับปรุงต่าง ๆ ที่ได้กล่าวถึงข้างต้น ในบทนี้จึงเป็นการนำเสนอรายละเอียดทางเทคนิคของการนำมาประยุกต์ใช้และการปรับปรุงต่าง ๆ รวมถึงรายละเอียดในการทดสอบ การประเมินและผลลัพธ์ที่ได้ในวิธีการแต่ละวิธี โดยเริ่มต้นจากการนำเสนอหลักการทั่วไปที่ใช้ทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS เพราะเป็นหลักการเดียวกันกับที่นำมาใช้ทดสอบและประเมินกับทุกวิธีการที่ทดลองในงานวิจัยนี้ ตามด้วยการนำเสนอรายละเอียดทางเทคนิคในการนำวิธีการที่ใช้การประมาณแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah มาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM และรายละเอียดทางเทคนิคในการปรับปรุงจากวิธีการแบบเชิงเส้นไปเป็นวิธีการที่ใช้การประมาณแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอนั้นใน

งานวิจัยนี้รวมทั้งผลลัพธ์ที่ได้จากแต่ละวิธีการ จากนั้นเป็นการวิเคราะห์ผลจากการทดสอบและประเมินจากวิธีการแต่ละวิธี และผลสรุปวิธีการที่จะนำไปประยุกต์ใช้กับภาพจริงที่ถ่ายจากกล้อง SEM

3.1 หลักการทั่วไปที่ใช้ทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS

เนื่องจากลักษณะพื้นผิวที่เป็นจริงของภาพจริงนั้นไม่อาจทราบมาก่อนที่จะนำภาพมาทดสอบในวิธีการของเทคนิค SFS ดังนั้นจึงไม่สามารถทดสอบและประเมินวิธีการที่นำมาใช้กับภาพจริงได้ ตามหลักการของเทคนิค SFS จึงจำเป็นต้องทดสอบและประเมินวิธีการที่นำมาใช้กับภาพที่สร้างขึ้นซึ่งทราบลักษณะพื้นผิวจริงมาก่อนโดยการสร้างจากสมการทางคณิตศาสตร์ แล้วจึงนำลักษณะของพื้นผิวจริงกับลักษณะของพื้นผิวที่ประมาณได้จากวิธีการของเทคนิค SFS มาใช้มาเปรียบเทียบกันและประเมินผล

ในหัวข้อต่อไปจึงเป็นการกล่าวถึงรายละเอียดในการสร้างภาพทดสอบและการประเมินผลที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้

3.1.1 การสร้างภาพทดสอบ

ในการสร้างภาพขึ้นมาเพื่อทดสอบวิธีการของเทคนิค SFS นั้นสามารถสร้างภาพที่รู้ความสูงจริงได้จากสมการของพื้นผิวโดยสร้างตามสมการทางคณิตศาสตร์ ซึ่งจากความสูงจริงที่ทราบก็สามารถสร้างเป็นภาพระดับเทา $E(x, y)$ ได้ตามสมการของ image irradiance equation ดังสมการที่ 1 ที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยที่ $R(p, q)$ เป็นไปตามรูปแบบการสะท้อนตามที่ใช้ในวิธีการของเทคนิค SFS และสามารถกำหนดทิศทางของแสงได้ตามต้องการ

ในงานวิจัยนี้ได้สร้างภาพทดสอบที่เป็นภาพจากสมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้กันทั่วไปกับการทดสอบวิธีการของเทคนิค SFS ซึ่งเป็นภาพที่ทราบความสูงได้จากสมการของพื้นผิว นั่นคือภาพทรงกลม (Sphere) และภาพแจกัน (Vase) ขนาด 128 X 128 พิกเซล ซึ่งได้สร้างขึ้นจากสมการ ดังนี้

- ภาพทรงกลม (Sphere)

$$Z(x, y) = \begin{cases} \sqrt{r^2 - x^2 - y^2} & \text{ถ้า } x^2 + y^2 \leq r^2 \\ 0 & \text{อื่น ๆ} \end{cases} \quad \dots(16)$$

เมื่อ $r = 52$ และ $-64 \leq x, y \leq 64$

โดยมีจุดศูนย์กลางภาพที่ $x = 0$ และ $y = 0$

● ภาพแจกัน (Vase) [17]

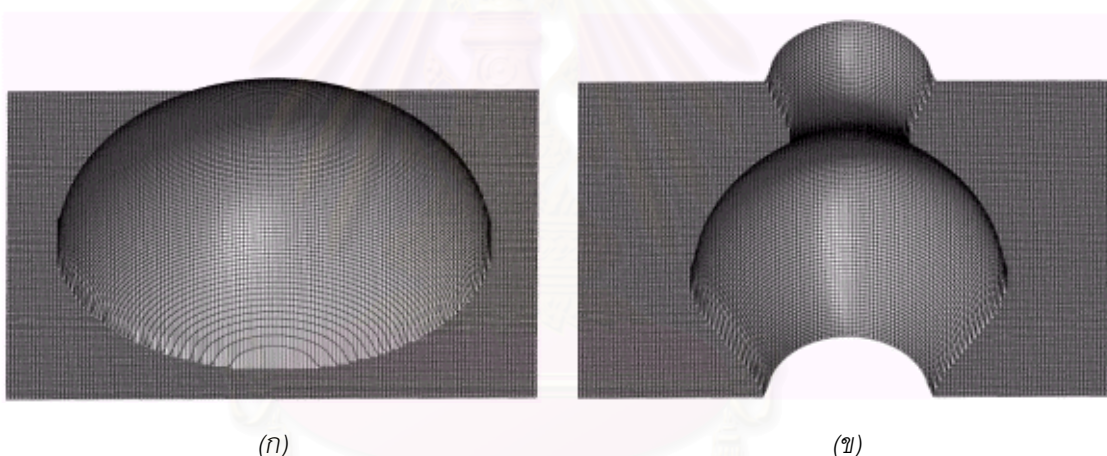
$$Z(x, y) = \sqrt{f(y)^2 - x^2} \quad \dots(17)$$

เมื่อ $f(y) = 0.15 - 0.1y(6y + 1)^2(y - 1)^2(3y - 2)$

และ $-64 \leq x \leq 64$ และ $0 \leq y \leq 128$

โดยมีจุดศูนย์กลางภาพที่ $x = 0$ และ $y = 64$

เมื่อสร้างขึ้นตามสมการข้างต้นได้เป็นค่าความสูง $Z(x, y)$ ของแต่ละจุดและเมื่อนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงทั้งหมดที่ได้ไป plot เป็น 3 มิติ ได้ภาพลักษณะพื้นผิวดังรูปที่ 3.1

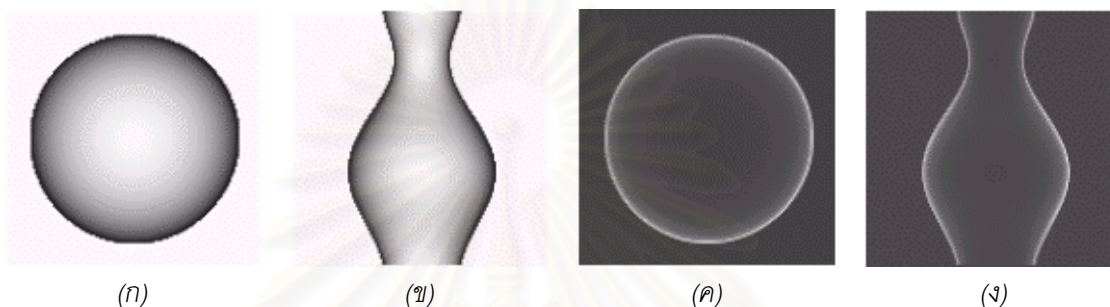


รูปที่ 3.1 ลักษณะพื้นผิวของทรงกลมและแจกัน ที่ได้จากการสร้างขึ้นจากสมการทางคณิตศาสตร์

(ก) ทรงกลม (ข) แจกัน

จากค่าความสูงจริงที่ได้จากสมการของพื้นผิวด้วยการสร้างตามหลักการทางคณิตศาสตร์ดังรูปที่ 3.1 สามารถนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงที่ทราบมาสร้างเป็นภาพระดับเทา $E(x, y)$ ได้ตามสมการของ image irradiance equation ตามสมการที่ 1 ที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยที่ $R(p, q)$ ในสมการนั้นเป็นรูปแบบการสะท้อนตามที่ต้องการ ซึ่งแบบจำลองการสะท้อนที่ใช้ในงานวิจัยนี้ก็คือแบบจำลองการสะท้อนแบบ SEM และกำหนดทิศทางของแสงเป็น $(0.01, 0.01, 1)$ ซึ่งเป็นการกำหนดตามสมมติฐานที่ว่าทิศทางของแสงในกล้อง SEM นั้นมาจากทางด้านบน และกำหนดโดยไม่ให้ค่า x และ y เป็น 0 เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดค่าเป็น 0 จากการคำนวณ

รูปที่ 3.2 แสดงภาพระดับเทาที่ได้จากการนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงจากรูปที่ 3.1 ไปสร้างขึ้นตามสมการของ image irradiance equation ในสมการที่ 1 ซึ่งรูปที่ 3.2ก และ รูปที่ 3.2ข เป็นภาพระดับเทาของทรงกลมและแจกันที่ได้ตามลำดับเมื่อ $R(p, q)$ เป็นรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต เมื่อกำหนดทิศทางของแสงในสมการเป็น (0.01, 0.01, 1) และรูปที่ 3.2ค และรูปที่ 3.2ง เป็นภาพระดับเทาของทรงกลมและแจกันที่ได้เมื่อ $R(p, q)$ เป็นรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM เมื่อกำหนดทิศทางของแสงในสมการเป็น (0.01, 0.01, 1) เช่นเดียวกัน



(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

รูปที่ 3.2 ภาพระดับเทาที่ได้จากการสร้างจากสมการของ image irradiance equation

(ก) และ (ข) เป็นรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต (ค) และ (ง) เป็นรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM

ในงานวิจัยนี้ใช้ภาพระดับเทาของภาพทดสอบที่สร้างขึ้นเฉพาะกับภาพระดับเทาที่ได้จากการสร้างตามรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM เท่านั้น แต่ในที่นี้ได้แสดงภาพระดับเทาที่ได้จากการสร้างตามรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตด้วยเพื่อให้เห็นความแตกต่างของการเกิดภาพระดับเทาจากรูปแบบการสะท้อนสองแบบนี้

3.1.2 การประเมินผล

เนื่องจากวิธีการของเทคนิค SFS ทั้งหมดที่นำมาประยุกต์ใช้และที่นำเสนอในงานวิจัยนี้เป็นวิธีการที่ให้ผลลัพธ์เป็นค่าความสูงโดยสัมพันธ์เมื่อเทียบกับความสูงของทั้งภาพ ในการประเมินวิธีการของเทคนิค SFS ในงานวิจัยนี้จึงใช้การประเมินวิธีการของเทคนิค SFS ด้วยการหาความผิดพลาดจากค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง ซึ่งเป็นวิธีการประเมินวิธีการเดียวกันกับที่ใช้ในงานวิจัยของ Tsai และ Shah [13, 14] และงานวิจัยของ Zhang และคณะ [11, 12] ซึ่งเป็นค่าความผิดพลาดที่บอกว่าการเปลี่ยนแปลงความสูงโดยเฉลี่ยของลักษณะพื้นผิวที่ประมาณมาได้จากรูปภาพที่สร้างขึ้นมาตามสมการทางคณิตศาสตร์เพียงใด โดยวัดเป็นค่าความผิดพลาดออกมาตามสมการที่ 18

$$\text{ค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง} = \frac{|p^x - p| + |q^x - q|}{2 \times \text{ขนาดของภาพ}} \quad \dots(18)$$

เมื่อ p^x และ q^x เป็นเกรเดียนต์ของความสูง $Z(x, y)$ ที่ได้มาจากวิธีการของเทคนิค SFS

p และ q เป็นเกรเดียนต์ของความสูงจริงที่ได้จากการสร้างขึ้นจากสมการทางคณิตศาสตร์

3.2 การนำวิธีการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM

ในเบื้องต้นของงานวิจัยนี้ได้นำวิธีการแบบเชิงเส้นซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ได้ดีกับรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM โดยที่รายละเอียดทางเทคนิคของวิธีการนี้ได้มีการนำเสนอไปแล้วในหัวข้อ 2.5 ข้างต้น เนื่องจากวิธีการแบบเชิงเส้นนั้นเป็นวิธีการแบบทั่วไป ในการนำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM จึงสามารถทำได้โดยตรงไปตรงมา นั่นคือโดยการแทนที่ทุกสมการที่มีฟังก์ชันการสะท้อน ($R(p, q)$) ซึ่งในวิธีการเดิมแทนด้วยฟังก์ชันการสะท้อนแบบแลมเบิร์ต ($R_{LAM}(p, q)$) ไปเป็นฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ($R_{SEM}(p, q)$) และคำนวณค่าทุกอย่างที่มีผลมาจากฟังก์ชันการสะท้อนใหม่ก่อนที่จะนำไปใช้ในสมการหลักของวิธีการแบบเชิงเส้นเพื่อแก้สมการหาค่าความสูงออกมา นั่นคือสมการที่ 14 ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ดังนั้นเมื่อนำวิธีการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM จากสมการที่ 5 ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว จะได้เป็น

$$0 = E(x, y) - R_{SEM}(p, q) \quad \dots(19)$$

สมการที่ 19 ก็คือ $f(Z(x, y))$ ของวิธีการแบบเชิงเส้นเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM

ดังนั้นเมื่อกำหนด $D(Z^{n-1}(x, y))$ จากสมการที่ 19 จะได้เป็น

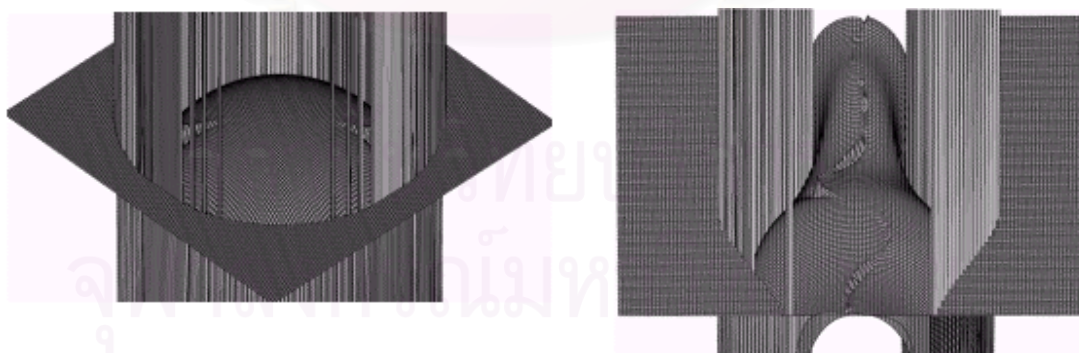
$$D(Z^{n-1}(x, y)) = -\frac{(p, q)\sqrt{1+p^2+q^2}\sqrt{1+p^2+q^2}}{(1+pp, +qq,)^2} + \frac{(p+q)\sqrt{1+p^2+q^2}}{(1+pp, +qq,)\sqrt{1+p^2+q^2}} \quad \dots(20)$$

จากนั้นจึงแทนค่าที่คำนวณได้เหล่านี้ในสมการที่ 14 ซึ่งเป็นสมการหลักในวิธีการแบบเชิงเส้น และแก้สมการตามหลักการเดิมทุกอย่างเพื่อหาค่าความสูง

เมื่อทดสอบและประเมินวิธีการแบบเชิงเส้นที่นำมาประยุกต์ใช้กับภาพที่สร้างขึ้นตามแบบจำลองการสะท้อนแบบ SEM ตามหลักการทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS ในหัวข้อ 3.1 พบว่าค่าความผิดพลาดที่วัดด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง (average magnitude of gradients of depth error) ที่ได้จากการทดสอบกับภาพทรงกลมและภาพแจกัน ที่สร้างขึ้นตามรายละเอียดในหัวข้อ 3.1.1 นั้นมีค่าสูง กล่าวคือได้ค่าเฉลี่ยของความผิดพลาดเป็น 31.9 สำหรับภาพทรงกลมและ 24.9 สำหรับภาพแจกัน (ดังแสดงในตารางที่ 3.1) และรูปร่างของพื้นผิวที่ได้จากการนำวิธีการนี้มาประยุกต์ใช้ก็ยังไม่ดี ดังจะเห็นได้ว่าบริเวณพื้นผิวจริงของทรงกลมและแจกันบริเวณที่เรียกกลับมีลักษณะเป็นแนวสูงชันและบริเวณขอบของวัตถุกับพื้นหลังก็มีความสูงที่ผิดพลาดมาก ดังแสดงในรูปที่ 3.3

ตารางที่ 3.1 ความผิดพลาดจากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงที่ได้จากการนำวิธีการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM

ภาพทดสอบ	ความผิดพลาดของค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง
ทรงกลม	31.9
แจกัน	24.9



(ก)

(ข)

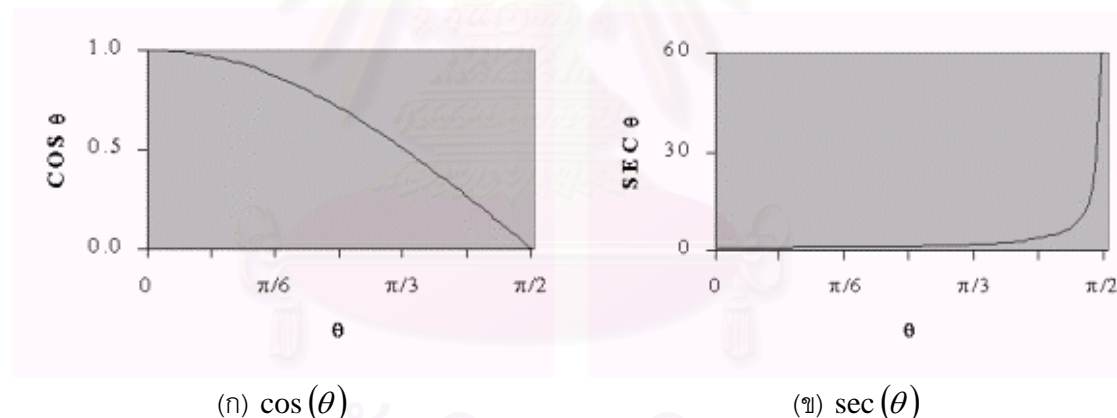
รูปที่ 3.3 ลักษณะพื้นผิวของทรงกลมและแจกัน ที่ได้จากวิธีการแบบเชิงเส้น

(ก) ทรงกลม (ข) แจกัน

3.3 การปรับปรุงวิธีการประมาณแบบเชิงเส้นไปเป็นการประมาณแบบไม่เชิงเส้น

เนื่องจากผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองเมื่อนำวิธีการที่ใช้การประมาณแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้กับแบบจำลองการสะท้อนแบบ SEM นั้นยังไม่ได้ เพราะหลักการประมาณแบบเชิงเส้นนั้นไม่เหมาะสมในการนำมาใช้ในการประมาณค่าซึ่งแปรตามฟังก์ชันของ secant ของแบบจำลองการสะท้อนแบบ SEM ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้นำเสนอแนวคิดที่ใช้การประมาณแบบไม่เชิงเส้นมาปรับปรุงวิธีการแบบเชิงเส้น

จากการพิจารณาฟังก์ชันการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตเทียบกับฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM พบว่าค่าในฟังก์ชันการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตแปรตามค่าของฟังก์ชัน cosine (ดังสมการที่ 3 ที่ได้กล่าวมาแล้ว) ในขณะที่ค่าในฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM นั้นแปรตามค่าของฟังก์ชัน secant (ดังสมการที่ 4 ที่ได้กล่าวมาแล้ว) ซึ่งเมื่อทดลองนำค่าจากแต่ละฟังก์ชันมา plot เป็นกราฟได้เป็นกราฟดังรูปที่ 3.4 โดยรูปที่ 3.4ก แสดงกราฟที่เกิดจากค่าของฟังก์ชัน $\cos(\theta)$ และรูปที่ 3.4ข แสดงกราฟที่เกิดจากค่าของฟังก์ชัน $\sec(\theta)$ เมื่อ $0 \leq \theta \leq \frac{\pi}{2}$ ซึ่งได้เป็นลักษณะกราฟแบบไม่เชิงเส้นทั้งสองกราฟ



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงค่าของฟังก์ชัน $\cos(\theta)$ และ $\sec(\theta)$

เมื่อพิจารณาถึงลักษณะความโค้ง (curvature) ของแต่ละกราฟจะเห็นว่า ความโค้งของกราฟที่เกิดจากฟังก์ชัน $\cos(\theta)$ นั้นจะค่อย ๆ เปลี่ยนแปลงตลอดทั้งกราฟ ในขณะที่ความโค้งของกราฟที่เกิดจากฟังก์ชัน $\sec(\theta)$ นั้นมีการเปลี่ยนแปลงที่สูงกว่ามากโดยเฉพาะในช่วงที่ $\frac{\pi}{3} \leq \theta \leq \frac{\pi}{2}$ ซึ่งจากลักษณะของการเปลี่ยนแปลงความโค้งดังกล่าวใช้เพียงประมาณแบบเชิงเส้นก็น่าจะเพียงพอแล้วสำหรับฟังก์ชัน $\cos(\theta)$ ในขณะที่ฟังก์ชัน $\sec(\theta)$ นั้นใช้การประมาณแบบเชิงเส้นไม่น่าจะเพียงพอ

จากการพิจารณาฟังก์ชันการสะท้อนดังที่กล่าวมาข้างต้นนั้นสอดคล้องกับผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองในงานวิจัยนี้ นั่นคือวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah ซึ่งเคยใช้ได้ผลลัพธ์ที่ดีกับรูปแบบการสะท้อนแบบแลมเบิร์ตนั้นเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM กลับได้ผลลัพธ์ที่ไม่ดีดังผลลัพธ์จากการทดลองที่ได้นำเสนอไปแล้วในหัวข้อ 3.2

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงได้เสนอให้ทำการประมาณแบบไม่เชิงเส้น (non-linear approximation) เพื่อให้เหมาะสมกับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM [18] โดยที่ยึดหลักการในตอนต้นตามวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah แต่เพิ่มการพิจารณาพจน์ในอนุกรมเทย์เลอร์โดยการขยายอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ที่อยู่ในเทอมของความสูงจนถึงพจน์ในลำดับที่สองของอนุกรมแทนการพิจารณาเพียงพจน์ในลำดับที่หนึ่งของอนุกรมในวิธีการแบบเชิงเส้นและนำหลักการของ Newton Raphson แบบไม่เชิงเส้นมาใช้ประมาณค่าความสูงเพื่อหาลักษณะของพื้นผิวแทนหลักการของ Kalman filter ที่ใช้ในวิธีการแบบเชิงเส้น

นั่นคือจากอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชัน $f(Z(x, y))$ ในสมการที่ 9 ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น เมื่อพิจารณาจนถึงเทอมในลำดับที่สองของอนุกรม และเมื่อกำหนดค่าเริ่มต้นโดยประมาณให้แก่ $Z^0(x, y)$ ค่าความสูง $Z(x, y)$ แต่ค่าที่การทำซ้ำครั้งที่ n สามารถหาได้จากการประมาณที่ได้มาก่อนของ $Z^{n-1}(i, j)$ สำหรับทุก $Z(i, j)$ ที่ $i \neq x$ และ $j \neq y$ ซึ่งเมื่อแทนที่ $Z(x-1, y)$ ด้วย $Z^{n-1}(x-1, y)$ และแทนที่ $Z(x, y-1)$ ด้วย $Z^{n-1}(x, y-1)$ ในสมการที่ 9 ในที่สุดจะได้ผลดังนี้

$$\begin{aligned} 0 &= f(Z(x, y)) \\ &\approx f(Z^{n-1}(x, y)) + (Z(x, y) - Z^{n-1}(x, y))D(Z^{n-1}(x, y)) \\ &\quad + \frac{1}{2}(Z(x, y) - Z^{n-1}(x, y))^2 D^2(Z^{n-1}(x, y)) \quad \dots (21) \end{aligned}$$

$$\text{เมื่อ } D(Z^{n-1}(x, y)) \text{ คือ } \frac{df}{dZ(x, y)}(Z^{n-1}(x, y))$$

$$\text{และ } D^2(Z^{n-1}(x, y)) \text{ คือ } \frac{d^2f}{dZ^2(x, y)}(Z^{n-1}(x, y))$$

หลังจากนั้น นำวิธีการของ Newton Raphson แบบไม่เชิงเส้น [19] มาใช้ในการหา $Z(x, y)$ จากสมการ 21 โดยที่ไม่ได้นำหลักการของ Kalman filter ที่ใช้ในวิธีการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้ในที่นี้เพราะหลักการของ Kalman filter เป็นหลักการแบบเชิงเส้นเช่นเดียวกัน จึงไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับหลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นในวิธีการนี้ได้ ดังนั้นจากสมการที่ 21 เมื่อ $Z(x, y) = Z^n(x, y)$ จัดรูปสมการให้อยู่ในรูปแบบทั่วไปตามวิธีการของ Newton Raphson แบบไม่เชิงเส้นได้เป็นสมการที่ 22 ดังนี้

$$Z^n(x, y) = Z^{n-1}(x, y) - \frac{D(Z^{n-1}(x, y))}{D^2(Z^{n-1}(x, y))} \pm \frac{\sqrt{[D(Z^{n-1}(x, y))]^2 - 2D(Z^{n-1}(x, y))f(Z^{n-1}(x, y))}}{D^2(Z^{n-1}(x, y))} \quad \dots(22)$$

เมื่อ $D(Z^{n-1}(x, y))$ ก็คือสมการที่ 20 ที่ได้มาจากการคำนวณสมการที่ 19 ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

และ $D^2(Z^{n-1}(x, y))$ เป็นการนำสมการที่ 20 มาคำนวณต่อ ซึ่งจะได้

$$D^2(Z^{n-1}(x, y)) = \frac{(p+q)^2(1+pp_s+qq_s)^{-1}\sqrt{1+p_s^2+q_s^2}}{(\sqrt{1+p^2+q^2})^3} - \frac{(p+q)(p_s+q_s)(1+pp_s+qq_s)^{-2}\sqrt{1+p_s^2+q_s^2}}{\sqrt{1+p^2+q^2}} + \frac{2\sqrt{1+p_s^2+q_s^2}}{\sqrt{1+p^2+q^2}(1+pp_s+qq_s)} + \frac{2(p_s+q_s)^2\sqrt{1+p^2+q^2}\sqrt{1+p_s^2+q_s^2}}{(1+pp_s+qq_s)^3} - \frac{(p_s+q_s)}{(1+pp_s+qq_s)^2} \left(\frac{(p_s+q_s)\sqrt{1+p^2+q^2}}{\sqrt{1+p_s^2+q_s^2}} + \frac{(p+q)\sqrt{1+p_s^2+q_s^2}}{\sqrt{1+p^2+q^2}} \right) \quad \dots(23)$$

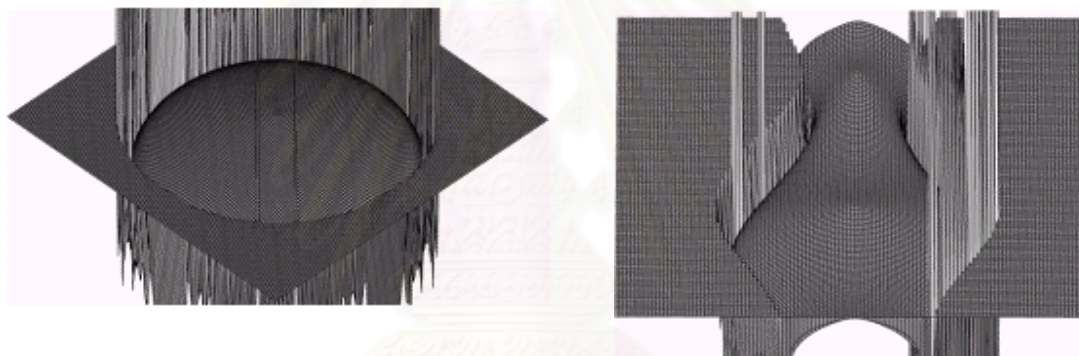
จากสมการทั่วไปที่จัดรูปแบบตามวิธีการแบบไม่เชิงเส้นของ Newton Raphson ในสมการที่ 22 นั้น ค่าความสูง $Z(x, y)$ ของจุดทุกจุดที่การทำซ้ำแต่ละครั้งจึงสามารถหามาได้เมื่อกำหนดให้ค่าความสูงเริ่มต้นของทุกจุดมีค่าเป็นศูนย์ จากการทดลองพบว่าใช้การทำซ้ำ 2 ครั้งก็เพียงพอเช่นเดียวกันกับในวิธีการแบบเชิงเส้น นั่นคือการทำซ้ำ 2 ครั้งค่าของ $f(Z(x, y))$ ของทุกจุดลู่เข้าสู่ค่าศูนย์ยกเว้นจุดที่อยู่บริเวณขอบของภาพซึ่งค่าของ $f(Z(x, y))$ จะไม่ลู่เข้า

การทดสอบและประเมินวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่น่าเสนอนี้ทำเช่นเดียวกับที่ทำกับวิธีการแบบเชิงเส้นที่ประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ในหัวข้อ 3.2 พบว่าค่าความผิดพลาดที่วัดด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงมีค่าที่ต่ำกว่าวิธีการแบบเชิงเส้นมาก กล่าวคือได้ค่าความผิดพลาดเป็น 0.9 สำหรับภาพทรงกลมและ 0.9 สำหรับภาพแจกัน (ดังแสดงในตารางที่ 3.2) และรูปร่างของพื้นผิวที่ได้จากการนำวิธีการแบบไม่เชิงเส้นนี้ก็คือวิธีการแบบเชิงเส้น ดังจะเห็นได้ว่าบริเวณพื้นผิวของทรงกลมและแจกัน

ที่ได้นั้นเรียบตลอดทั้งพื้นผิวไม่มีลักษณะเป็นแนวสูงชันเหมือนลักษณะพื้นผิวที่ได้ในวิธีการแบบเชิงเส้นถึงแม้ว่าบริเวณขอบของวัตถุกับพื้นหลังยังมีความผิดพลาดอยู่แต่ก็น้อยกว่าในวิธีแบบเชิงเส้น ดังแสดงในรูปที่ 3.5

ตารางที่ 3.2 ความผิดพลาดจากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงที่ได้จากวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัย

ภาพทดสอบ	ความผิดพลาดของค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง
ทรงกลม	0.9
แจกัน	0.9



(ก)

(ข)

รูปที่ 3.5 ลักษณะพื้นผิวของภาพทรงกลมและแจกัน ที่ได้จากการทดสอบกับวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้ (ก) ทรงกลม (ข) แจกัน

3.4 การวิเคราะห์ผลจากการทดสอบและประเมินและข้อสรุปที่ได้

ในหัวข้อนี้เป็นการกล่าวถึงการวิเคราะห์ผลจากการทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS ที่ได้ทำการทดลองในงานวิจัยนี้ รวมถึงข้อสรุปวิธีการที่จะนำไปใช้กับภาพจริงที่ถ่ายจากกล้อง SEM

3.4.1 การวิเคราะห์ผลการทดสอบและประเมิน

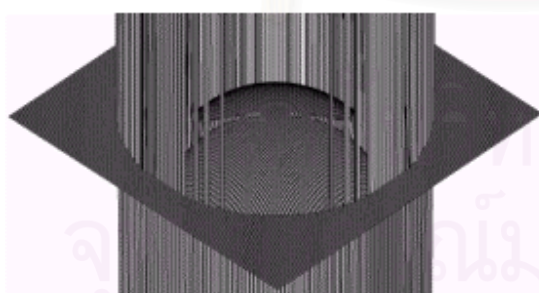
จากผลลัพธ์ที่ได้เมื่อทดสอบและประเมินวิธีการแบบเชิงเส้นและวิธีการแบบไม่เชิงเส้นกับภาพที่สร้างขึ้นจะเห็นว่าวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้ได้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าวิธีการแบบเชิงเส้นทั้งจากค่าความ

ผิดพลาดในการประเมินที่น้อยกว่าดังตารางที่ 3.2 และจากลักษณะพื้นผิวที่ได้ใกล้เคียงลักษณะของวัตถุในภาพที่สร้างขึ้นดังรูปที่ 3.5 ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องตามแนวคิดเบื้องต้นที่ได้นำเสนอหลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นมาใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM จากการสังเกตค่าที่เกิดจากฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ดังที่ได้กล่าวไปแล้วในหัวข้อ 3.4

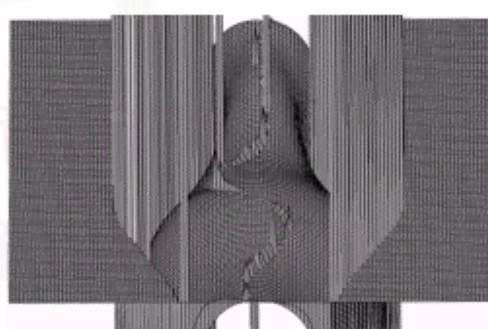
นอกจากนี้เพื่อเป็นการทดสอบว่าการนำ Kalman gain ในหลักการของ Kalman filter มาใช้ในวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah นั้นจะเป็นตัวแปรสำคัญที่ทำให้ได้ผลลัพธ์ที่ไม่ดีกับการนำวิธีการนี้มาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM หรือไม่ ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการทดลองเพิ่มเติมกับวิธีการแบบเชิงเส้นโดยไม่นำหลักการของ Kalman filter มาใช้ในการปรับเปลี่ยนจากสมการที่ 12 ไปเป็นสมการที่ 14 ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น แต่นำหลักการของ Newton Raphson แบบเชิงเส้นมาใช้ในการประมาณค่าความสูงจากสมการที่ 12 แทน ซึ่งเมื่อทดสอบและประเมินผลกับภาพทรงกลมและภาพแจกันที่สร้างขึ้น ได้ค่าความผิดพลาดแสดงเปรียบเทียบกับการทดลองที่ผ่านมาดังตารางที่ 3.3 และได้ลักษณะพื้นผิวของภาพทรงกลมและภาพแจกันดังรูปที่ 3.6

ตารางที่ 3.3 ผลลัพธ์จากการประเมินด้วยค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง

ภาพทดสอบ	วิธีการที่ทดสอบ / ความผิดพลาดของค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูง		
	วิธีการแบบเชิงเส้น	วิธีการแบบไม่เชิงเส้น	วิธีการที่ทดลองเพิ่มเติม
ทรงกลม	31.9	0.9	90.1
แจกัน	24.9	0.9	193.2



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.6 ลักษณะพื้นผิวของภาพทรงกลมและแจกัน ที่ได้จากการทำทดลองเพิ่มเติมกับวิธีการแบบเชิงเส้น

(ก) ทรงกลม (ข) แจกัน

จะเห็นว่าผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองเพิ่มเติมโดยไม่นำหลักการของ Kalman filter มาใช้ในวิธีการแบบเชิงเส้นแต่ใช้หลักการของ Newton Raphson แบบเชิงเส้นแทนนั้นได้ผลไม่ดีกว่าเมื่อใช้หลักการของ Kalman filter ทั้งค่าความผิดพลาดที่ได้จากวิธีการประเมิน ดังตารางที่ 3.3 และจากลักษณะของพื้นผิวที่ได้ดังรูปที่ 3.6 ดังนั้น Kalman gain ที่นำมาใช้ในการแก้ปัญหาการหารด้วยค่าศูนย์ในวิธีการแบบเชิงเส้นนั้นจึงไม่ได้เป็นตัวแปรสำคัญที่ทำให้เกิดผลลัพธ์ที่ไม่ดีเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM สาเหตุที่ทำให้ได้ผลลัพธ์ที่ไม่ดีนั้นเป็นผลมาจากวิธีการประมาณค่าที่เป็นหลักการแบบเชิงเส้น ผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลองเพิ่มเติมนี้ยังคงเป็นการสนับสนุนสมมติฐานที่ว่า รูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ที่แปรตามฟังก์ชันของ secant นั้นไม่น่าจะใช้หลักการประมาณแบบเชิงเส้นได้ เพราะทั้งหลักการของ Kalman filter และ Newton Raphson แบบเชิงเส้นนั้นเป็นวิธีการประมาณแบบเชิงเส้นทั้งสองวิธี และยังคงให้ผลลัพธ์ที่ไม่ดีทั้งสองวิธีเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM โดยการเปรียบเทียบกับผลลัพธ์ที่ได้จากวิธีการแบบไม่เชิงเส้นที่ได้เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้

3.4.2 ผลสรุปวิธีการที่จะนำไปใช้กับภาพจริงที่ถ่ายจากกล้อง SEM

การนำวิธีการของเทคนิค SFS มาใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM นั้นจำเป็นต้องใช้วิธีการที่ใช้หลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นเพื่อให้เหมาะสมกับลักษณะของรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ในงานวิจัยนี้ นำเสนอวิธีการที่นำหลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นที่ปรับปรุงจากวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah โดยการขยายอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ในเทอมของความสูงจนถึงพจน์ในลำดับที่สองของอนุกรมและนำหลักการของ Newton Raphson แบบไม่เชิงเส้นมาใช้ในการประมาณค่าความสูง จากการทดสอบและประเมินตามหลักการทดสอบของเทคนิค SFS กับภาพที่สร้างขึ้นนั้นพบว่า วิธีการที่เสนอขึ้นนี้ให้ผลลัพธ์ที่ค่อนข้างดีมากกว่าภาพที่นำมาใช้ในการทดสอบ ดังนั้นในการนำเทคนิค SFS ไปประยุกต์ใช้กับภาพจริงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ในลำดับต่อไปจึงนำวิธีการประมาณแบบไม่เชิงเส้นที่ได้เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้ไปใช้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

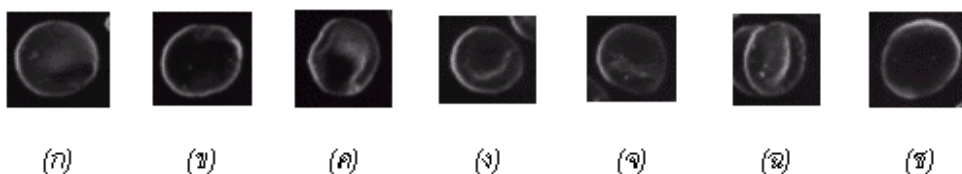
การใช้เทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการแบบไม่เชิงเส้นกับ ภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM

ในบทนี้เป็นการกล่าวถึงการนำเทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการประมาณแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้ไปประยุกต์ใช้กับภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM โดยจะกล่าวถึงรายละเอียดการจัดเตรียมข้อมูลภาพเม็ดเลือดแดง การนำเทคนิค SFS ที่เสนอขึ้นไปใช้กับข้อมูลภาพเม็ดเลือดแดง รวมถึงแนวทางการวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้และสุดท้ายเป็นข้อสรุปที่ได้จากการนำเทคนิค SFS ไปประยุกต์ใช้กับภาพเม็ดเลือดแดง

4.1 การจัดเตรียมข้อมูลภาพเม็ดเลือดแดง

ภาพเม็ดเลือดแดงต้นฉบับที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้เป็นภาพถ่ายเม็ดเลือดแดงที่ได้จากภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากกล้อง SEM รุ่น JSM 5300 ผลิตโดย JEOL และเป็นเม็ดเลือดแดงที่ใช้ในการวิจัยเกี่ยวกับวงจรการถ่ายเลือดให้แก่ผู้ป่วยโดยผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ ของหน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในสภาวะแต่ละสภาวะของวงจรการถ่ายเลือด โดยแบ่งเป็นสามสภาวะ คือ สภาวะที่เป็นเม็ดเลือดแดงปกติก่อนผ่านวงจร สภาวะหลังผ่านตัวกรองเลือดในวงจร และสภาวะหลังผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ในวงจร

ในการจัดเตรียมภาพเม็ดเลือดแดงจากภาพเม็ดเลือดแดงต้นฉบับที่ถ่ายจากกล้อง SEM มาใช้ในวิธีการของเทคนิค SFS นั้น ได้จากการแบ่งส่วน (segment) ภาพเม็ดเลือดแดงแต่ละเม็ดด้วยมือจากภาพต้นฉบับ (ดังตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงต้นฉบับในรูปที่ 1.2) โดยเลือกใช้เฉพาะเม็ดที่หันหน้าตรงมายังผู้มองเรียงตัวแนวราบ ไม่ถูกบังจากเม็ดอื่นและไม่ซ้อนทับกัน ซึ่งเป็นวิธีการเลือกเช่นเดียวกันกับที่ใช้ในงานวิจัยที่ใช้การคำนวณค่า CIRS [2, 20] และกำหนดให้บริเวณพื้นหลัง (background) เป็นสีขาว รูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 แสดงตัวอย่างผลที่ได้จากการคัดเลือกและการเปลี่ยนพื้นหลังให้เป็นสีขาวตามลำดับ



รูปที่ 4.1 ตัวอย่างเม็ดเลือดบางเม็ดที่เลือกออกมาจากภาพต้นฉบับในรูปที่ 1.2



รูปที่ 4.2 ตัวอย่างเม็ดเลือดจากรูปที่ 4.1 ที่ผ่านการแบ่งส่วนด้วยมือและกำหนดให้พื้นหลังเป็นสีขาว

เมื่อสร้างภาพทดสอบด้วยรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบและประเมินวิธีการของเทคนิค SFS นั้น พบว่าลักษณะของภาพระดับเทาที่ได้จากการสร้างด้วยรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM จะแปรผกผันกับค่าความสูงของภาพ (ค่าระดับเทาต่ำคือบริเวณที่สูงมาก) ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะของภาพแบบลบ (negative) ซึ่งกลับกันกับความเข้าใจในการมองภาพของคน ที่ถือว่าเป็นลักษณะการมองภาพแบบบวก (positive) และจากการสอบถามผู้เชี่ยวชาญการใช้กล้อง SEM เกี่ยวกับการมองภาพที่ถ่ายจากกล้อง SEM นั้นก็มองเป็นภาพแบบบวกเช่นเดียวกัน ดังนั้นในการนำวิธีการของเทคนิค SFS ที่ใช้การประมวลผลแบบไม่เชิงเส้นกับฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ไปประยุกต์ใช้กับภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM สำหรับงานวิจัยนี้จึงต้องกลับ (invert) ภาพระดับเทาของเม็ดเลือดแดงที่ได้จากการเตรียมข้อมูลทีกล่าวมานี้ เพื่อให้สอดคล้องกับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ที่นำมาใช้ ก่อนที่จะนำไปใช้ในการหาลักษณะพื้นผิวจากวิธีการของเทคนิค SFS ต่อไป รูปที่ 4.3 แสดงตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงจากรูปที่ 4.2 ที่ผ่านการ invert แล้ว และเป็นข้อมูลที่พร้อมจะนำไปหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงต่อไป



รูปที่ 4.3 ตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงจากรูปที่ 4.2 ที่ผ่านการ invert แล้ว

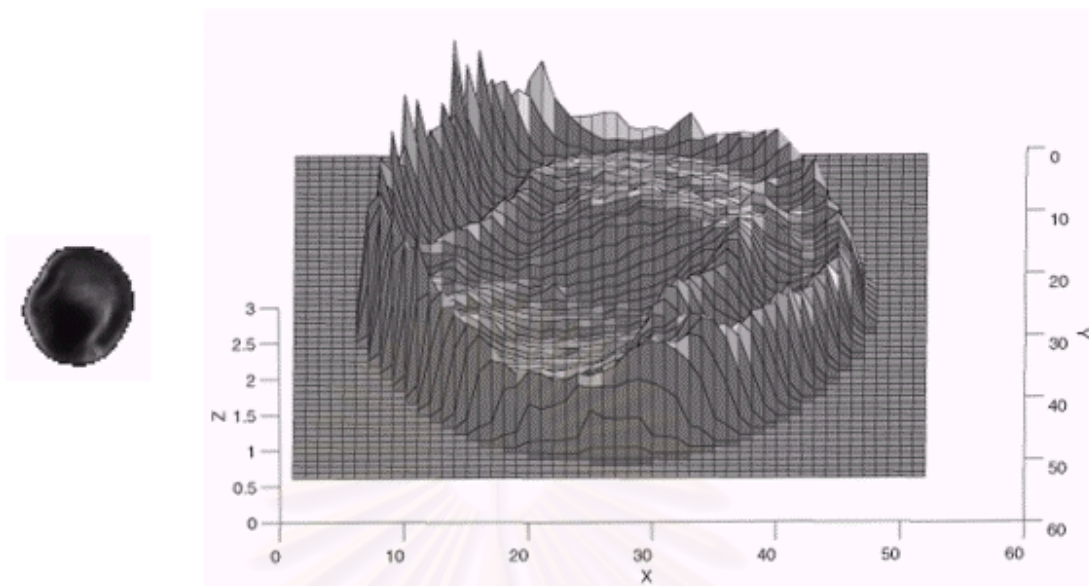
4.2 การนำเทคนิค SFS ไปใช้กับข้อมูลภาพเม็ดเลือดแดง

งานวิจัยนี้ได้จัดเตรียมภาพเม็ดเลือดแดงดังวิธีข้างต้นและทดลองใช้วิธีการของเทคนิค SFS ที่ใช้การประมาณแบบไม่เชิงเส้นกับภาพเม็ดเลือดแดงทั้งหมด 68 ภาพที่คัดเลือกจากภาพต้นฉบับ 3 ชุดภาพ คือ จากชุดภาพเม็ดเลือดแดงจากสภาวะที่เป็นเม็ดเลือดแดงปกติก่อนผ่านวงจร 21 ภาพ จากชุดภาพเม็ดเลือดแดงจากสภาวะหลังผ่านตัวกรองเลือดในวงจร 27 ภาพ และจากชุดภาพเม็ดเลือดแดงจากสภาวะหลังผ่านปั๊มแบบโรลเลอร์ในวงจร 20 ภาพ

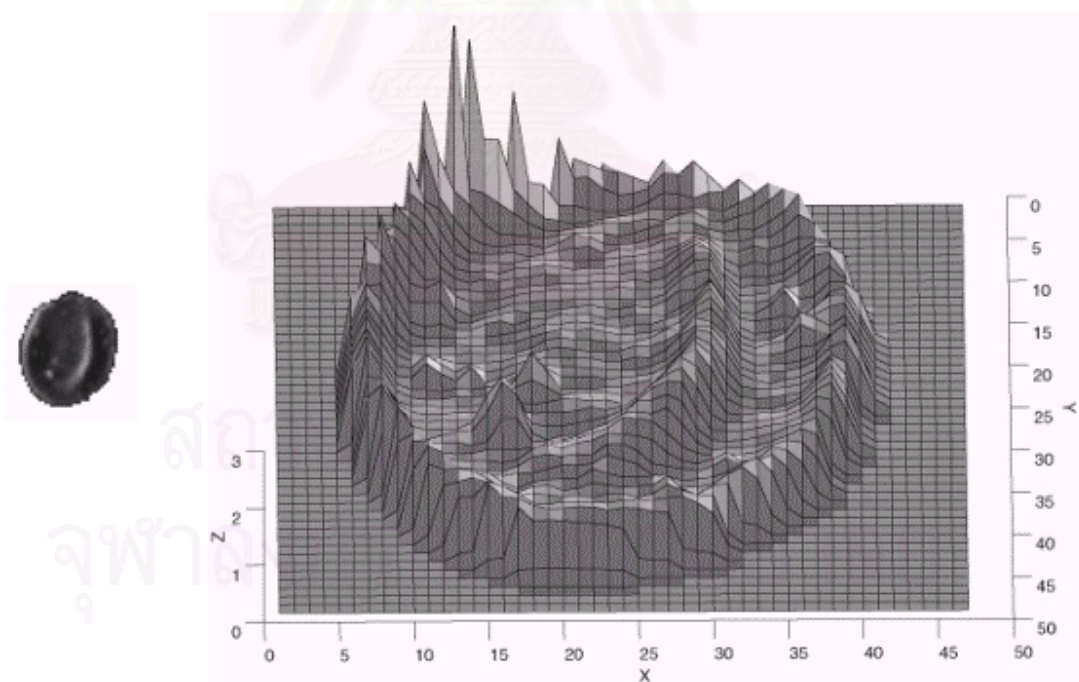
ผลลัพธ์ที่ได้จากวิธีการแบบไม่เชิงเส้นนี้ได้เป็นค่าความสูงสัมพัทธ์ของแต่ละจุดในภาพ เมื่อนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงที่ได้ของทั้งภาพไป plot เป็น 3 มิติก็จะเห็นลักษณะพื้นผิวของภาพที่ได้ ดังตัวอย่าง รูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 แสดงลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากรูปที่ 4.2ค และ 4.2ข ตามลำดับ เมื่อแกน X และแกน Y เป็นตำแหน่งของจุดในภาพ และแกน Z เป็นค่าความสูง ณ ตำแหน่ง X และ Y ในรูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 นี้ได้แสดงภาพระดับเทาของเม็ดเลือดแดงที่ขยายภาพขึ้นเป็น 150% ไว้ด้วยเพื่อเป็นการเปรียบเทียบกัน

ในที่นี้แสดงผลลัพธ์จากการทดลองไว้เพียง 2 ภาพ แต่ในภาคผนวก ก ได้แสดงผลลัพธ์ทั้งหมดของลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้จากเทคนิค SFS จากการทดลองกับ 68 ภาพจากชุดภาพ 3 ชุดดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น รวมถึงได้แสดงภาพระดับเทาของเม็ดเลือดแดงในแต่ละภาพไว้ด้วยเช่นเดียวกัน

จากลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงการเปลี่ยนแปลงของความสูงบนพื้นผิวของเม็ดเลือดแดง บริเวณที่ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงคือบริเวณที่มีค่าความสูงไม่แตกต่างกันกับบริเวณใกล้เคียงมากนัก ทำให้มองเห็นลักษณะพื้นผิวบริเวณนั้นว่าค่อนข้างราบเรียบ ส่วนบริเวณที่มีค่าความสูงแตกต่างกับบริเวณข้างเคียงมาก ๆ จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสูงบนพื้นผิวบริเวณนั้นซึ่งมองเห็นเป็นลักษณะพื้นผิวที่ขรุขระ ถึงแม้วิธีการของเทคนิค SFS ที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้โดยรวมแล้วจะเป็นวิธีที่เหมาะสมกว่าวิธีการแบบเชิงเส้นที่ได้ทำการทดลองในงานวิจัยนี้ แต่จากลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้จะเห็นว่าวิธีการที่นำมาใช้นี้ก็ยังคงมีปัญหาเกี่ยวกับบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันของค่าระดับเทาการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้ยังเกิดปัญหากับวิธีการของเทคนิค SFS ที่นำมาใช้ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 3 ดังนั้นลักษณะพื้นผิวของภาพที่ได้ตรงบริเวณขอบของภาพจึงเป็นบริเวณที่ยังไม่น่าเชื่อถือ ดังตัวอย่างที่เห็นได้ ชัดเจนในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.4 ลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติที่ได้จากเทคนิค SFS ของเม็ดเลือดแดงทางซ้ายมือ (จากรูปที่ 4.2ค)



รูปที่ 4.5 ลักษณะพื้นผิวใน 3 มิติที่ได้จากเทคนิค SFS ของเม็ดเลือดแดงทางซ้ายมือ (จากรูปที่ 4.2ง)

4.3 แนวทางการวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้จากเทคนิค SFS

เนื่องจากค่าความสูงของเม็ดเลือดแดงแต่ละภาพที่ได้จากเทคนิค SFS ที่ใช้วิธีการประมาณแบบไม่เชิงเส้นดังที่ plot แสดงเป็นลักษณะพื้นผิวดังตัวอย่างในรูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 นั้นเป็นค่าความสูงโดยสัมพัทธ์ของแต่ละจุดเทียบกับทั้งภาพ เพื่อเป็นการอธิบายถึงลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ ในงานวิจัยนี้จึงนำเสนอแนวทางในการวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดง โดยที่ไม่นำค่าความสูงที่ได้จากเทคนิค SFS มาใช้ในการวิเคราะห์โดยตรง แต่จะใช้การวิเคราะห์จากค่าการเปลี่ยนแปลงความสูง (gradient of depth) แทน โดยการนำค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงมาใช้ เมื่อ p ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงความสูง ณ จุด x, y เทียบกับแนวแกน x นั้นหามาจากสมการที่ 6 และ q ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงความสูง ณ จุด x, y เทียบกับแนวแกน y นั้นหามาจากสมการที่ 7 ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

จากนั้นจึงนำขนาดของ p และ q ของจุดแต่ละจุดมาหาค่าเฉลี่ยเป็นขนาดของการเปลี่ยนแปลงความสูงของแต่ละจุด แล้วนำไปหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของทั้งภาพโดยที่ไม่รวมขอบและพื้นหลัง เพราะบริเวณขอบเป็นบริเวณที่มีความผิดพลาดจากการประมาณค่าความสูงด้วยวิธีการของเทคนิค SFS ที่นำเสนอไปแล้วข้างต้น และบริเวณพื้นหลังเป็นบริเวณที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความสูงจึงไม่นำจุดในบริเวณเหล่านั้นมาพิจารณา

- **ค่าเฉลี่ย (Mean) ของการเปลี่ยนแปลงความสูง**

เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ยของบริเวณที่เป็นเม็ดเลือดแดงทั้งเม็ด








- **ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) ของการเปลี่ยนแปลงความสูง**

เป็นการวัดการกระจายของการเปลี่ยนแปลงความสูงของเม็ดเลือดแดงทั้งเม็ด

ถ้าค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงมีค่าสูง แสดงว่าลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้มีการกระจายของการเปลี่ยนแปลงความสูงจากการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ยมาก นั่นคือลักษณะพื้นผิวที่ได้โดยรวมมีการเปลี่ยนแปลงสูง ซึ่งอาจเป็นการเปลี่ยนแปลงสูงที่เกิดขึ้นถี่ ๆ หรืออาจเป็นการเปลี่ยนแปลงที่สูงบางบริเวณบนพื้นผิว ตารางที่ 4.1 แสดงตัวอย่างค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงที่คำนวณได้หลังจากการนำตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงจากรูปที่ 4.2 ไปหาลักษณะพื้นผิวจากเทคนิค SFS

นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ได้นำผลลัพธ์จากการคำนวณค่า CIRSf ซึ่งคำนวณมาจากวิธีการประมวลผล ภาพดิจิทัลมาแสดงในตารางที่ 4.1 เพื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการ เปลี่ยนแปลงความสูงที่ได้ในงานวิจัยนี้ด้วย

ตาราง ที่ 4.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง และค่า CIRSf ของตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดง

ตัวอย่างภาพเม็ดเลือด	การเปลี่ยนแปลง ความสูงเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ การเปลี่ยนแปลงความสูง	CIRSf
 ภาพเม็ดเลือด ก	0.0298	0.0528	0.9400
 ภาพเม็ดเลือด ข	0.0328	0.0616	0.9280
 ภาพเม็ดเลือด ค	0.0808	0.1303	0.8965
 ภาพเม็ดเลือด ง	0.0415	0.0765	0.9251
 ภาพเม็ดเลือด จ	0.0526	0.0861	0.9156
 ภาพเม็ดเลือด ฉ	0.0882	0.1416	0.9040
 ภาพเม็ดเลือด ช	0.0351	0.0680	0.9175

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นว่าตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงแต่ละภาพมีค่า CIRSf ที่ใกล้เคียงกันมาก ข้อสรุปจากการวิเคราะห์โดยการหาค่า CIRSf นั้นถือว่าตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงแต่ละภาพนั้นมีรูปร่างที่ไม่ แตกต่างกัน แต่เมื่อมองด้วยตาเปล่าจะเห็นว่าบางภาพมีลักษณะพื้นผิวที่แตกต่างกัน ซึ่งเมื่อนำเทคนิค SFS

มาใช้ในการหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงออกมาแล้วนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงมาใช้อธิบายลักษณะพื้นผิวที่ได้พบว่า ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงของตัวอย่างภาพเม็ดเลือดแดงแต่ละภาพค่อนข้างแตกต่างกัน ดังตัวอย่างที่เห็นได้ชัดในตัวอย่างภาพเม็ดเลือด ค และภาพเม็ดเลือด ด ที่มีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่อนข้างสูงนั้น เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับลักษณะพื้นผิวที่ได้ในรูปที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 จะเห็นว่าลักษณะพื้นผิวโดยรวมมีการเปลี่ยนแปลงที่สูงสอดคล้องกับค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงที่ได้ ซึ่งผลลัพธ์จากการคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง และค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงทั้งหมด 68 ภาพที่ทดลองในงานวิจัยนี้ได้แสดงไว้ในภาคผนวก ก ด้วยเช่นกัน

4.4 ข้อสรุปที่ได้จากการนำเทคนิค SFS ไปประยุกต์ใช้กับเม็ดเลือดแดง

เมื่อนำเทคนิค SFS ที่ใช้หลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นซึ่งนำเสนอขึ้นในงานวิจัยนี้มาประยุกต์ใช้กับภาพเม็ดเลือดแดง ได้ผลเป็นลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากการนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงในแต่ละจุดที่ได้จากเทคนิค SFS ไป plot ใน 3 มิติ ทำให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพื้นผิวที่ได้อย่างชัดเจน

งานวิจัยนี้ได้นำค่าทางสถิติคือ ค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงของความสูงมาใช้ในการอธิบายลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ ซึ่งบอกการเปลี่ยนแปลงของความสูงโดยเฉลี่ยและการกระจายของการเปลี่ยนแปลงความสูงของลักษณะพื้นผิว การนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงมาใช้ในที่นี้ สามารถบอกถึงการกระจายของการเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวโดยรวมของเม็ดเลือดแดงได้ นั่นคือถ้าค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าสูง บ่งบอกว่าลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงนั้นโดยรวมแล้วมีการเปลี่ยนแปลงที่สูง ซึ่งสามารถบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพื้นผิวได้ในระดับหนึ่ง ในขณะที่การใช้ค่า CIRSf นั้นอธิบายรูปร่างของเม็ดเลือดแดงจากข้อมูลภาพระดับเทาใน 2 มิติ ซึ่งเป็นวิธีการเดิมที่ใช้ในการวิเคราะห์รูปร่างของเม็ดเลือดแดงนั้นไม่ได้อธิบายเกี่ยวกับลักษณะพื้นผิวแต่อย่างใด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในบทนี้จะกล่าวถึงการสรุปผลการวิจัย รวมถึงข้อเสนอนแนะที่จะเป็นแนวทางสำหรับการพัฒนางานวิจัยทางด้านนี้ต่อไป

5.1 สรุปผลการวิจัย

การนำเทคนิค SFS มาใช้ในการหาลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงจากภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM นั้น จากการศึกษาถึงลักษณะของการเกิดภาพจากกล้อง SEM พบว่า วิธีการแบบทั่วไปของเทคนิค SFS ที่ใช้หลักการประมาณแบบเชิงเส้นนั้นไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ซึ่งมีค่าระดับเทาในฟังก์ชันการสะท้อนแปรตามค่าของฟังก์ชัน secant ได้ งานวิจัยนี้จึงเสนอวิธีการที่ใช้หลักการการประมาณแบบไม่เชิงเส้นกับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ขึ้นซึ่งเป็นวิธีการที่ปรับปรุงมาจากวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah โดยพิจารณาเทอมในอนุกรมเทย์เลอร์จากการขยายอนุกรมเทย์เลอร์ของฟังก์ชันการสะท้อนแบบ SEM ที่อยู่ในเทอมของความสูงจนถึงพจน์ในลำดับที่สองของอนุกรมและใช้วิธีการของ Newton Raphson แบบไม่เชิงเส้นมาใช้ในการประมาณค่าความสูง จากการทดสอบและประเมินผลวิธีการกับภาพที่สร้างขึ้นตามหลักการทดสอบวิธีการของเทคนิค SFS พบว่า วิธีการที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้มีความผิดพลาดจากวิธีการประเมินผลที่นำมาใช้คือ ค่าความผิดพลาดจากค่าเฉลี่ยของขนาดของเกรเดียนต์ของความสูงเมื่อทดสอบกับภาพที่สร้างขึ้นนั้นน้อยกว่าค่าความผิดพลาดจากวิธีการแบบเชิงเส้นเดิมของ Tsai และ Shah มาก คือมีค่าความผิดพลาดเป็น 0.9 ทั้งภาพทรงกลมและภาพแจกัน ในขณะที่วิธีการแบบเชิงเส้นนั้นมีค่าความผิดพลาดเป็น 31.9 สำหรับภาพทรงกลมและ 24.9 สำหรับภาพแจกัน และลักษณะพื้นผิวของภาพทดสอบที่ได้ก็ดีกว่า

งานวิจัยจึงนี้ได้นำวิธีการของเทคนิค SFS ที่เสนอขึ้นไปใช้ในการประมาณลักษณะพื้นผิวของภาพจริง คือภาพเม็ดเลือดแดงที่ถ่ายจากกล้อง SEM ซึ่งจากวิธีการของเทคนิค SFS ที่นำมาใช้นี้ได้ผลลัพธ์ออกมาเป็นค่าความสูงโดยสัมพันธ์ของแต่ละจุดในภาพเทียบกับความสูงของทั้งภาพและแสดงให้เห็นลักษณะของพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงโดยนำความสัมพันธ์ของค่าความสูงที่ได้ไป plot เป็นภาพ 3 มิติ และในงานวิจัยนี้ได้

ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงของความสูงมาใช้ในการอธิบายลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ ซึ่งค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงที่นำมาใช้นี้สามารถอธิบายการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพื้นผิวในภาพโดยรวมได้ในระดับหนึ่ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

ถึงแม้ว่าวิธีการของเทคนิค SFS ที่ใช้หลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นกับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM ที่นำเสนอสำหรับงานวิจัยนี้ จากการทดสอบกับภาพที่สร้างขึ้นตามหลักการทดสอบวิธีการของเทคนิค SFS พบว่าให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าวิธีการแบบเชิงเส้นที่นำมาประยุกต์ใช้กับรูปแบบการสะท้อนแบบ SEM วิธีการที่ใช้หลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นนี้ยังคงมีปัญหากับบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันของค่าระดับเทาโดยเฉพาะบริเวณขอบของภาพ ซึ่งบริเวณดังกล่าวค่าความสูงที่ประมาณได้ยังมีความผิดพลาดสูง ดังนั้นถ้าสามารถปรับปรุงวิธีการนี้เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวได้ก็จะทำให้ได้ลักษณะพื้นผิวที่มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

วิธีการที่ใช้หลักการประมาณแบบไม่เชิงเส้นที่เสนอขึ้นในงานวิจัยนี้ซึ่งใช้หลักการประมาณของ Newton Raphson แบบไม่เชิงเส้นนั้นยังคงมีปัญหากจากการเกิดการหารด้วยค่าศูนย์ ซึ่งยังไม่สามารถนำหลักการที่เหมาะสมกับวิธีการแบบไม่เชิงเส้นมาประยุกต์ใช้เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวได้ดีพอดังเช่นการแก้ปัญหาในวิธีการแบบเชิงเส้นของ Tsai และ Shah ที่นำหลักการของ Kalman filter ที่เป็นหลักการแบบเชิงเส้นมาประยุกต์ใช้ได้ ดังนั้นถ้าสามารถหาหลักการที่เหมาะสมมาประยุกต์ใช้เพื่อแก้ปัญหานี้ได้อาจทำให้วิธีการที่เสนอขึ้นนี้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เนื่องจากในงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถหาข้อมูลที่ชัดเจนได้เกี่ยวกับการแสดงภาพจากกล้อง SEM ว่าเป็นลักษณะภาพแบบบวก หรือว่าภาพแบบลบ ในส่วนนี้ถ้าสามารถทราบข้อมูลที่แน่ชัดได้ก็จะเป็นข้อมูลมีประโยชน์มากในการนำไปใช้ต่อไปไม่ว่าจะเกี่ยวกับการวิจัยทางด้านเทคนิค SFS หรือว่าเกี่ยวกับการอธิบายภาพที่มองจากกล้อง SEM ดังนั้นในส่วนนี้จึงควรทำการวิเคราะห์ต่อไปเพื่อหาข้อมูลที่ชัดเจนขึ้น

ในงานวิจัยนี้ได้นำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงของความสูงมาใช้เป็นแนวทางในการอธิบายลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ ซึ่งยังคงเป็นวิธีการทางสถิติที่อธิบายการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพื้นผิวในภาพโดยรวมเท่านั้น ถ้านำวิธีการอื่น ๆ มาอธิบายลักษณะพื้นผิวของเม็ดเลือดแดงที่ได้ก็สามารถบอกถึงตำแหน่งของการเปลี่ยนแปลงของลักษณะพื้นผิว อาจจะสามารถอธิบายลักษณะพื้นผิวที่ได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น



รายการอ้างอิง

1. อานนท์ นุณยะรัตเวช. โลหิตวิทยาเม็ดเลือดแดง. กรุงเทพฯ: พันนี้พับบลิชซิง, 2535.
2. P. Calzavara, et al. Alteration in Erythrocyte Morphology Induced by Blood Pump. The International of Artificial Organs. vol. 16 (1993): 653-658.
3. สุภินันท์ สายเชื้อ และ สเป็ค สายเชื้อ. โลหิตวิทยา. กรุงเทพฯ: กรุงเทพมหานครพรีนติ้งกรุ๊ป จำกัด, 2534.
4. เวคิน นพนิตย์. จุลทัศน์แบบสแกน: การประยุกต์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. สงขลา: หน่วยงานใต้อธิการบดี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2527.
5. J. B. John and D. R. Lonnie. Electron Microscopy. London : Jones and Bartlett, 1991.
6. I. G. Joeph, et al. Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. New York: Plenum Press, 1981.
7. B. S. Bull and J. D. Brailsford. Red Cell Shape, in The Red Cell, Edited by J. Parker, P. Agre. Cambridge: Harvard University Press, 1988.
8. E. Trucco and A. Verri. Introduction Technique for 3-D Computer Vision. USA: Prentice-Hall, 1998.
9. Q. Zheng and R. Chellappa. Estimation of Illumination Direction, Albedo, and Shape from Shading. IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence. vol.13, no. 7, (1991): 680-702.
10. A. G. Jones and C. J. Taylor. Robust Shape from Shading. Proceedings of British Machine Vision Conference, (1993).
11. A. G. Jones and C. J. Taylor. Automated Interpretation of SEM Images. IEEE Region 10's Ninth Annual International Conference. Theme: Frontiers of Computer Technology. vol. 2, (1994): 872-876.
12. R. Zhang, P. S. Tsai, J. E. Cryer and M. Shah. Analysis of Shape From Shading Techniques. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition. (1994): 377-384.

13. R. Zhang, P. S. Tsai, J. E. Cryer and M. Shah. Shape-from-shading: a Survey. IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence. vol. 21, no. 8, (1999): 690-706.
14. P. S. Tsai and M. Shah. A Fast Linear Shape From Shading. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition. (1994): 734-736.
15. P. S. Tsai and M. Shah. Shape from Shading Using Linear Approximation. Image and Vision Computing J.. vol. 2, no. 8, (1994): 487-498.
16. ปราโมทย์ เดชะอำไพ. ระเบียบวิธีเชิงเลขในงานวิศวกรรม. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541.
17. U.M. Ascher and P. M. Carter. Author, Please Supply Article Title. SIAM J. Numerical Analysis, vol. 30, no. 1, (1993): 102-115.
18. S. Bunrit, N. Covavisaruch and B. Thipakorn. Determining Surface Shape of SEM Images Using Non-Linear Shape from Shading Technique. Image & Vision Computing New Zealand 2000. (2000): 316-321.
19. C. Alkis. Applied Numerical Methods with Personal Computers. New York: McGraw-Hill, 1987.
20. S. Bunyarith, et al. Morphological Analysis of Erythrocyte Using a Digital Image Processing Approach. The First Scientific Meeting. Thai Society of Microcirculation. (1999): 15.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ผลการทดลองจากแต่ละชุดภาพเม็ดเลือดแดง

ในภาคผนวก ก นี้ประกอบด้วย

ตาราง ก.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงและค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 1

ตาราง ก.2 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงและค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 2

ตาราง ก.3 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงและค่า CIRSf ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 3

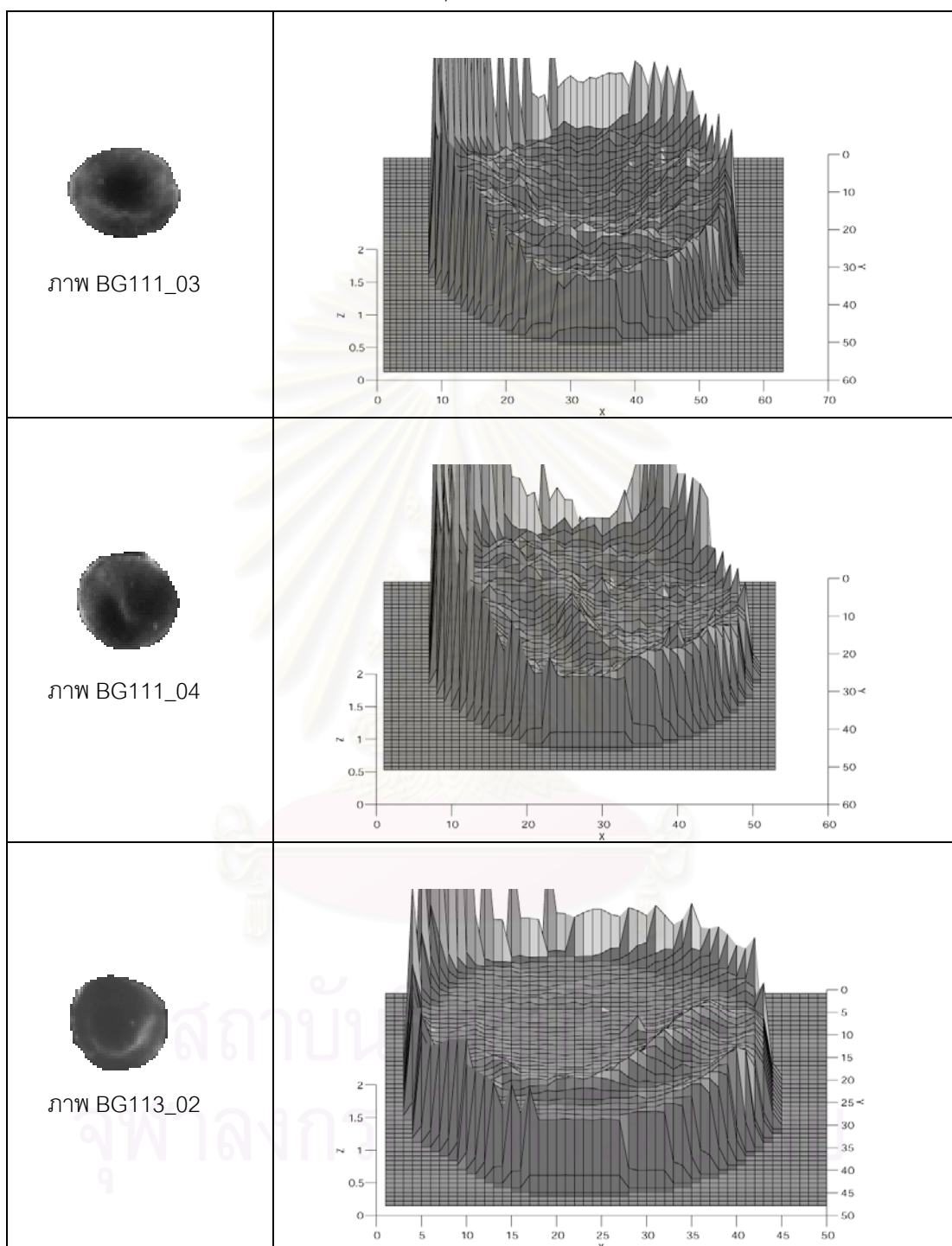


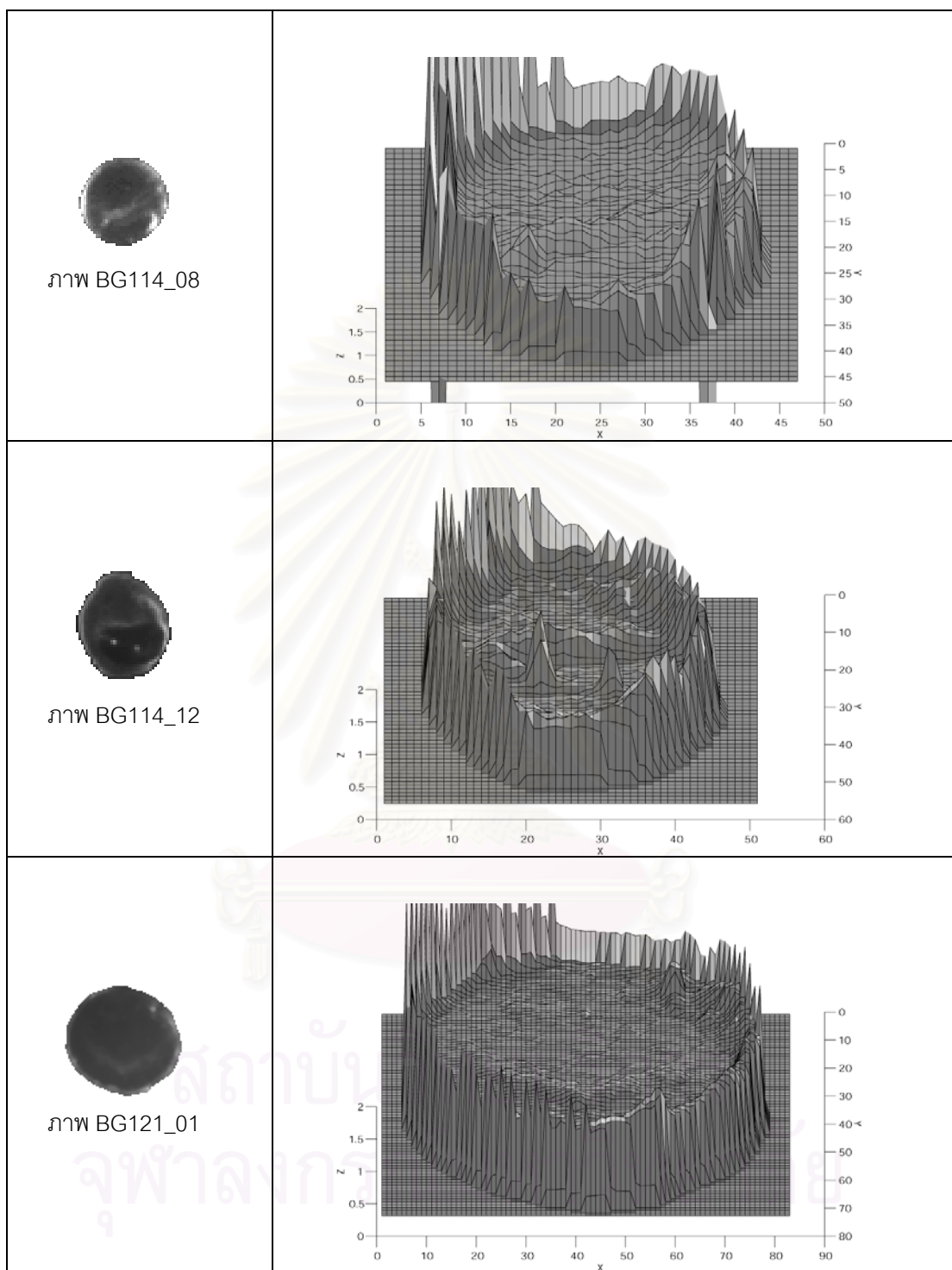
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

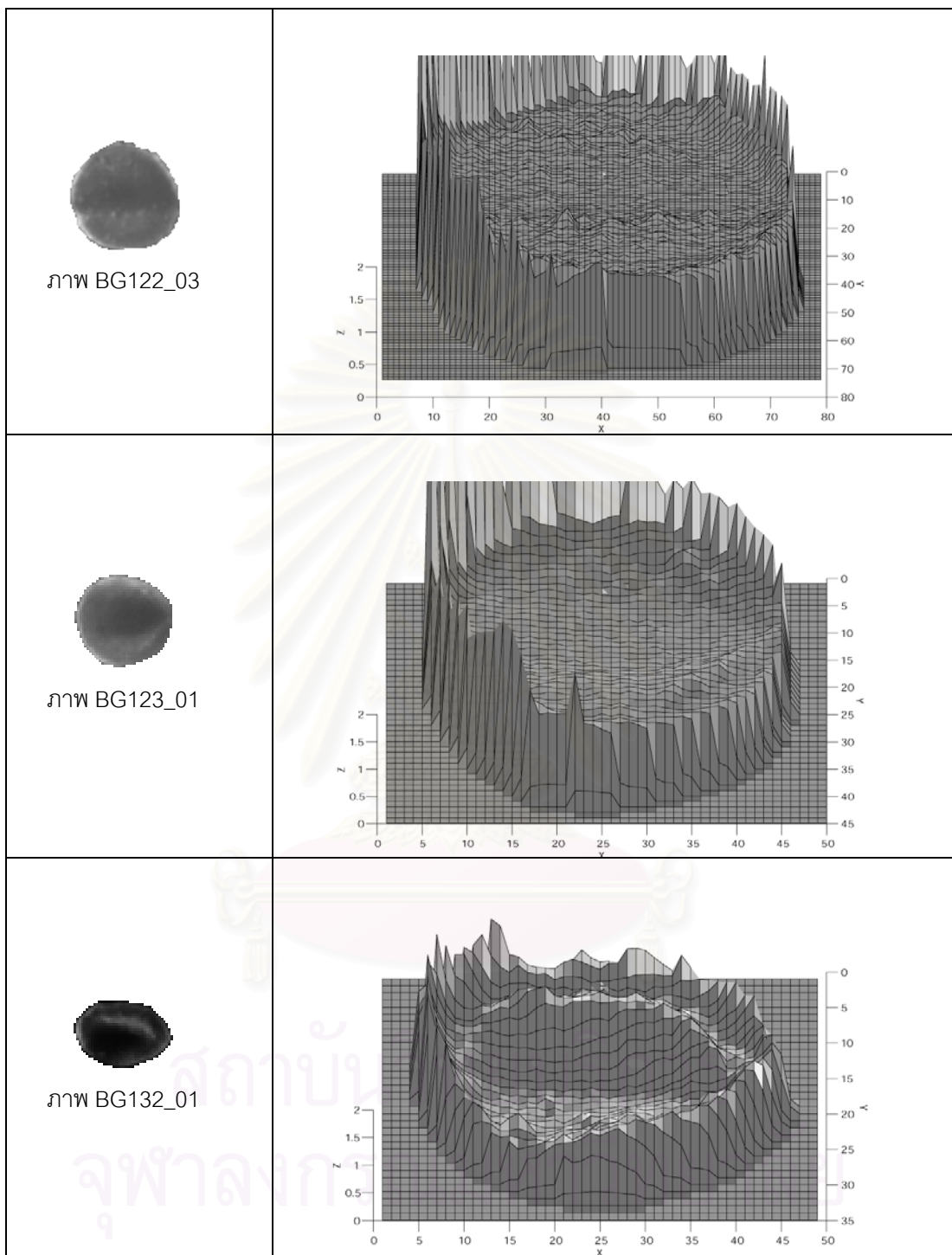
ตาราง ก.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงและค่า CIRSf ของภาพเม็คเลือดแดงชุดที่ 1

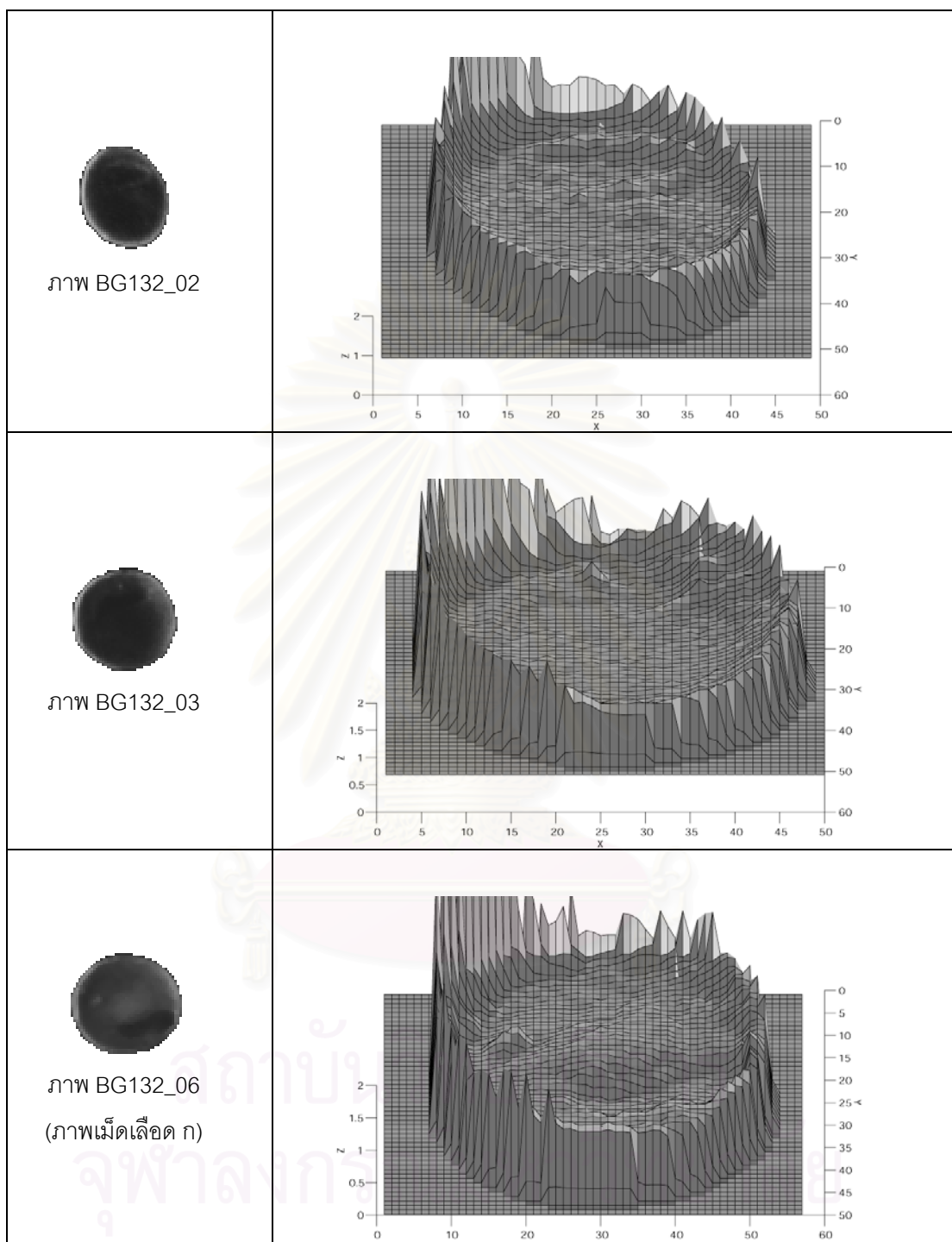
ลำดับที่	ภาพเม็คเลือดแดง	การเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง	CIRSf
1	BG111_03	0.0447	0.0745	0.9120
2	BG111_04	0.0526	0.0787	0.9220
3	BG113_02	0.0268	0.0427	0.9300
4	BG114_08	0.0559	0.0902	0.9270
5	BG114_12	0.0533	0.0971	0.9070
6	BG121_01	0.0160	0.0230	0.8910
7	BG122_03	0.0243	0.0327	0.8960
8	BG123_01	0.0289	0.0409	0.9310
9	BG132_01	0.0730	0.1081	0.8890
10	BG132_02	0.0539	0.0891	0.9310
11	BG132_03	0.0353	0.0634	0.9310
12	BG132_06 (ภาพเม็คเลือด ก)	0.0299	0.0528	0.9400
13	BG132_07 (ภาพเม็คเลือด ข)	0.0350	0.0680	0.9280
14	BG132_08 (ภาพเม็คเลือด ค)	0.0808	0.1303	0.8965
15	BG132_10 (ภาพเม็คเลือด ง)	0.0415	0.0765	0.9251
16	BG132-12 (ภาพเม็คเลือด จ)	0.0526	0.0861	0.9156
17	BG132_14	0.0348	0.0555	0.9100
18	BG132_15	0.0464	0.0723	0.9390
19	BG132_16 (ภาพเม็คเลือด ฉ)	0.0882	0.1416	0.9040
20	BG132_17	0.0275	0.0510	0.9230
21	BG132_18 (ภาพเม็คเลือด ซ)	0.0351	0.0680	0.9175

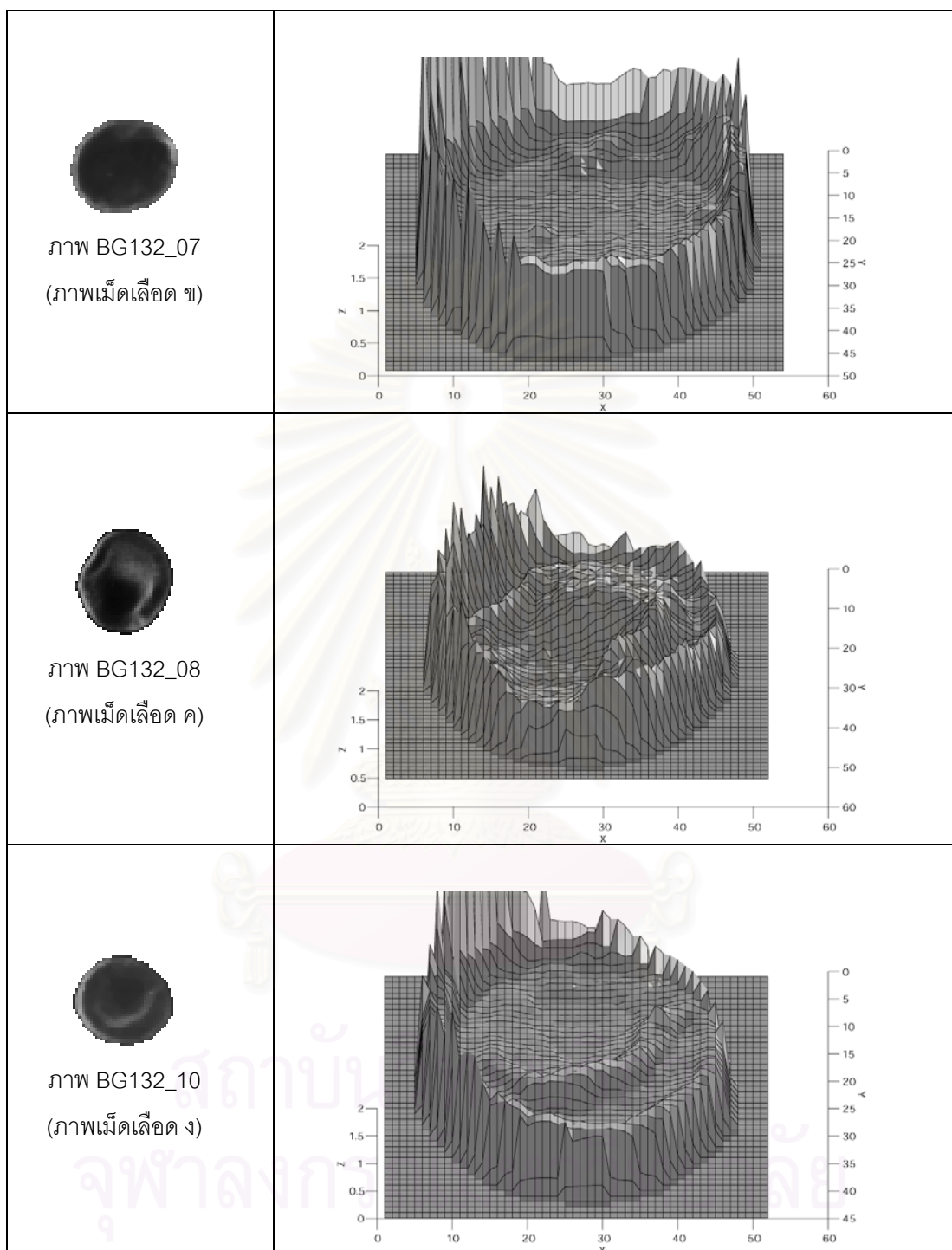
แสดงลักษณะพื้นผิวที่ได้ของภาพเมดเลือดแดงชุดที่ 1





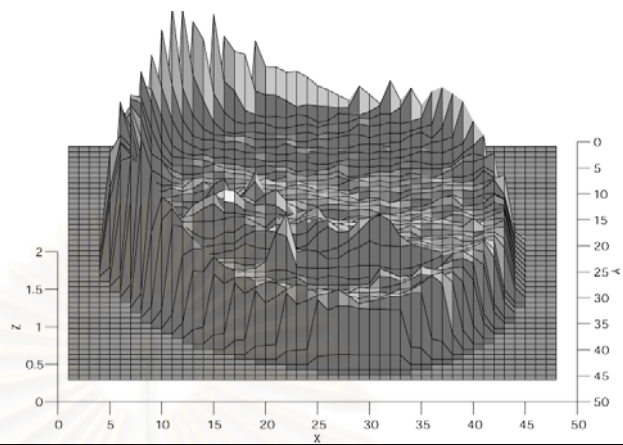




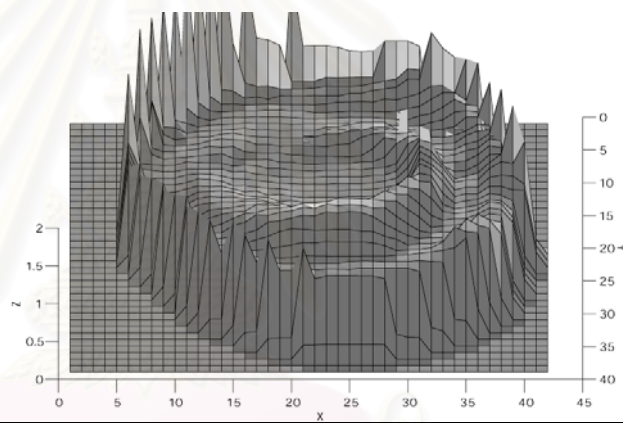




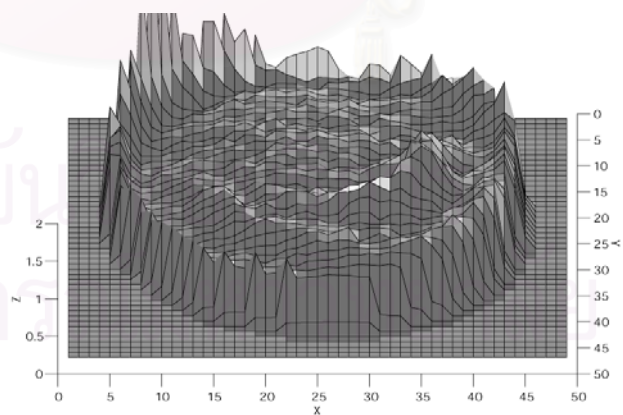
ภาพ132_12
(ภาพเม็ดเลือด จ)



ภาพ132_14

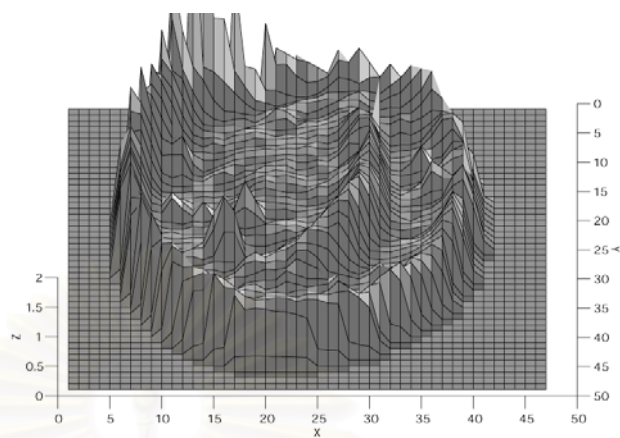


ภาพ132_15

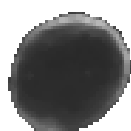
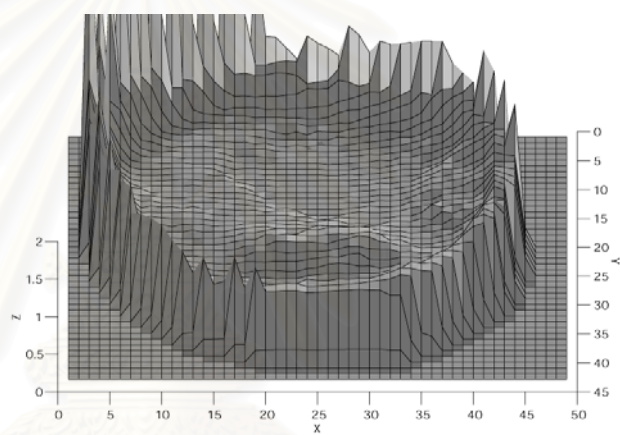




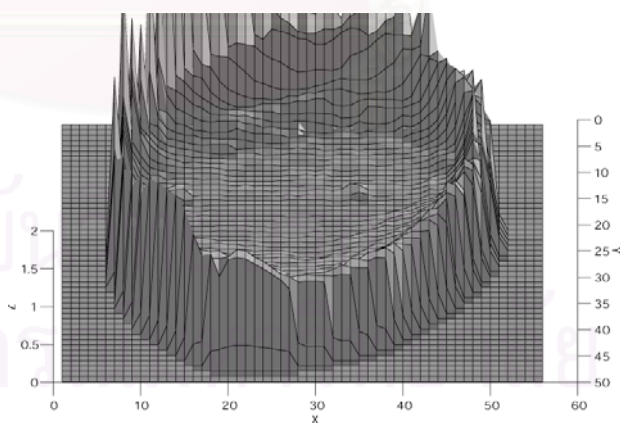
ภาพ132_16
(ภาพเมล็ดเลือด ด)



ภาพ BG132_17



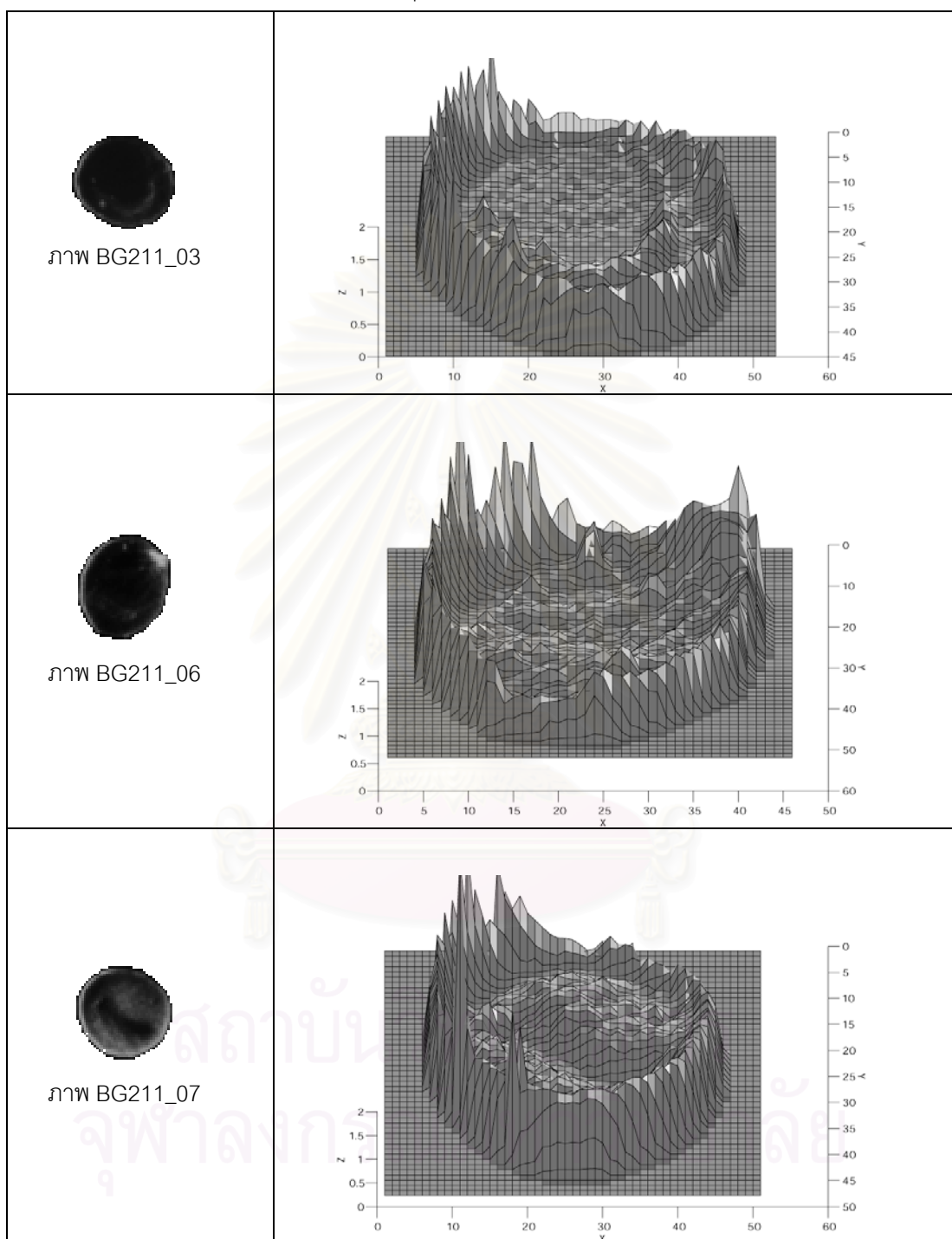
ภาพ BG132_18
(ภาพเมล็ดเลือด ข)

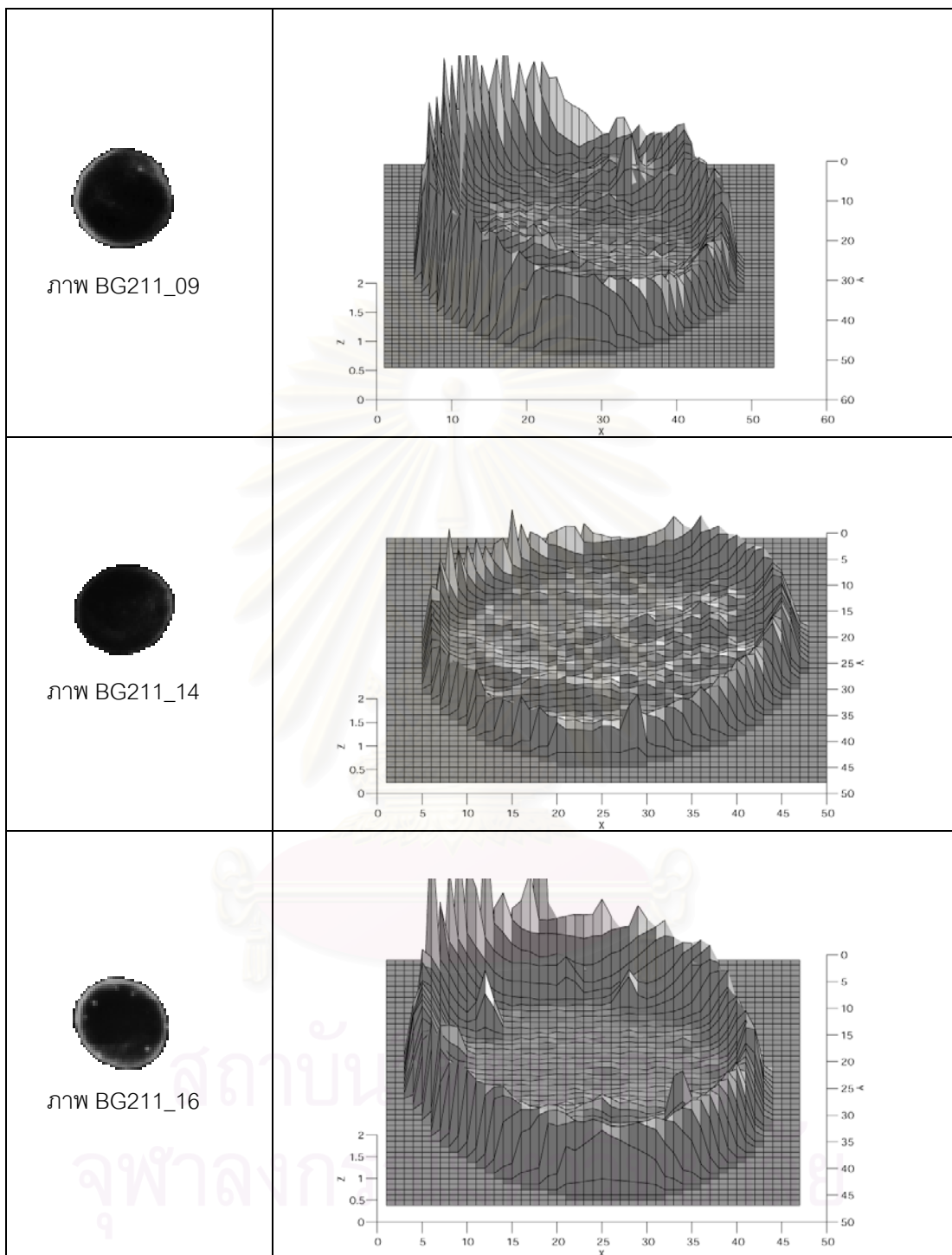


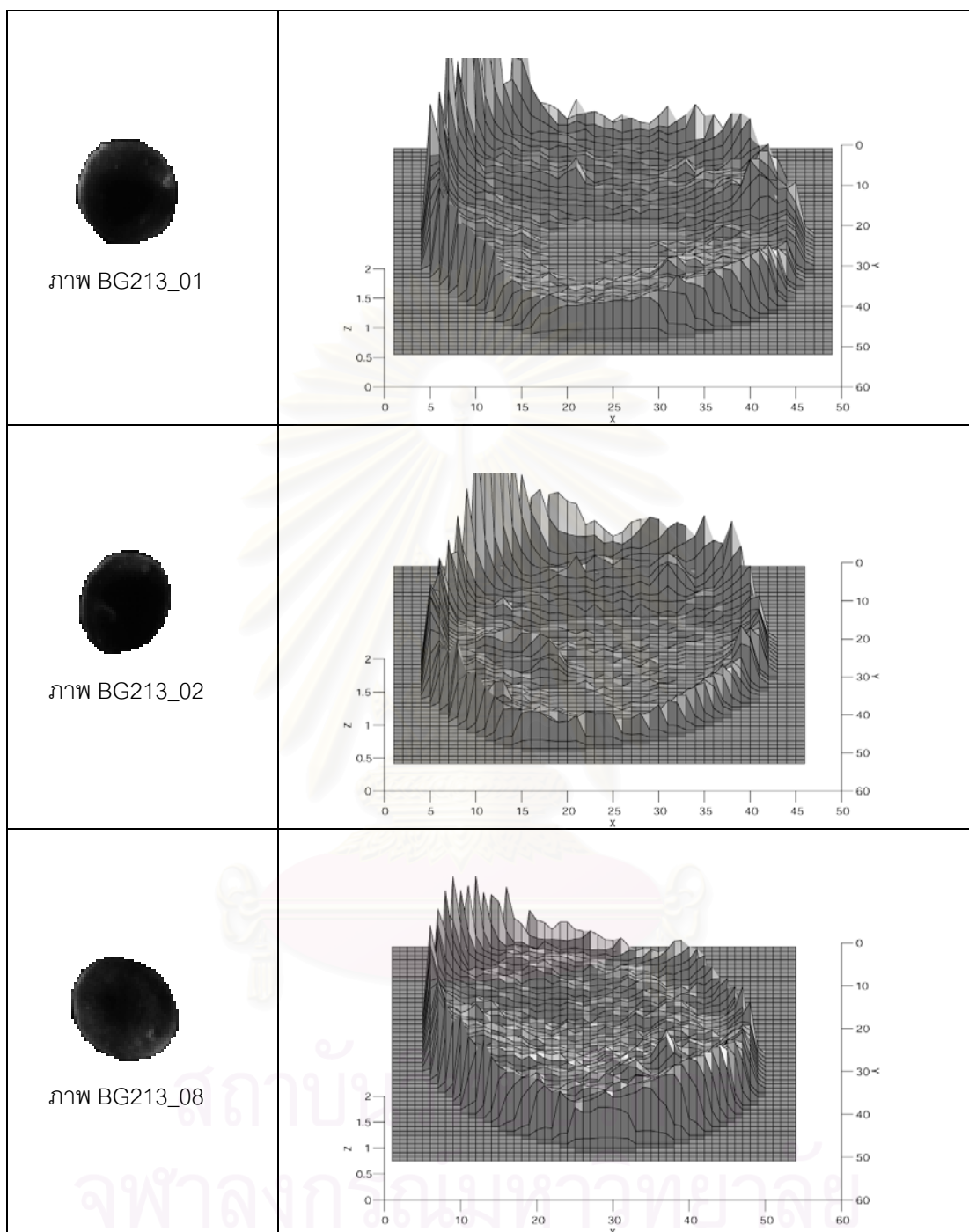
ตาราง ก.2 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงและค่า CIRSf ของภาพเมตลีดแดงชุดที่ 2

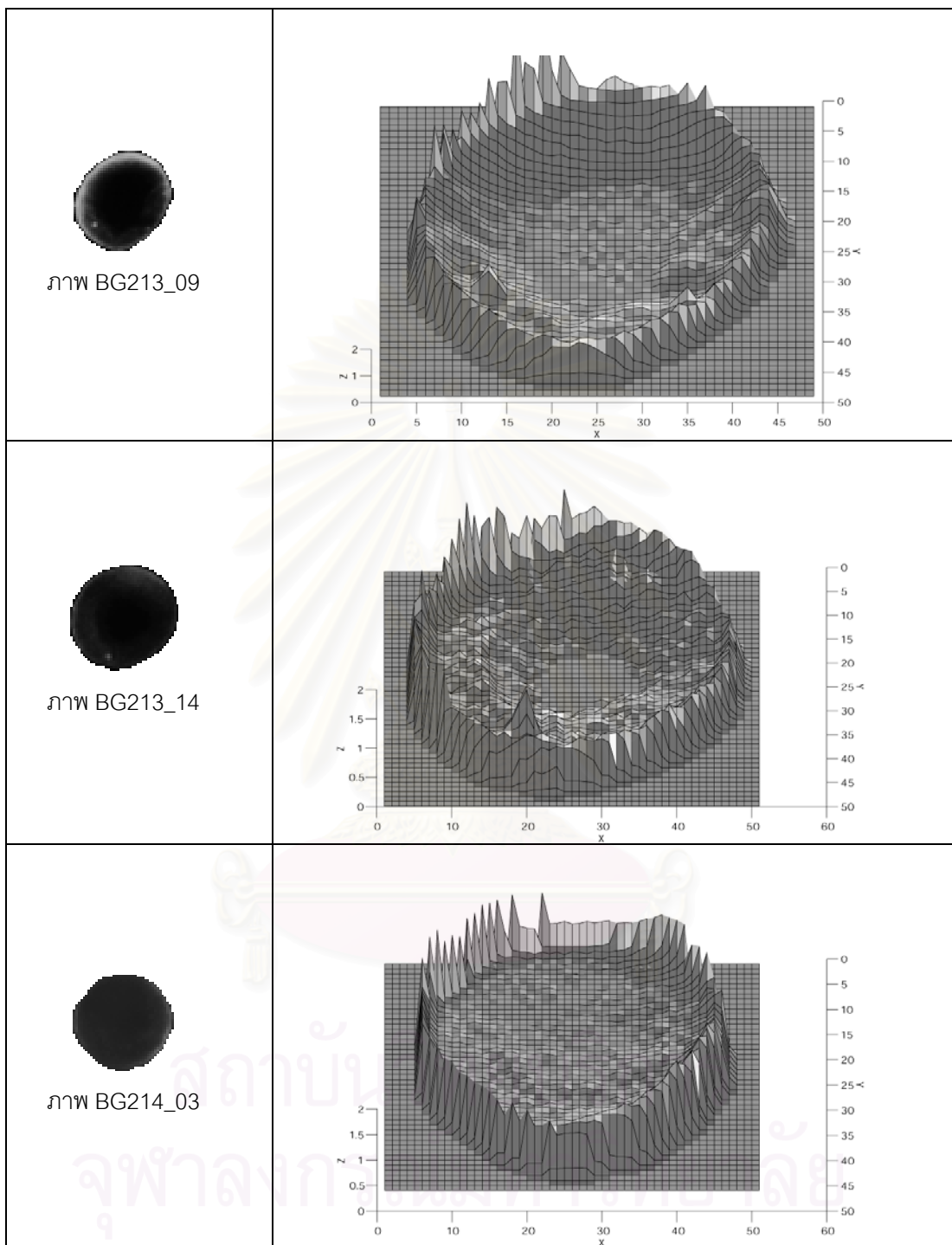
ลำดับที่	ภาพเมตลีดแดง	การเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง	CIRSf
1	BG211_03	0.0427	0.0793	0.9360
2	BG211_06	0.0776	0.1178	0.9260
3	BG211_07	0.0847	0.1332	0.9470
4	BG211_09	0.0661	0.1140	0.9300
5	BG211_14	0.0363	0.0574	0.9350
6	BG211_16	0.0806	0.1369	0.9430
7	BG213_01	0.0441	0.0709	0.9380
8	BG213_02	0.0402	0.0676	0.9310
9	BG213_08	0.0473	0.0680	0.9160
10	BG213_09	0.0781	0.1169	0.9280
11	BG213_14	0.0394	0.0577	0.9250
12	BG214_03	0.0170	0.0283	0.9410
13	BG214_09	0.0280	0.0434	0.9240
13	BG214_11	0.0862	0.1341	0.8560
15	BG221_04	0.0377	0.0632	0.9220
16	BG221_08	0.0517	0.0886	0.8830
17	BG221_12	0.0727	0.1431	0.8630
18	BG221_16	0.0308	0.0426	0.9120
19	BG222_01	0.0444	0.0775	0.9380
20	BG222_08	0.0243	0.0435	0.9080
21	BG222_09	0.0237	0.0363	0.9170
22	BG224_01	0.0383	0.0548	0.8980
23	BG224_03	0.0259	0.0386	0.9400
24	BG234_01	0.0376	0.0629	0.9060
24	BG234_07	0.0312	0.0420	0.9230
26	BG234_16	0.0297	0.0444	0.9330
27	BG234_17	0.0537	0.0798	0.8510

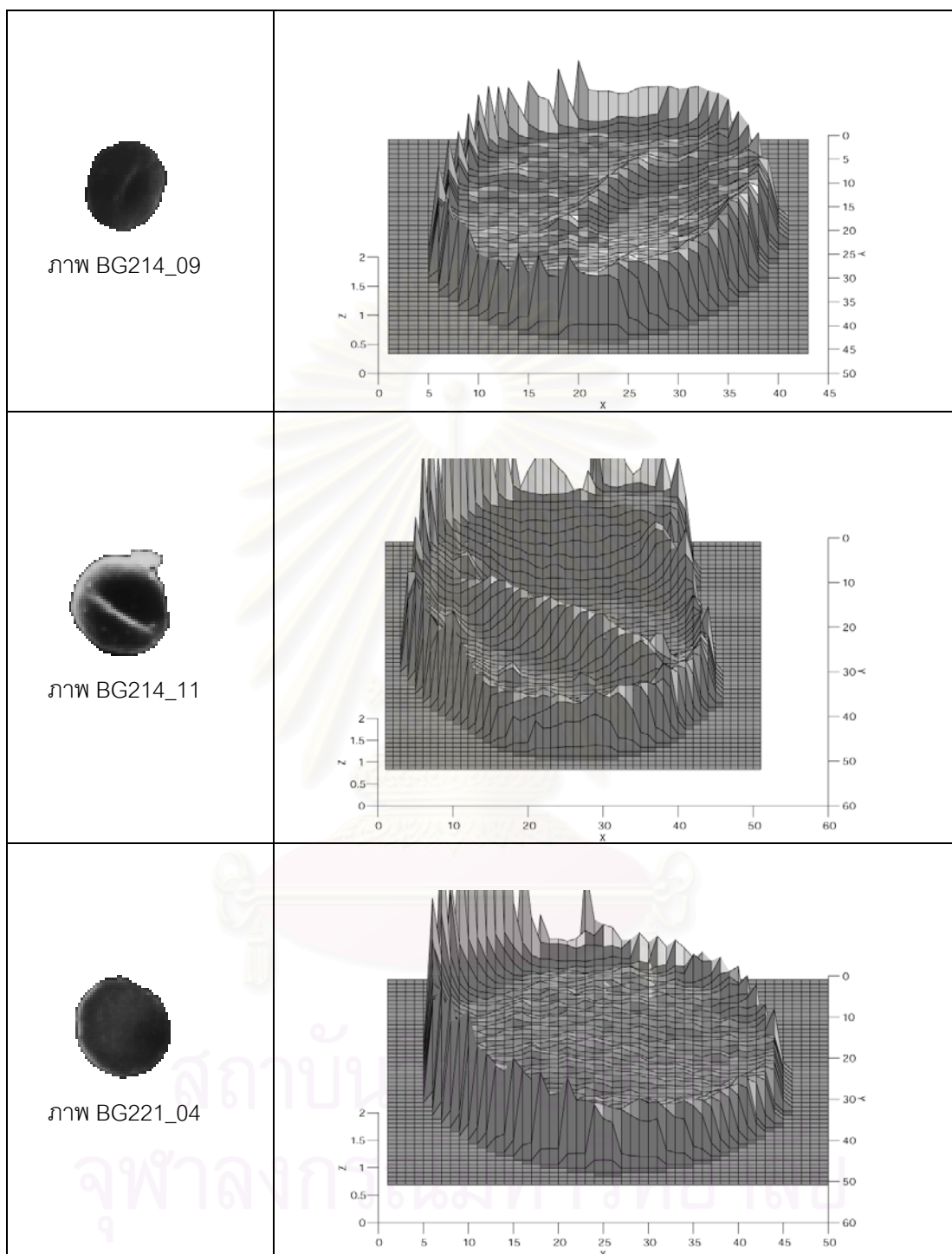
แสดงลักษณะพื้นผิวที่ได้ของภาพเม็ดเลือดแดงชุดที่ 2

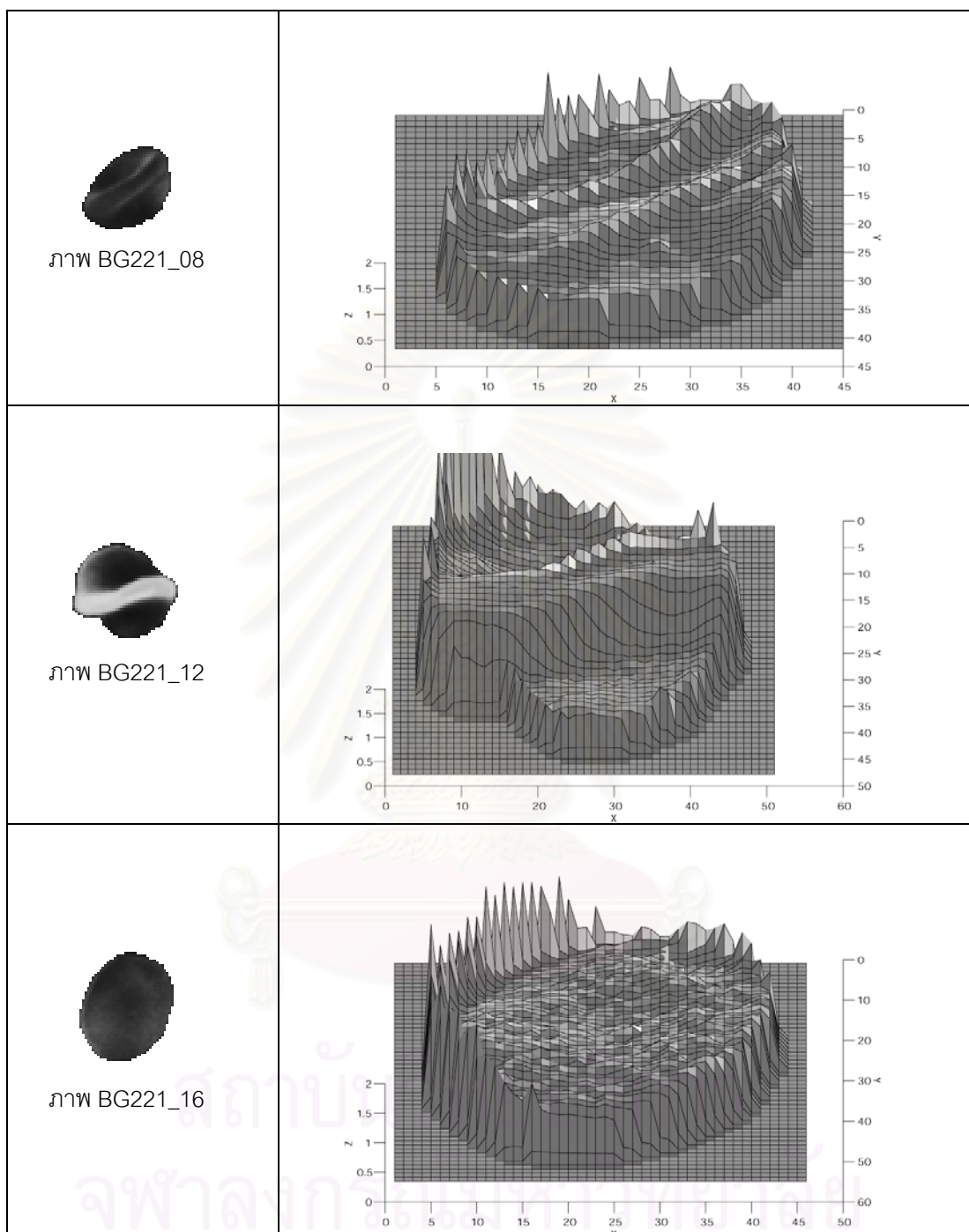


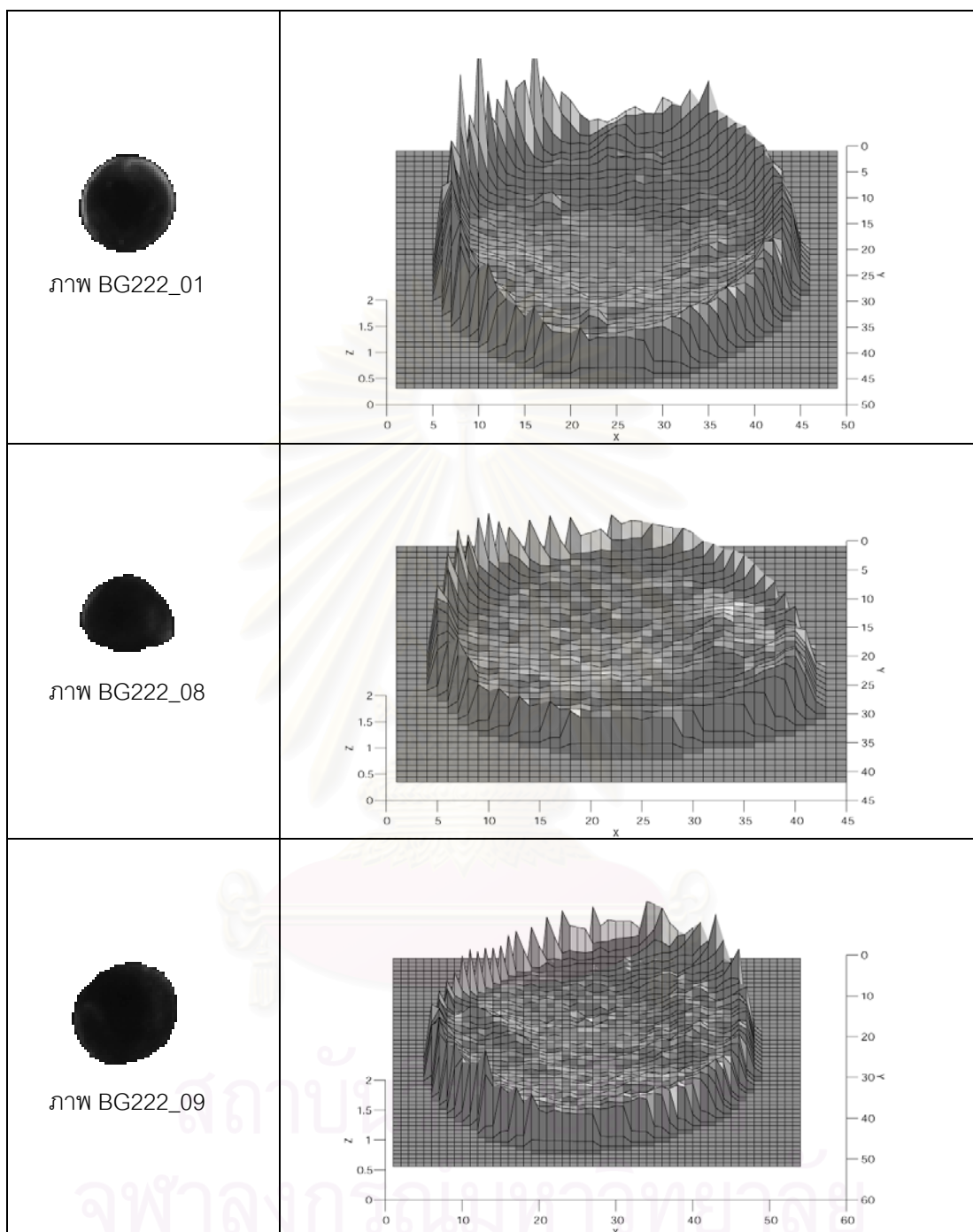


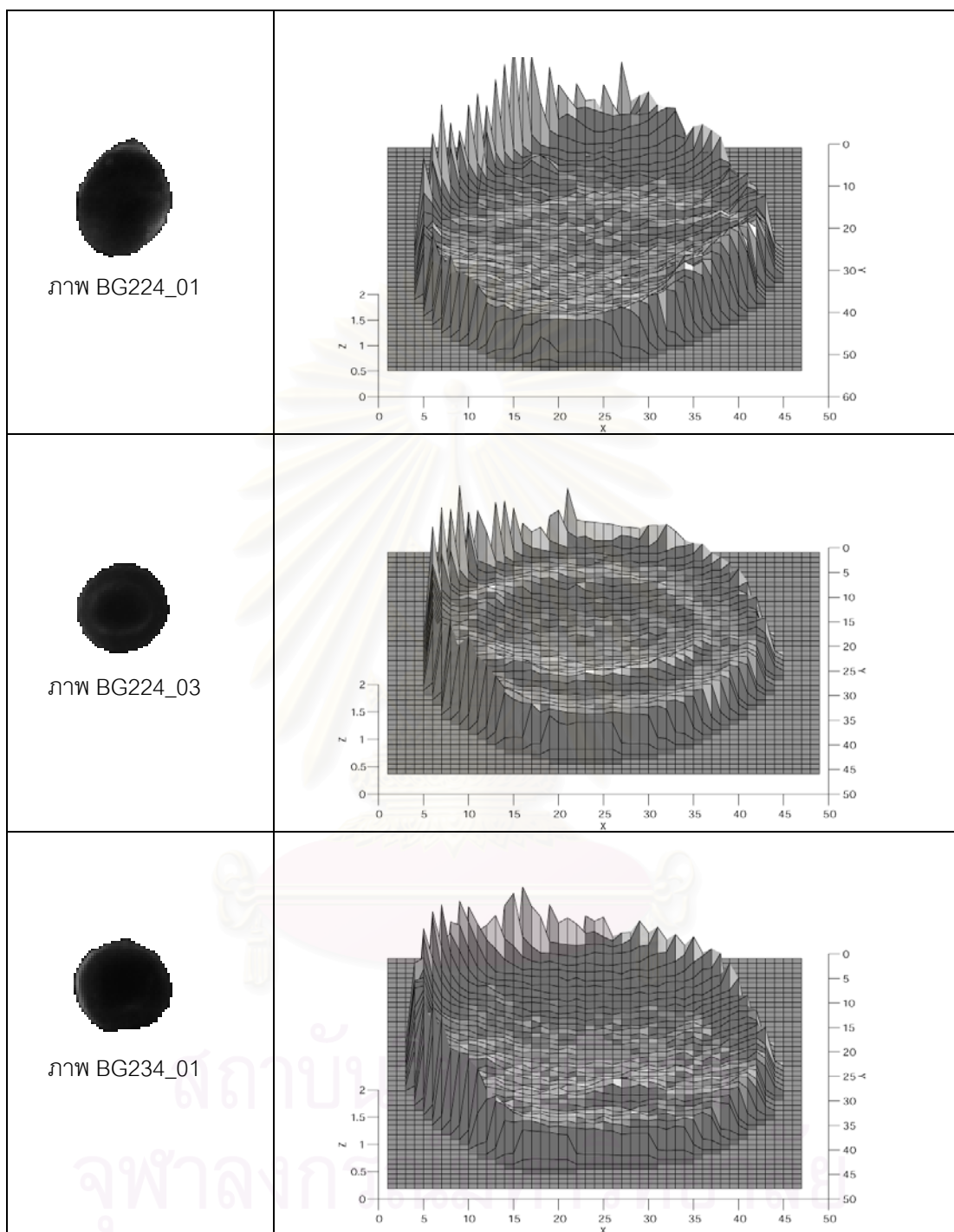


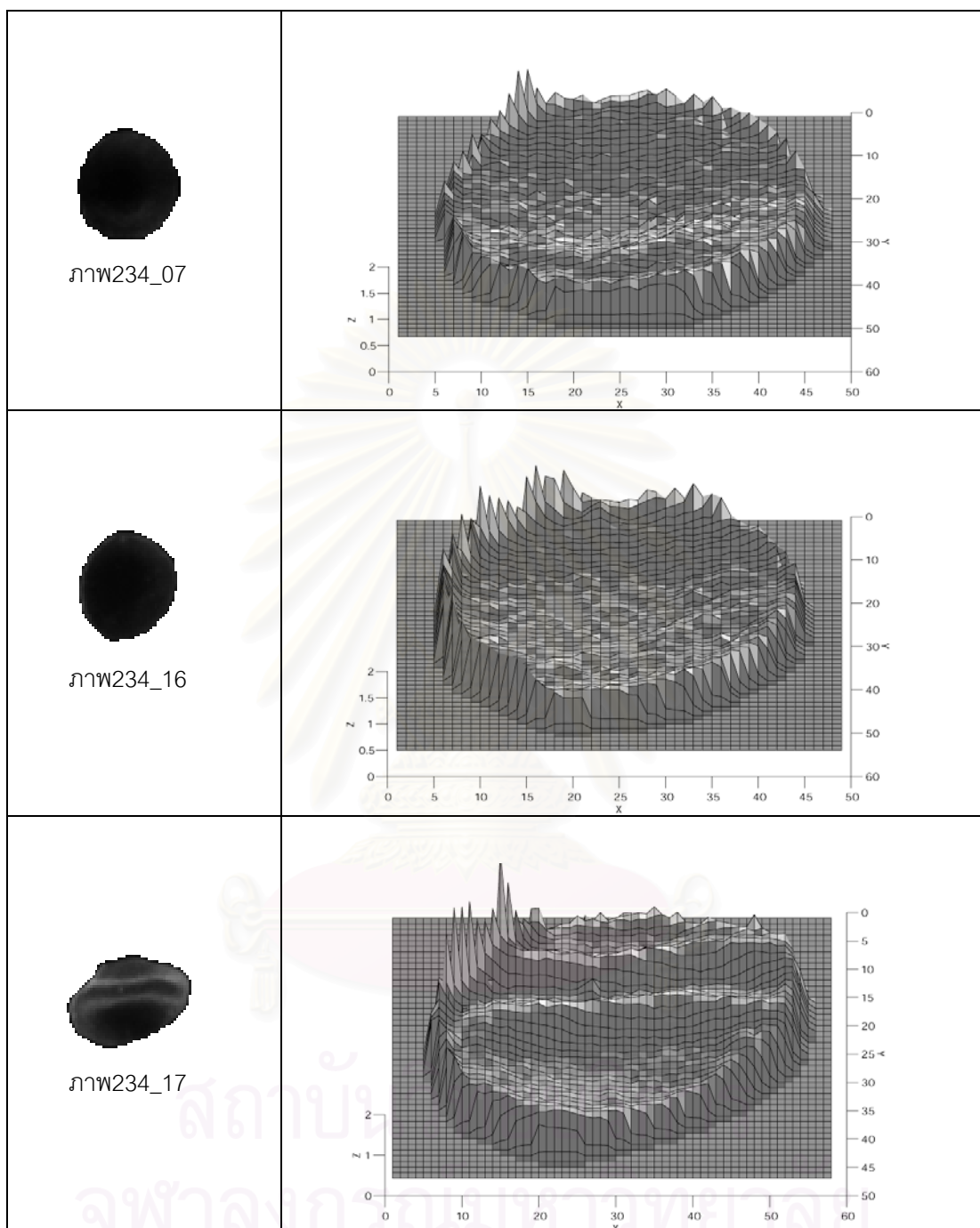








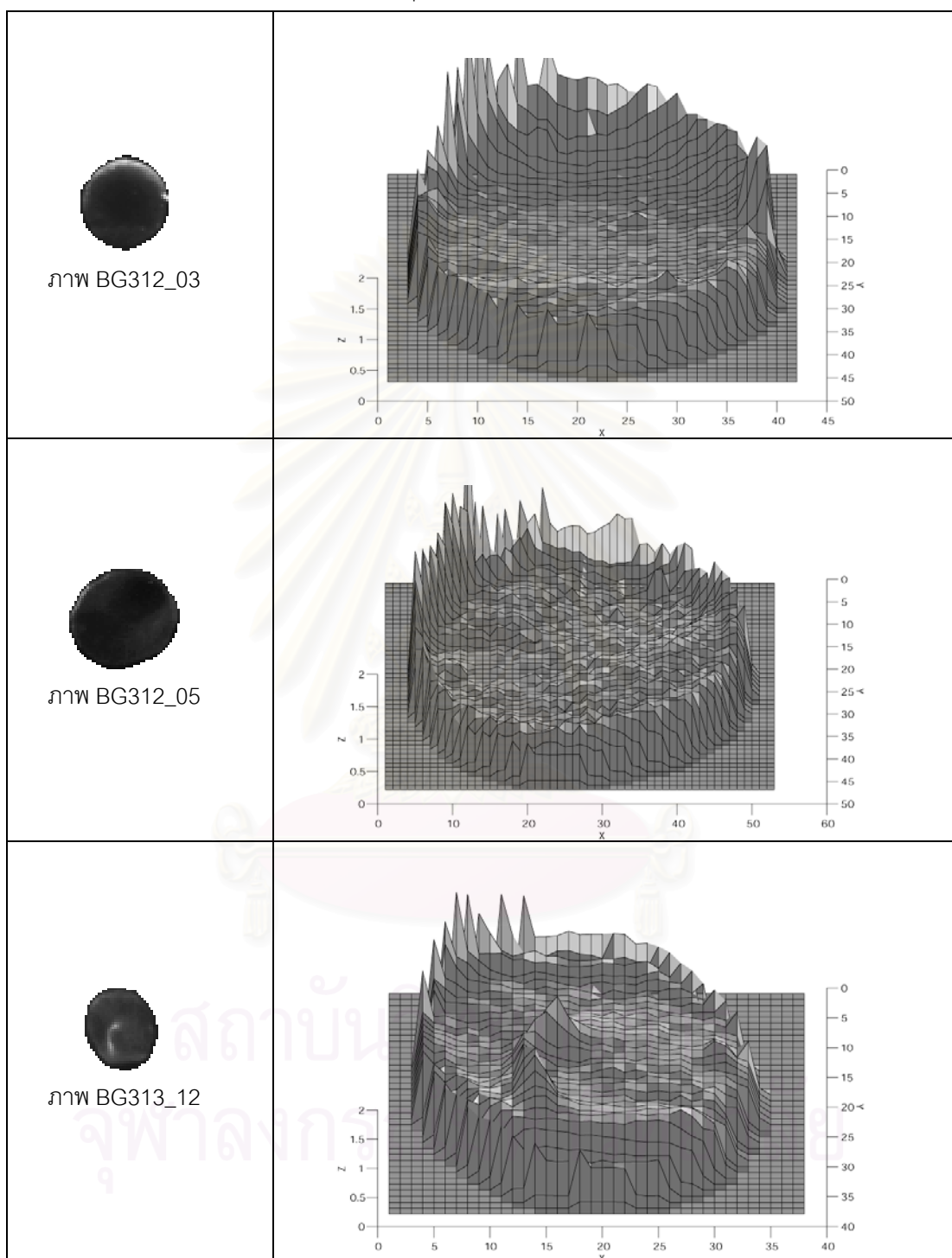


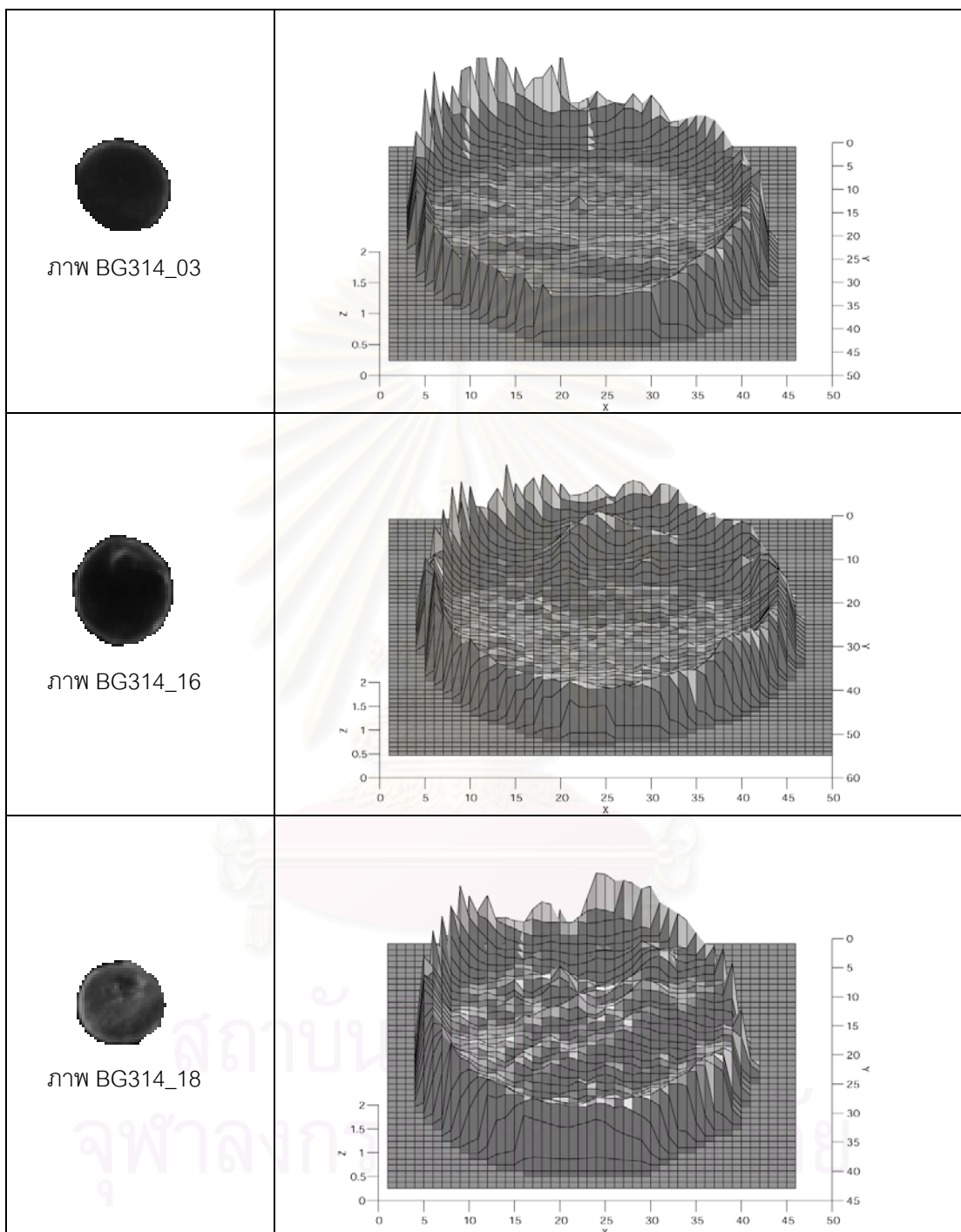


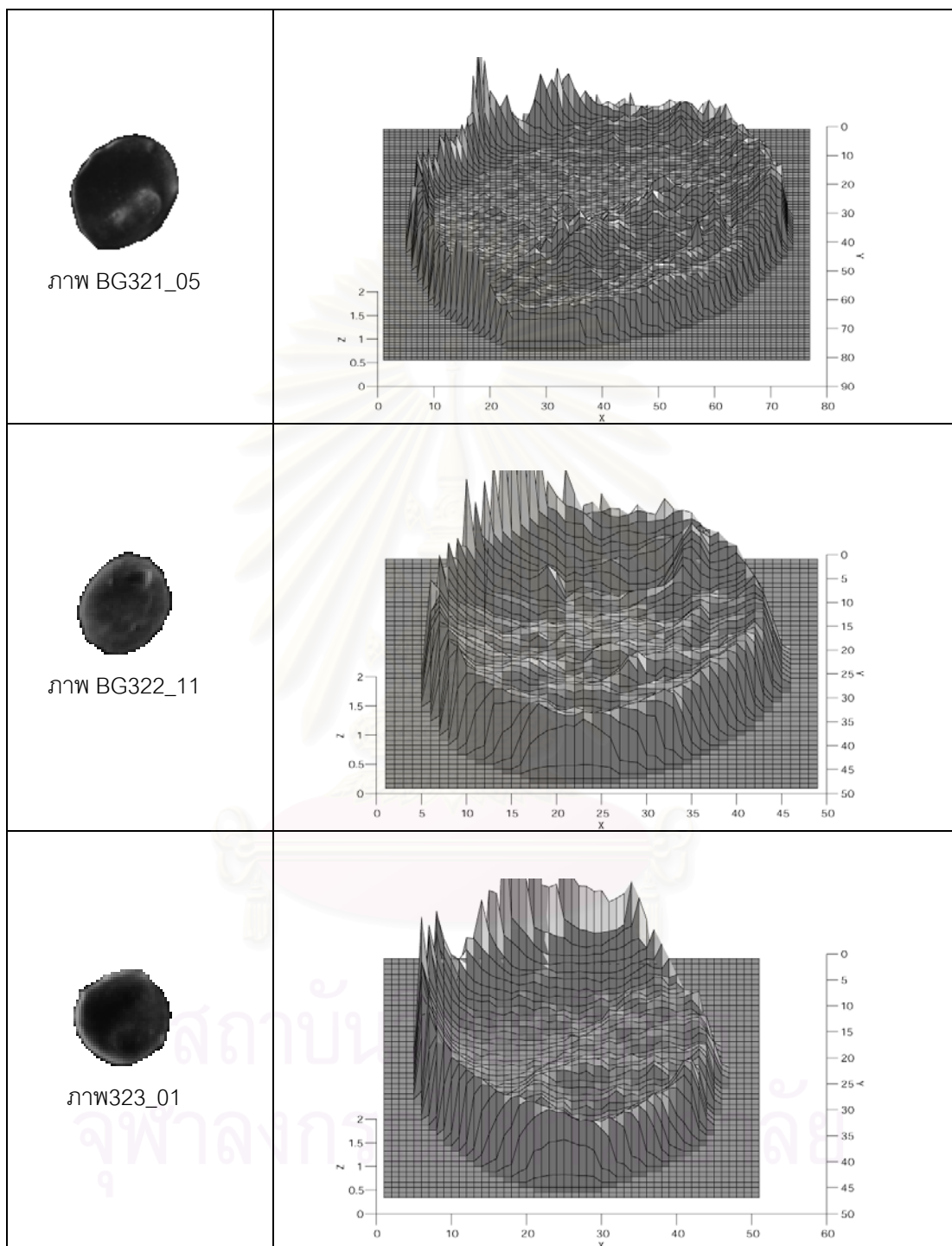
ตาราง ก.3 ค่าการเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูงและค่า CIRSF ของภาพเมดเลือดแดงชุดที่ 3

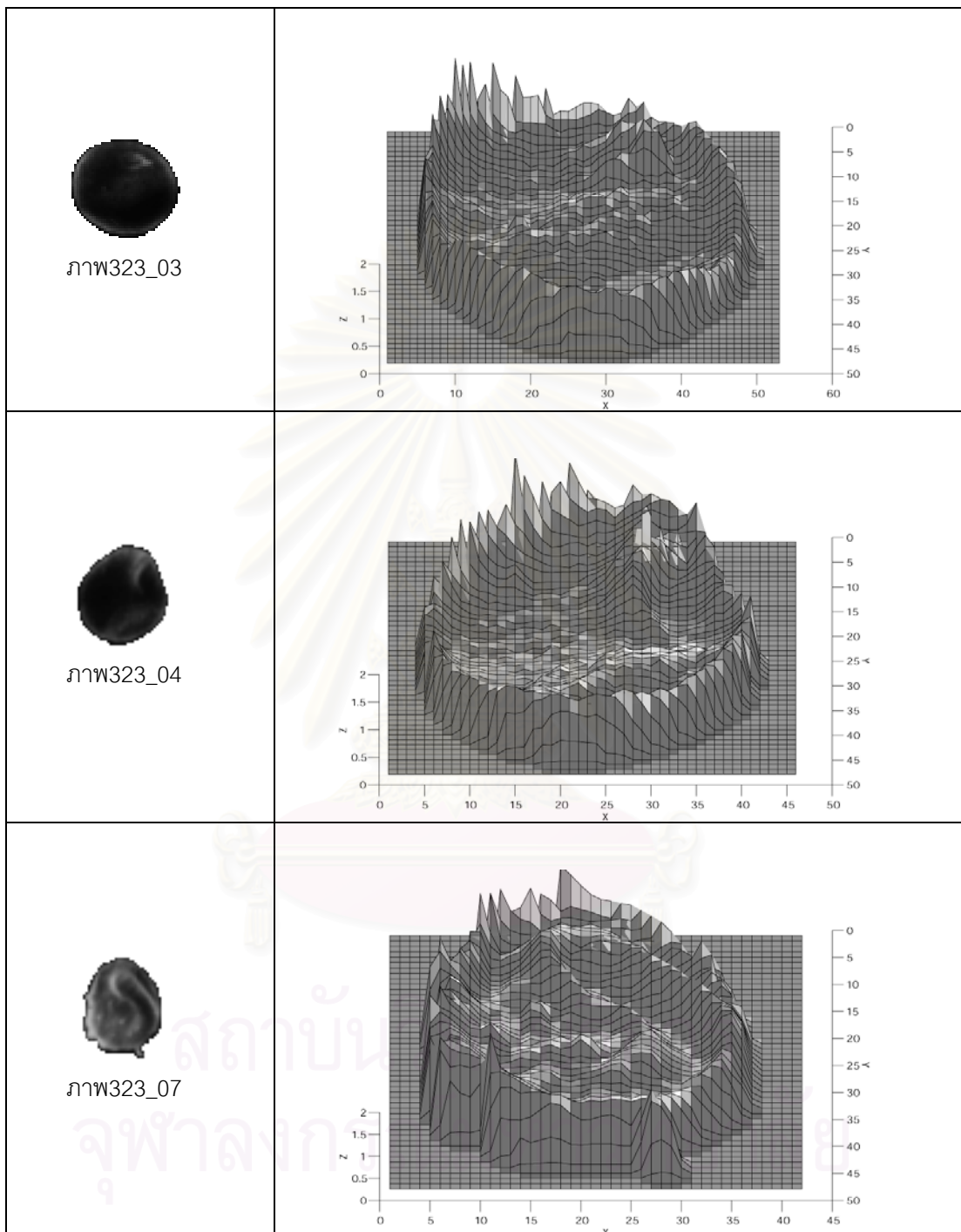
ลำดับที่	ภาพเมดเลือดแดง	การเปลี่ยนแปลงความสูงเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงความสูง	CIRSF
1	BG312_03	0.0449	0.0665	0.9400
2	BG312_05	0.0394	0.0608	0.9240
3	BG313_12	0.0495	0.0785	0.9370
4	BG314_03	0.0250	0.0425	0.9230
5	BG314_16	0.0474	0.0756	0.9280
6	BG314_18	0.0584	0.0870	0.9320
7	BG321_05	0.0430	0.0657	0.8920
8	BG322_11	0.0547	0.0777	0.9220
9	BG323_01	0.0614	0.0944	0.9150
10	BG323_03	0.0565	0.0824	0.9370
11	BG323_04	0.0548	0.0798	0.9130
12	BG323_07	0.0879	0.1275	0.8160
13	BG323_09	0.0515	0.0720	0.9200
13	BG324_07	0.0694	0.0999	0.9210
15	BG324_08	0.0739	0.1275	0.9010
16	BG324_09	0.0572	0.0824	0.9400
17	BG331_01	0.0204	0.0320	0.9100
18	BG331_04	0.0277	0.0391	0.8750
19	BG333_04	0.0548	0.0834	0.8380
20	BG333_05	0.0213	0.0435	0.8130

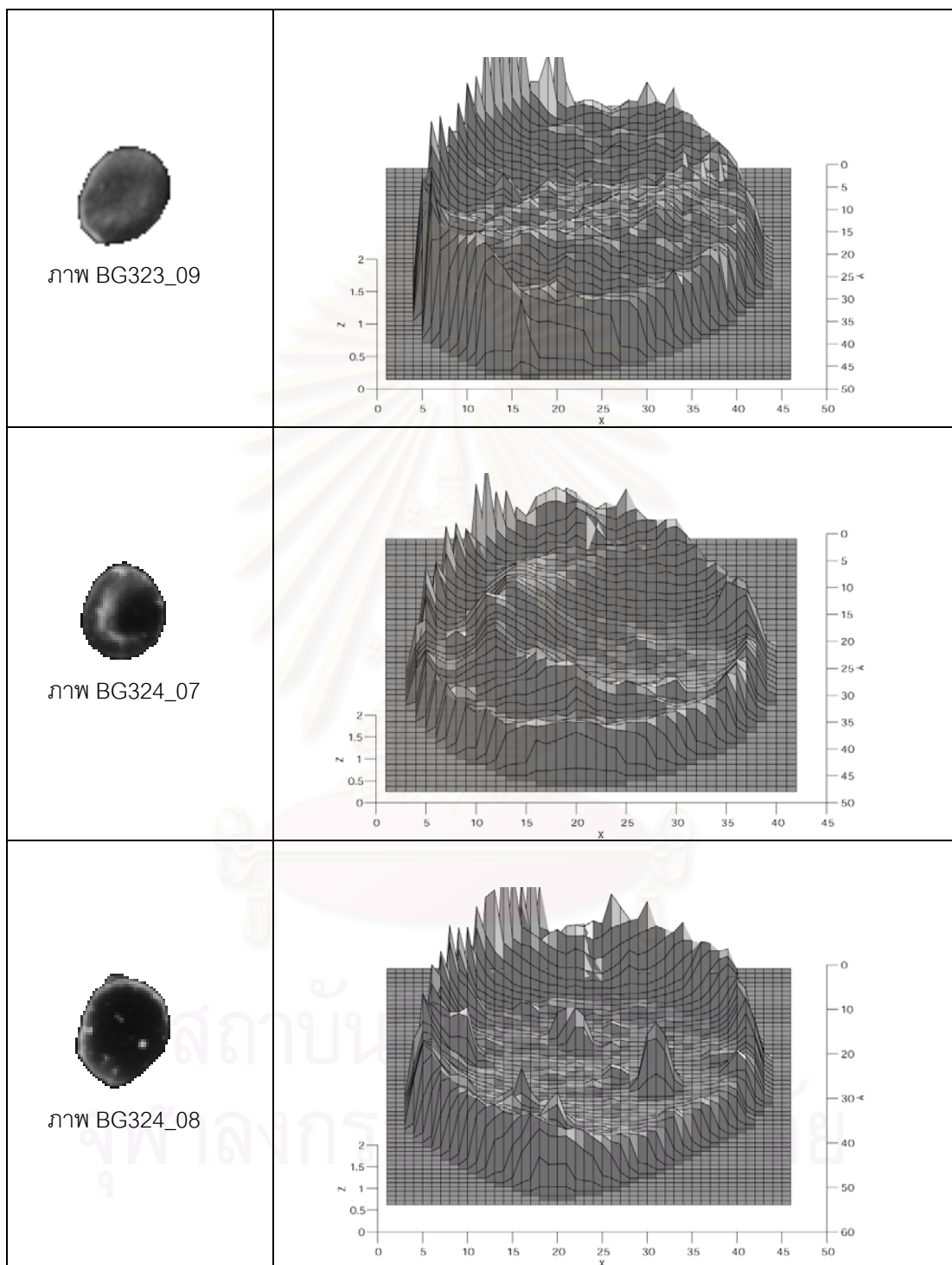
แสดงลักษณะพื้นผิวที่ได้ของภาพเมดเลือดแดงชุดที่ 3

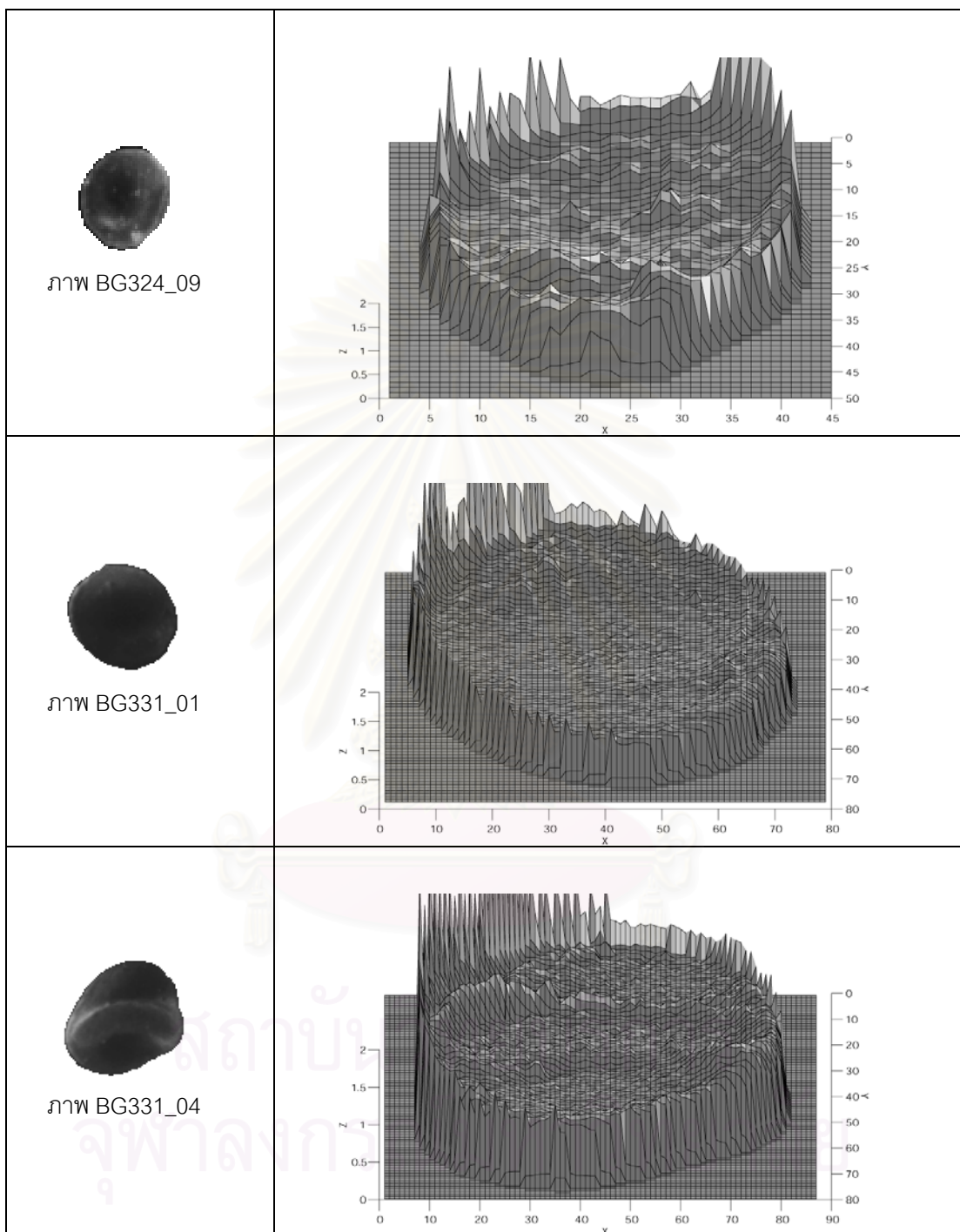


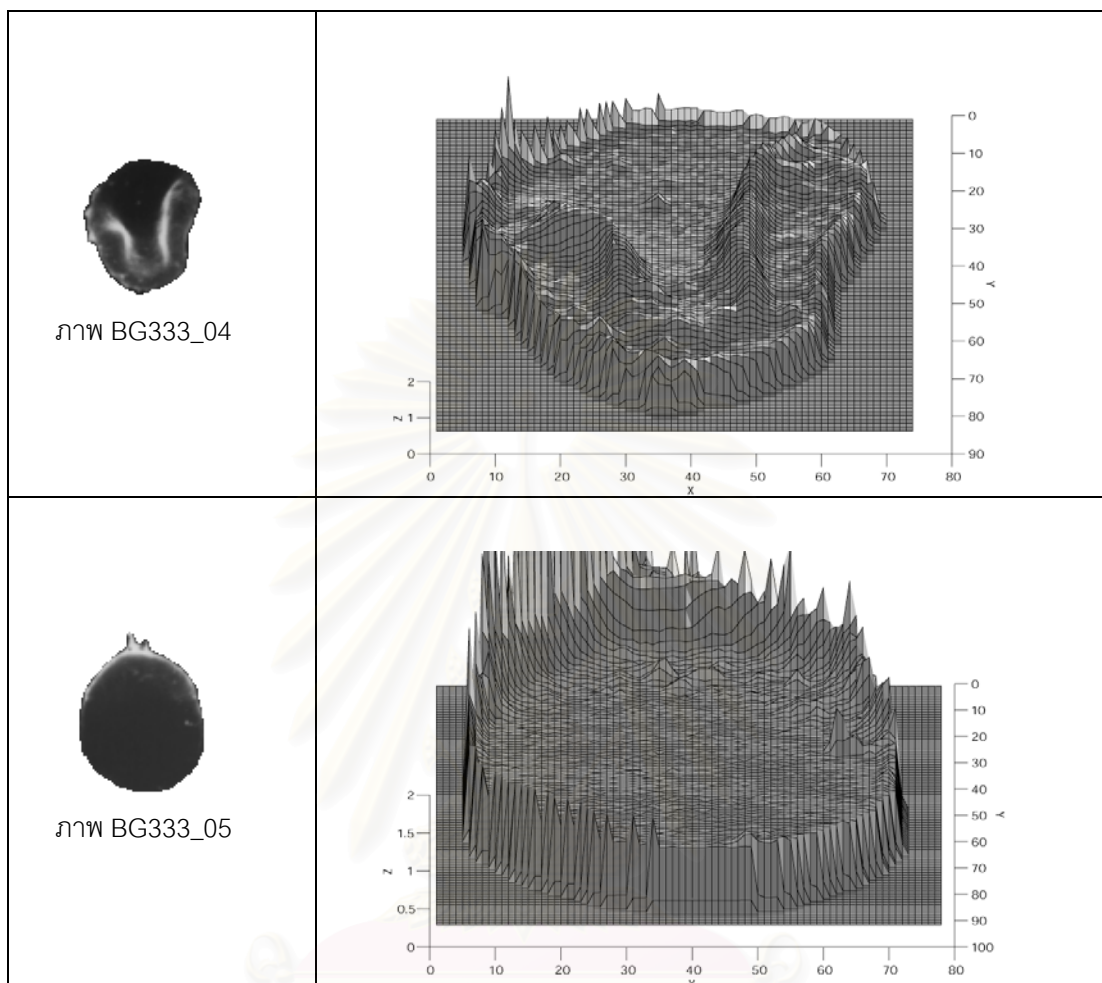












สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

บทความที่นำเสนอในงานการประชุมวิชาการ

บทความ Morphological Analysis of Erythrocyte Using a Digital Image Processing Approach นำเสนอในงานประชุมวิชาการ The First Scientific Meeting, Thai Society of Microcirculation จัดที่ โรงแรม Siam Intercontinental กรุงเทพมหานคร วันที่ 5 มีนาคม พ.ศ. 2542

บทความ Determining Surface Shape of SEM Images Using Non-Linear Shape from Shading Technique นำเสนอในงานประชุมวิชาการ Image & Vision Computing New Zealand 2000 จัดที่ University of Waikato เมือง Hamilton ประเทศนิวซีแลนด์ ระหว่างวันที่ 27-29 พฤศจิกายน พ.ศ. 2543 ซึ่งบทความนี้ตีพิมพ์ไว้ใน Proceeding of Image & Vision Computing New Zealand 2000 หน้า 316-321



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Morphological Analysis of Erythrocyte Using A Digital Image Processing Approach

*Bunyarith S, **Achavanuntakul B, ***Thipakorn B, *Covavisaruch N

**Computer Graphics and Computer Imaging Laboratory Department of Computer Engineering*

Faculty of Engineering, Chulalongkorn University Bangkok 10330, Thailand

a0472121@student.chula.ac.th, nongluk.c@chula.ac.th

***King Chulalongkorn Memorial Hospital*

****Department of Computer Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut University of Technology Thonburi.*

This paper presents an application of digital image processing to analyze the morphological changes of erythrocyte after passing through a blood exchange transfusion circuit. Scanning electron micrographs (SEM) of erythrocyte were taken from three states of the circuit: pre-blood-filter state (n=34), post-blood-filter state (n=52), and post-roller-pump state (n=54). Clear non-overlapping erythrocytes facing up to viewers were selected individually and used for the CIRSf (Circular Shape Factor) calculations as presented by Calzavara et al. in 1993.

In this study, SEM photographs were taken from blood samples in the blood exchange transfusion circuit for a severe falciparum malaria patient. The areas and perimeters determined by digital image processing were used in the calculation process. Means \pm SD of CIRSf value at each state are as follows: 0.893 ± 0.053 , 0.887 ± 0.093 and 0.882 ± 0.054 . With these results, it can be concluded that blood exchange transfusion circuit does not cause erythrocyte morphology alteration. However, the CIRSf concerns only with area and perimeter in 2-dimensional images. Since SEM photographs possess many other information of the shape from the high magnification, lighting and shading characteristics, therefore, we are now investigating more on other image features especially the surface shape and texture. Techniques in computer vision, such as shape from shading, are currently explored and tested.

Determining Surface Shape of SEM Images Using Non-Linear Shape from Shading Technique

Supaporn Bunrit,¹ Nongluk Covavisaruch¹ and Bundit Thipakorn²

¹Department of Computer Engineering, Faculty of Engineering
Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

²Department of Computer Engineering, Faculty of Engineering
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140, Thailand
a0472121@student.chula.ac.th, nongluk.c@chula.ac.th, bundit@cpe.eng.kmutt.ac.th

Abstract

This paper presents a technique to determine surface shape of a Scanning Electron Microscope (SEM) image by using non-linear shape from shading (SFS) technique. The proposed technique is adapted to be used with SEM reflectance model from Tsai and Shah's 'Fast Linear SFS' method (1992) which is linear approximation of the Lambertian reflectance function in depth. Since intensity value in SEM reflectance model is a function of secant (sec) instead of cosine (cos) as in Lambertian model, therefore, such a function cannot be sufficiently approximated by linear approach. Hence, we propose a non-linear approximation of SEM reflectance function in depth instead. From experiments on two synthetic 128x128 SEM images of a sphere and a vase, average magnitude gradient of depth errors from this proposed approach, 0.942 for a sphere and 0.943 for a synthetic vase, are less than those from a linear approach.

Keywords: *Surface Shape, SEM, Shape from Shading, Non-Linear Approximation*

1 Introduction

Shape from shading (SFS) is one of many approaches to determine surface shape of an image. With this technique, shape is recovered from gradual variation of shading in a single image by reconstructing 3-D shape of an object from its 2-D intensity image. One important factor in SFS approach is the reflectance model that specifies relationship between surface shape and intensity image [7]. Most SFS techniques recover surface shape of an image based on Lambertian model including one local method proposed by Tsai and Shah [5, 6], a *Fast Linear Shape From Shading*. It has been pointed out that the method is general and simple, works well with Lambertian model, and can be applied to any reflectance model.

As our research objective is to use SFS to recover surface shape of Scanning Electron Microscope (SEM) images, therefore, at the beginning of this research, we have adopted Tsai and Shah's general linear method with some adaptation to SEM reflectance model. However, from experiments on some synthetic images, we have found that errors are still high and visual surface shapes are not quite impressive.

2. Shape from Shading

Zheng and Chellappa [7] have concluded that, in computer vision, SFS is implemented by first modeling imaging model as a function of surface geometry. Then surface is reconstructed and, under the given imaging model, shaded image is generated close to the input. The success of SFS depends on two factors which are, first, suitable imaging model that specifies the

relationship between surface shape and intensity image is known and used, and second, good numerical algorithm for the reconstruction of shape from the given image is employed [7].

In many SFS researches, imaging model is specified through an image irradiance equation as follows:

$$E(x, y) = R(p, q) \quad (1)$$

where $E(x, y)$ is intensity-image,

$R(p, q)$ is reflectance function, and

$p = \frac{\partial Z}{\partial x}$ and $q = \frac{\partial Z}{\partial y}$ are gradients of depth, Z , in x and y direction respectively.

2.1 Reflectance Models

Reflectance function, $R(p, q)$ embodies effects of imaging geometry and reflectance properties of surface. Since reflectance function is a non-linear equation in terms of shape, many simplifications are employed in order to restrict the problem for most SFS algorithms. Common simplifications that are used are as follows: illumination from a point source at infinity, assuming known viewing direction and light source direction, and assuming orthographic projection [8]. All mentioned assumptions expose Lambertian model. Intensity of such model varies in terms of cosine (cos) of angle between surface normal and light source direction. Besides, all assumptions are particularly valid for SEM imaging conditions [4] but intensity of SEM varies in terms of secant (sec). (See table 1.)

Table 1: Lambertian and SEM reflectance models [3, 4]

Lambertian Reflectance Model:	SEM Reflectance Model:
$R(p, q) = \rho \cos(\theta) = \rho \hat{n} \cdot \hat{l}$ $= \rho \frac{pp_s + qq_s + 1}{\sqrt{p^2 + q^2 + 1} \sqrt{p_s^2 + q_s^2 + 1}}$	$R(p, q) = \rho \sec(\theta) = \frac{\rho}{\hat{n} \cdot \hat{l}}$ $= \rho \frac{\sqrt{p^2 + q^2 + 1} \sqrt{p_s^2 + q_s^2 + 1}}{pp_s + qq_s + 1}$
<p>where $\hat{n} = \frac{(-p, -q, 1)}{\sqrt{p^2 + q^2 + 1}}$ is surface unit normal vector,</p> <p>$\hat{l} = \frac{(-p_s, -q_s, 1)}{\sqrt{p_s^2 + q_s^2 + 1}}$ is unit vector in the direction of light source, and</p> <p>ρ is surface albedo (mostly assumed as constant)</p>	

2.2 A Fast Linear Shape from Shading [5]

Tsai and Shah have introduced a fast and simple SFS method based on linear approximation of Lambertian reflectance function. The method starts at finding discrete approximation of gradients of depth, p and q , by using finite difference. Therefore, for SFS technique, equation (1) above can be written as:

$$f(Z(x, y)) = E(x, y) - R(Z(x, y) - Z(x-1, y), Z(x, y) - Z(x, y-1)) = 0 \quad (2)$$

The reflectance function is linearized in depth by taking Taylor series expanding of this function about $Z(x, y) = Z^{n-1}(x, y)$ up through first order terms. Finally a depth map at n -iteration can be solved by equations (3) and (4) as follows:

$$Z^n(x, y) = Z^{n-1}(x, y) + \frac{-f(Z^{n-1}(x, y))}{D(Z^{n-1}(x, y))} \quad (3)$$

where D is $\frac{df}{dZ(x,y)}$.

Then, equation (3) is modified using Kalman gain to equation (4).

$$Z^n(x,y) = Z^{n-1}(x,y) + K^n \left(-f\left(Z^{n-1}(x,y)\right) \right) \quad (4)$$

where K^n is Kalman gain in extended Kalman filter [6].

3. Our Proposed Method

As mentioned before, Tsai and Shah's Fast Linear SFS method has drawn our interest because it is simple, general and can be applied to any reflectance model [6]. Therefore, we have adopted their linear method and have applied it with SEM reflectance model. However, our test results have shown high average magnitude gradient of depth errors. (See table 3 in section 4.)

By noticing that approximating a cosine function up to first order term in Taylor series does not cause as high errors as approximating a secant function, and that reflectance function in Lambertian model varies upon cosine function and in SEM model, upon secant function, we propose that higher order terms in Taylor series of depth function ($f(Z(x,y))$) of SEM model need to be obtained in order that secant function is better approximated. Therefore, we have applied Tsai and Shah's approach to SEM reflectance model by neglecting their linear approximation method, which includes the use of Kalman gain. We, hence, propose a non-linear approximation by expanding Taylor series of SEM reflectance function in terms of depth up to second order term and recovering surface shape by non-linear Newton Raphson's method.

By our proposed approach, we first approximate discrete p and q using finite difference. Then by taking Taylor's series of function f in equation (2) about $Z(x,y) = Z^{n-1}(x,y)$ up to second order term, we finally get

$$0 = f(Z(x,y)) \approx f\left(Z^{n-1}(x,y)\right) + \left(Z(x,y) - Z^{n-1}(x,y)\right)D\left(Z^{n-1}(x,y)\right) + \left(Z(x,y) - Z^{n-1}(x,y)\right)^2 D^2\left(Z^{n-1}(x,y)\right) \quad (5)$$

where $D\left(Z^{n-1}(x,y)\right)$ and $D^2\left(Z^{n-1}(x,y)\right)$ can be found from equation (2), and $R(p,q)$ in equation (2) follows that of SEM reflectance model as shown in table 1 in 2.1.

In this research, we use non-linear Newton Raphson's method [1], which is a well-known numerical method, to solve $Z(x,y)$ in equation (5) by initializing all $Z(x,y)$ to be zero. Thus, the general formula of our proposed method is as shown in equation (6).

$$Z^n = Z^{n-1} - \frac{D\left(Z^{n-1}(x,y)\right)}{D^2\left(Z^{n-1}(x,y)\right)} \pm \frac{\sqrt{\left[D\left(Z^{n-1}(x,y)\right)\right]^2 - 2D\left(Z^{n-1}(x,y)\right) f\left(Z^{n-1}(x,y)\right)}}{D^2\left(Z^{n-1}(x,y)\right)} \quad (6)$$

4. Experiments and Results

Test of our proposed method follows that of Tsai and Shah [6] and Zhang, et al. [9, 10]. Test synthetic shaded images are generated by a reflectance model based on true depth map. Recovered surfaces from SFS method are then compared to true surface.

4.1 Test Images

Synthetic images of a sphere and a synthetic vase are used as test images in this research. They are generated mathematically by computing surface gradients, p and q , from true depth maps. Each shaded image, $E(x,y)$, is generated based on equation (1) using either Lambertian reflectance model or SEM reflectance model. The formulas for true depth maps of a sphere and for a

synthetic vase are shown in table 2. The light source direction used in our research, $(p_s, q_s, 1) = (0.01, 0.01, 1)$.

Table 2: True depth formula for a sphere and a synthetic vase.

<p>Sphere:</p> $(x, y) = \begin{cases} \sqrt{r^2 - x^2 - y^2} & \text{if } x^2 + y^2 \leq r^2 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$ <p>where $r = 52$ and $-64 \leq x, y \leq 64$</p>	<p>Synthetic Vase [2]:</p> $Z(x, y) = \sqrt{f(y)^2 - x^2} \quad \text{where}$ $f(y) = 0.15 - 0.1y(6y+1)^2(y-1)^2(3y-2)$ <p>and $-64 \leq x \leq 64$ and $0.0 \leq y \leq 128$</p>
---	--

4.2 Evaluation Method

The evaluation method used in this research is the same as that of [6, 9, 10]. Average magnitude gradient of depth error can be computed from equation (7).

$$\text{Average magnitude gradient of depth error} = \frac{|p^n - p| + |q^n - q|}{2 \times \text{ImageSize}} \quad (7)$$

Where p^n and q^n are gradients of the recovered $Z(x, y)$, and p and q are gradients of true depth map.

4.3 Test Results

Table 3 illustrates average magnitude gradient of depth errors of our tests. Columns 2 and 4 are from Tsai and Shah's Fast Linear method applied to Lambertian model and to SEM model respectively. Column 3 shows the results from linear method based on Tsai and Shah's approach, without using Kalman gain and using linear Newton Raphson's method instead. The last column illustrates results from our proposed non-linear method, last term in equation (6) being added. The same as in column 4, both columns 3 and 5 are from SEM model.

Table 3: Average magnitude gradient of depth error for synthetic images.

Synthetic Images	Approach/Reflectance Model			
	(Tsai & Shah's) Linear/Lambert	(Newton-Raphson's) Linear/SEM	(Tsai and Shah's) Linear/SEM	Proposed Non-Linear/SEM
Sphere	0.696	90.090	31.896	0.942
Vase	0.707	193.165	24.882	0.943

In Figure 1, figures (a) and (b) illustrate true depth maps of test surfaces. Figure 2 illustrates recovered depth maps of SEM synthetic images; figures (a) and (b) are from Tsai and Shah's Fast Linear method while figures (c) and (d), from our non-linear method, respectively. Finally, an SEM real image of a red blood cell of size 50x50 (as shown in figure 3 (a)) is tested. Figure (b) illustrates recovered depth map from Tsai and Shah's Fast Linear method while figure (c), from our proposed non-linear method.

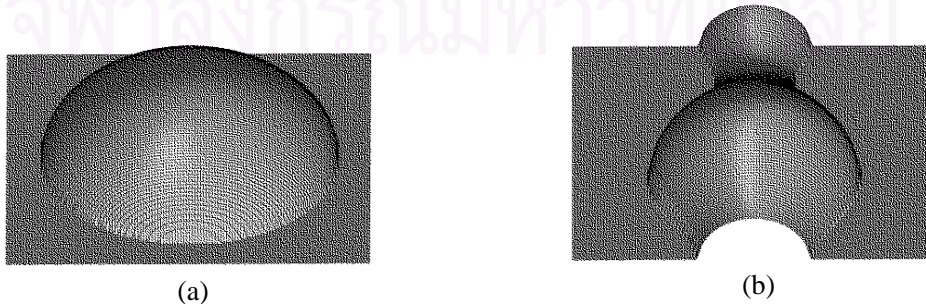


Figure 1: True depth map of a sphere and a vase are shown in (a) and (b).

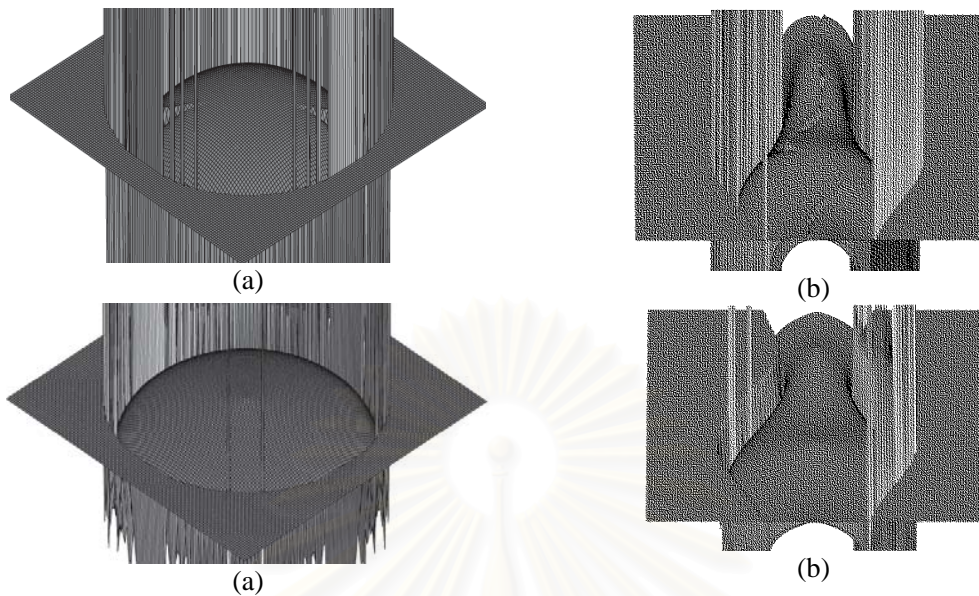


Figure 2: Recovered depth maps of SEM: (a) and (b) are from Tsai and Shah's Fast Linear method, (c) and (d) are from our proposed non-linear method.

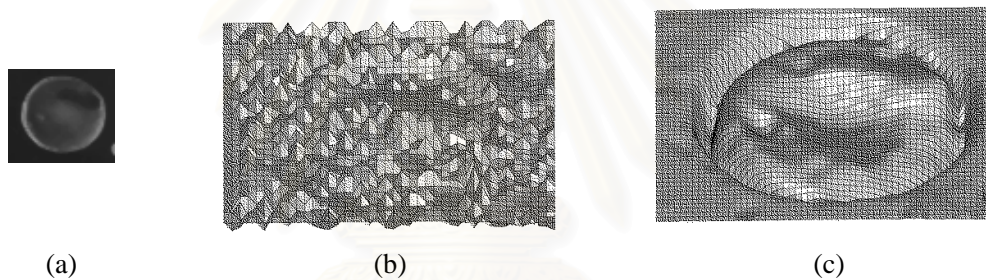


Figure 3: Results on an SEM real image; (a) a red blood cell SEM image, (b) recovered surface depth by Tsai and Shah's Fast Linear method, and (c) recovered surface depth by our non-linear method.

5. Discussion

From experimental results in table 3, it can be seen that, when applying Tsai and Shah's SFS technique to SEM images, average magnitude gradient of depth errors from our proposed non-linear method (in column 5) are much less than those from Tsai and Shah's Fast Linear method (in column 4). In column 3, we have also presented errors of linear method that approximates reflectance function in terms of depth by linear Newton Raphson's method. The errors in column 3 are far greater than those from our non-linear method and those from Tsai and Shah's method. Hence, it is apparent that efficiency of non-linear method is the highest amongst all three methods. Tsai and Shah's Fast Linear method, which employs Kalman filter, is more efficient than linear method (without Kalman gain). However, Tsai and Shah's Fast Linear method has also been done to synthetic images of true depth maps used in this research using Lambertian reflectance model. The purpose of presenting these errors (in column 2) is only for use as a base for comparison of our implementation tests.

From visualization, it is seen that recovered surface depth maps from non-linear method most correspond true surfaces of the two test synthetic images. Those surfaces from linear method without Kalman gain, unshown in this paper, appear most rough, while those from Tsai and Shah's Fast Linear method appear smoother with some rough surfaces still exist. The recovered

surfaces from non-linear are the smoothest with no rough surface. But it should be pointed out that, for all methods, errors most exist around border areas of both sphere and vase images, and that non-linear method causes the least errors around borders.

In addition, we have also tried applying the proposed method to a real SEM image of a red blood cell in this research. In figure 3 (b), recovered surface depth map from Tsai and Shah's Fast Linear method appears very rough while that from our proposed non-linear method, shown in figure (c), resembles closer to the real surface in figure (a). However, determining surface shape of real red blood cell SEM images is currently being researched.

6. Conclusion

This research aims at using SFS technique to determine surface shape of SEM images. It is found in this research that, even though linear numerical approximation works well with Lambertian reflectance model that varies upon a cosine function, it does not work well for SEM reflectance model that varies upon a secant function. Compared with Tsai and Shah's Fast Linear method and linear method, without using Kalman gain, non-linear method gives the least average magnitude gradient of depth errors. In addition, recovered surfaces from non-linear method appear most closely to true synthetic surface, as well as to a red blood cell from a real red blood cell SEM image in our experiments. It is also noticed that most errors appear around border areas in all tested methods and that non-linear method gives the least errors. Non-linear approach is hence important and needed for SFS technique applied to SEM model.

7. Acknowledgment

The authors wish to express their thanks to Dr. Suthep Madarasmi of the Department of Computer Engineering at King Mongkut's University of Technology Thonburi for his precious help, particularly on the review of mathematics derivation part, in this research.

References

- [1] C. Alkis: *Applied Numerical Methods with Personal Computers*. McGraw-Hill, New York, (1987).
- [2] U.M. Ascher and P. M. Carter: *author, please supply article title*. SIAM J. Numerical Analysis, vol. 30, no. 1, pp. 102-115, (1993).
- [3] A. G. Jones and C. J. Taylor: *Robust Shape From Shading*. British Machine Vision Conference. Proceedings, (1993).
- [4] A. G. Jones and C. J. Taylor: *Automated Interpretation of SEM Images*. IEEE Region 10's Ninth Annual International Conference. Theme: Frontiers of Computer Technology. Proceedings of 1994, Page(s): 872 -876 vol.2, (1994).
- [5] P. S. Tsai and M. Shah: *A Fast Linear Shape From Shading*. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 734-736, (1992).
- [6] P. S. Tsai and M. Shah: *Shape from Shading Using Linear Approximation*. *fSFS, The University of Central Florida, Orlando (1998)*. <http://eustis@cs.ucf.edu/pub/shading/fSFS.html>.
- [7] Q. Zheng and R. Chellappa: *Estimation of Illumination Direction, Albedo, and Shape from Shading*. *IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 13(7):680-702, (1991).
- [8] R Zhang and M. Shah: *Height Recovery From Intensity Gradient*. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 508-513, (1994).
- [9] R. Zhang, P. S. Tsai, J. E. Cryer and M. Shah: *Analysis of Shape From Shading Techniques*. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 377-384, (1994).
- [10] R. Zhang, P. S. Tsai, J. E. Cryer and M. Shah: *Shape-from-shading: a Survey*. IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 21(8): 690-706, (1999).

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวสุภาพร บุญฤทธิ เกิดวันที่ 29 ตุลาคม พ.ศ. 2517 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษา
ระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ในปี พ.ศ. 2539 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์คอมพิวเตอร์ ภาควิชา
วิศวกรรมคอมพิวเตอร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540 และเป็นผู้นำเสนอผลงานวิจัย
ด้าน image and vision computing ในระดับนานาชาติ ในปี 2543 จำนวน 1 รายการ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย